

Aus der
Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik
Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie an der
Eberhard Karls Universität Tübingen
Siegfried Weller Institut für Unfallmedizinische Forschung

**Korrelation zwischen Rauchen und der
Komplikationsentwicklung nach muskuloskelettalen
Eingriffen: Analyse einzelner Immunparameter zur
Identifizierung von Risikopatienten bei Rauchern**

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

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

**vorgelegt von
Lena Pollmann-Schweckhorst**

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Nüssler
2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Krimmel

Tag der Disputation: 17.03.2025

In ewiger Dankbarkeit für die Unterstützung meiner Familie, meiner Freunde und
Weggefährten.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis.....	9
Abkürzungsverzeichnis.....	10
Gender-Disclaimer	11
1 Einleitung	12
1.1 Hintergrund	12
1.2 Rauchen.....	13
1.2.1 Quantifizierung des Zigarettenkonsums.....	15
1.2.2 Gesundheitliche Auswirkungen des Tabakkonsums.....	16
1.3 Postoperative Komplikationen	19
1.4 Zytokine	20
1.5 KIKS/AIQNET.....	22
1.6 Fragestellung	24
1.7 Ziel.....	25
2 Material und Methoden.....	26
2.1 Material	26
2.1.1 Ethikantrag.....	26
2.1.2 Fragebögen.....	26
2.1.3 Zytokinarray-Kits	28
2.1.4 ELISA-Kits.....	28
2.1.5 Chemikalien	29
2.1.6 Geräte	33
2.1.7 Softwares	34
2.2 Methoden	35
2.2.1 Patienteneinschluss	35
2.2.2 Studiendesign	37

2.2.3	Einteilung von Komplikationen	42
2.2.4	Durchführung Zytokin-Array (Microarray).....	44
2.2.5	Zwischenfazit	46
2.2.6	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	47
2.2.7	Statistische Auswertung.....	49
3	Ergebnisse	52
3.1	Patientenrekrutierung und Studienkohorte.....	52
3.1.1	Patientenkollektiv	52
3.2	Analyse der Ergebnisse	55
3.2.1	Komplikationsrate.....	55
3.2.2	Krankenhausaufenthaltsdauer	58
3.2.3	Systemischer Immunitätsindex (SII).....	61
3.2.4	Auswertung der Fragebögen.....	64
3.2.5	Zytokinarrays/Microarrays.....	67
3.2.6	ELISA	71
3.2.7	CXCL9 (MIG)	71
3.2.8	B7-1/CD80	75
3.2.9	CD28	77
4	Diskussion.....	80
4.1	Patientenkollektiv	80
4.2	Postoperative Komplikationen	82
4.2.1	Geschlechterspezifische Unterschiede in der Komplikationsrate	85
4.2.2	Abteilungsspezifische Unterschiede	86
4.2.3	Krankenhausaufenthaltsdauer	87
4.2.4	Systemischer Immunitätsindex (SII).....	89
4.3	Auswertung der Fragebögen	92
4.3.1	Diabetesrisiko FINDRISK, Alter, BMI und Audit-C	92

4.4	Zytokine im Blut	96
4.4.1	Zytokinarrays vs. ELISAs	96
4.5	Schlussfolgerung	99
5	Limitationen	100
6	Ausblick	102
7	Zusammenfassung	104
8	Anhang	106
8.1	Auswertung der Fragebögen komplikationsabhängig (w/ and w/o Komplikationen) – Array Matching Tümen et al. (137)	106
8.2	Anfrage zur Verwendung externen Abbildungen	107
9	Literaturverzeichnis	108
10	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	124
11	Veröffentlichungen	126
12	Danksagung	127

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Gesundheitliche Folgen des Tabakrauchens aus dem Tabakatlas Deutschland 2020 des Deutschen Krebsforschungszentrum, S.19 (46)	18
Abbildung 2: Flussdiagramm zur Auswahl geeigneter Studienpatienten.....	37
Abbildung 3: Flussdiagramm zum Studiendesign (erstellt mit Windows PowerPoint und BioRender.com).....	38
Abbildung 4: Mechanismus Zytokin-/Microarray der Firma RayBiotech® (84, 85) – Abbildung mit Grafiken der Firma RayBiotech® im Programm Microsoft Power-Point erstellt.....	45
Abbildung 5: Bildliche Darstellung der Durchführung eines Sandwich-ELISA (erzeugt mit BioRender.com).....	48
Abbildung 6: CONSORT-Flussdiagramm zur Übersicht über die Patientenkohorte, Tümen et al. 2024 (137)	53
Abbildung 7: Balkendiagramm zur Komplikationsrate innerhalb der verschiedenen Gruppen sowie zur geschlechterspezifischen Verteilung innerhalb des Studienkollektivs, Tümen et al. 2024 (137).....	55
Abbildung 8: Balkendiagramm zur abteilungsspezifischen Verteilung innerhalb des Studienkollektivs basierend auf dem Rauchverhalten, Tümen et al. (137)	57
Abbildung 9: Krankenhausaufenthaltsdauer der Studienpopulation basierend auf dem Rauchverhalten #, § $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, Tümen et al. 2014 (137)....	59
Abbildung 10: Korrelation zwischen dem Rauchverhalten (Rauchdauer) der Patientengruppen und dem systemischen Immumentzündungsindex (SII), * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Tümen et al.(137).....	62
Abbildung 11: Boxplot-Diagramme zur Darstellung der Ergebnisse der Auswertung des Patientenalters, BMI, FINDRISK und AUDIT-C auf Grundlage des Rauchverhaltens innerhalb der Studienpopulation für die C1- und C5-Array-Messungen	65
Abbildung 12: Einfluss des Rauchens auf zirkulierende Faktoren im Blut für die Zytokin-Arrays „Human Zytokin-Array C5“ und „Human Immuncheckpoint Array	

C1“ der Firma RayBiotech®.....	68
Abbildung 13: Auswahl der geeigneten Zytokine zur Quantifizierung mittels ELISA anhand der Auswertung der Arrays Human Cytokine Array C5 sowie des Human Immune Checkpoint Array C1 der Firma RayBiotech®.....	69
Abbildung 14: Auswirkung des Rauchens auf die Serumwerte des Zytokins MIG/CXCL9.....	72
Abbildung 15: Auswirkung des Rauchens auf die geschlechterspezifischen Serumwerte von CXCL9	74
Abbildung 16: ELISA-Auswertung des Einflusses des Rauchens auf den Serumspiegel des Zytokins CD80 (B7-1).....	76
Abbildung 17: ELISA-Auswertung des Einflusses des Rauchens auf den Serumspiegel des Zytokins CD28.....	77
Abbildung 18: ROC-Kurve für den Marker CXCL9	79

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der verwendeten Zytokinarray-Kits	28
Tabelle 2: Liste der verwendeten ELISA-Kits	28
Tabelle 3: Im Zytokin-Array-Kit enthaltene Chemikalien und Materialien der Firma Raybiotech®	29
Tabelle 4: Verwendete Chemikalien der Firma R&D Systems® für ELISA B7-1/CD80 und CD28.....	29
Tabelle 5: Verwendete Chemikalien der Firma PeproTech® für ELISA MIG/CXCL9.....	30
Tabelle 6: Übersicht über die verwendeten ELISAs und den jeweils verwendeten Verdünnungsfaktor.....	31
Tabelle 7: Laborchemikalien und eigens hergestellte Lösungen	32
Tabelle 8: Liste der verwendeten Geräte.....	33
Tabelle 9: Verwendete Softwares	34
Tabelle 10: Komplikationsklassifikation (definiert durch das KIKS/AIQNET Projektteam des SWI).....	43
Tabelle 11: Auflistung der durchgeführten Microarrays (inklusive der Anzahl der jeweils detektierbaren Zytokine pro Membran)	44
Tabelle 12: Darstellung der Signifikanzen mit Graph Pad Prism	50
Tabelle 13: ROC-Analyse für das Zytokin CXCL9	79

Abkürzungsverzeichnis

AIQNET.....	Artificial Intelligence for clinical trials
APCs.....	<i>antigen-präsentierende Zellen</i>
AUC	<i>Area under the Curve</i>
AUDIT-C	<i>Alcohol Use Disorders Identification Test</i>
BGU	<i>Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik</i>
BMI.....	<i>Body-Mass-Index</i>
ELISA.....	<i>Enzyme-linked immunosorbent Assay</i>
Fa.....	<i>Firma</i>
FINDRISK	<i>Finnish Diabetes Risk Score</i>
ID	<i>Identifikationsnummer</i>
Inc.	<i>Incorporated (company), Unternehmen mit eigener Rechtsfähigkeit/Eingetragen bei</i>
IT	<i>Informationstechnik-Abteilung</i>
KIKS.....	<i>Künstliche Intelligenz für klinische Studien</i>
KIS	<i>Krankenhausinformationssystem</i>
ns	<i>Nicht signifikant</i>
PY	<i>pack year</i>
RKI.....	<i>Robert Koch-Institut</i>
ROC.....	<i>Receiver Operating Characteristics</i>
SII.....	<i>systemischer Immuneentzündungsindex</i>
SWI	<i>Siegfried-Weller-Institut</i>
T-Zellen.....	<i>Thymus-Zellen</i>
USA.....	<i>United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika)</i>

Gender-Disclaimer

Zur Verbesserung der Lesbarkeit dieser Arbeit wurde die maskuline Personenform gewählt. Diese bezieht sich stets auf alle Geschlechter und Identitäten gleichermaßen.

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Nach unfallchirurgischen Eingriffen sind postoperative Komplikationen eine häufige Erscheinung (1-3). Insbesondere bei Tabakkonsumenten werden vermehrt Komplikationen wie eine gestörte Wundheilung oder Infektionen beobachtet (1, 4-14). Tabakkonsum zählt in Deutschland neben Alkohol zu den am weitesten verbreiteten Abhängigkeitserkrankungen (15) und stellt somit das größte vermeidbare Gesundheitsrisiko dar (16-19). Dies hat weitreichende Auswirkungen auf das Leben der Patienten und kann zu einer reduzierten Lebensqualität, einem prolongierten Heilungsverlauf, möglichen Funktionsverlusten und der potenziellen Gefahr der Entwicklung von schwerwiegenden Komplikationen führen (10, 12-14, 20-23). Aspera-Werz *et al.* (2019) ebenso wie Ehnert *et al.* (2019) konnten bereits in ihren wissenschaftlichen Studie nachweisen, dass ein langjähriger regelmäßiger Tabakkonsum sehr häufig mit der Entwicklung postoperativer Komplikationen nach orthopädischen Eingriffen in dieser Patientengruppe verbunden ist (6, 24). In Folge dessen kommt es oftmals zu einem signifikant prolongierten Krankenhausaufenthalt für die Patienten, was wiederum mit einer beträchtlichen Steigerung der Behandlungskosten einhergeht (5, 21, 25-29). Im Jahr 2018 verursachten die rauchbedingten medizinischen Kosten in Deutschland rund 27 Milliarden Euro (27).

Nicht nur die zusätzliche finanzielle Belastung, sondern auch die potenzielle Überlastung der Krankenhäuser und ihres Personals in dieser Situation stellen das Gesundheitssystem vor große Herausforderungen (21, 25, 27, 28, 30).

In klinischen Studien konnte bereits nachgewiesen werden, dass Nikotinabusus unter anderem auch immunsuppressive Effekte hervorruft (31, 32). Vor diesem Hintergrund ist die frühzeitige Komplikationsprävention bei Risikopatienten besonders wichtig. Diese Notwendigkeit bildet die Grundlage und Motivation für diese Arbeit und stellt einen weiteren interessanten Aspekt der wissenschaftlichen Forschung dar. Insbesondere die Auswirkungen auf die zelluläre Funktionsweise des Immunsystems sind zu untersuchen, da sich der

EINLEITUNG

Konsum von Tabak sowohl auf die angeborene als auch auf die erworbene Immunantwort auswirkt (33, 34).

Das Rauchen von Tabak hat nachweislich Auswirkungen auf die Sekretion von Zytokinen durch Monozyten, Makrophagen und dendritische Zellen und kann zudem ihre Fähigkeit beeinträchtigen, die Proliferation von T-Zellen auszulösen (35).

1.2 Rauchen

„Rauchen ist definiert als bewusstes Einatmen von Rauch verbrennender Pflanzenteile (nikotinhaltigen Tabakpflanzen – *Nicotiana tabacum*) bis in die Mundhöhle, tiefen Atemwege sowie Lunge in Form von Zigaretten, Zigarillos/Zigarren oder Pfeifen“ (36).

Im Jahr 2021 rauchten laut des epidemiologischen Suchtsurvey deutschlandweit etwa 11,6 Millionen Menschen im Alter von 18 bis 64 Jahren, was einem Anteil von 22,7 % der deutschen Gesamtbevölkerung entspricht (15). Insbesondere in der Altersgruppe von 30 bis 44 Jahren zeigt sich im Rauchverhalten die höchste Prävalenz (37 %) (37).

Bis zu Beginn der Coronapandemie konnte ein leichter Rückgang der Konsumentenanzahl beobachtet werden, was auf verschiedenste Präventionsmaßnahmen der vergangenen Jahre zurückzuführen war (16). Ein erneuter Anstieg der Konsumentenzahl konnte jedoch während der Coronapandemie beobachtet werden (29, 38-40). Rauchen fungiert oftmals als eine Art Ventil für psychische Belastungen (38). Die während der Covid-19-Pandemie gestiegenen Konsumentenzahlen könnten daher auf einen erhöhten psychischen Stress während dieser Zeit hinweisen (38). Die deutsche Bundesregierung hat weiterhin vorrangig das Ziel, die Anzahl der Tabakkonsumenten zu senken (41). Um dieses Ziel zu erreichen, werden weiterhin Maßnahmen wie beispielsweise Präventionskampagnen, weitere Gesetze zur Verpackung von Tabakerzeugnissen, Werbebeschränkungen sowie die Sensibilisierung für die Folgen des Tabakkonsums angestrebt (41).

EINLEITUNG

Die Folgen von kontinuierlichem Tabakkonsum sind vielfältig und weitreichend (42). In der heutigen Zeit stellt Nikotinabusus die Hauptursache für verschiedenste Erkrankungen wie Atemwegserkrankungen (COPD, Lungenemphysem), Herz-Kreislauf-Erkrankungen (Arteriosklerose, Herzinfarkt), gestörte Knochen- und Wundheilung, rheumatische Erkrankungen, Parodontalerkrankungen sowie verschiedenste Krebsformen und dadurch verursachte Todesfälle dar (9, 17, 29, 43).

Laut Angaben des Bundesministeriums für Gesundheit (Stand 3. Januar 2024) führt der regelmäßige Tabakkonsum in Deutschland jährlich zu circa 127.000 Todesfällen (29, 41).

Im Tabak sowie in dessen Rauch sind mehr als 9500 chemische Verbindungen in einer komplexen Mischung enthalten, welche als gesundheitsschädlich und kanzerogen einzustufen sind (18, 44-46). Nikotin, als eines der prominentesten Inhaltstoffe des schädlichen Tabaks, entfaltet seine Wirkung vorrangig im Gehirn (46). Zusätzlich gilt es als der pharmakologisch aktivste Inhaltsstoff des Tabakrauchs (47), weshalb ihm ein enormes Abhängigkeitspotenzial zugeschrieben wird (46, 48).

Beim Rauchen werden pro Zigarette ein bis zwei Milligramm Nikotin in den Körper aufgenommen (49). Innerhalb weniger Sekunden gelangt das Nikotin unverändert über die Lunge in den Blutkreislauf und anschließend ins Gehirn (49). Dort bindet es an nikotinerge Acetylcholinrezeptoren auf Ganglien des autonomen Nervensystems und beeinflusst infolgedessen verschiedenste Körperprozesse (49). Durch den Konsum von Tabak wird im Gehirn die Freisetzung verschiedener psychisch aktiver Neurotransmitter wie Serotonin, Dopamin, GABA (γ -Aminobuttersäure), Glutamat, Noradrenalin, Acetylcholin und viele weitere gefördert (49). Die Entstehung der Abhängigkeit beruht darauf, dass der Körper im Laufe der Zeit eine Toleranz gegenüber dem Nikotin entwickelt (49). Dies resultiert in einem steigenden Verlangen und der Erfordernis einer kontinuierlich höheren Nikotindosis, um den ersehnten Effekt zu erzielen und Entzugserscheinungen zu vermeiden (49).

Die Zusammensetzung von Zigaretten ist komplex, wobei neben dem toxischen

EINLEITUNG

Alkaloid Nikotin weitere schädliche Inhaltsstoffe enthalten sind (46). Diese werden als Tabakzusätze von der Tabakindustrie beigefügt, um den Tabakkonsum für Konsumenten attraktiver zu gestalten (46). Zu diesen schädlichen Bestandteilen gehören unter anderem Acetaldehyd, polyzyklische Wasserstoffe, flüchtige Kohlenwasserstoffe, tabakspezifische Nitrosamine sowie verschiedene Schwermetalle (46).

1.2.1 Quantifizierung des Zigarettenkonsums

Zur Quantifizierung des Zigarettenrauchkonsums wird vorwiegend die Einheit „*pack year - PY*“ verwendet (50, 51). Sie beschreibt die Dosis des Rauchens von Zigaretten und ermöglicht das Abschätzen der konsumierten Zigaretten (51). Ein PY beschreibt das Rauchen von einer Packung mit 20 Zigaretten pro Tag für ein Jahr. Berechnet werden kann die Rauchdosis individuell mit folgender Formel:

$$\text{Anzahl Packungsjahre} = \left(\frac{\text{pro Tag gerauchte Zigaretten}}{20} \right) \times (\text{Anzahl Raucherjahre})$$

EINLEITUNG

1.2.2 Gesundheitliche Auswirkungen des Tabakkonsums

Tabakkonsum hat negative Auswirkungen auf unterschiedlichste Organsysteme mitsamt bestehenden Krankheiten wie Herzkreislauf-, Atemwegs- oder Autoimmunerkrankungen, Durchblutungs- oder Wundheilungsstörungen, Nierenversagen, Apoplex, Arteriosklerose und neben kardiovaskulären und pulmologischen auch onkologische Erkrankungen (17, 33, 52-55). Ebenso steigert der Konsum von Tabak das Risiko einer Diabetes Typ-2 Erkrankung (56, 57).

Die Wahrscheinlichkeit, rauchbedingte Krankheiten zu entwickeln, steigt in Abhängigkeit von der Rauchdosis. Dabei ist die Berücksichtigung der Intensität wichtig, jedoch spielt die Dauer des Tabakkonsums eine noch entscheidendere Rolle (51).

Verschiedene Studien haben bereits nachgewiesen, dass Nikotin eine schädliche Wirkung auf das körpereigene Abwehrsystem ausübt (55, 58) und eine immunsuppressive Wirkung hat (32, 33, 47). Der regelmäßige Tabakkonsum durch das Rauchen von Zigaretten erhöht erheblich die Anfälligkeit dieser Patienten für die Entwicklung von postoperativen Komplikationen (6, 11, 24, 59). Das Tabakrauchen setzt eine Vielzahl von toxischen Substanzen frei, die nicht nur schädliche Auswirkungen auf die Atemwege und andere Körperfunktionen, einschließlich der Immunfunktion haben, sondern auch mit der Entstehung von weiteren Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ-2, Arteriosklerose und krebserregenden Effekten verbunden sind (43, 55, 60). Dies hat tiefgreifende Auswirkungen auch auf die zelluläre Funktionsweise des Immunsystems, indem die Nikotinexposition sowohl die zelluläre als auch die humorale Immunantwort dieses Systems verändern (33). So nehmen diese Substanzen Einfluss auf die Entwicklung, die Produktion von Zytokinen und die Wirkung von angeborenen Immunzellen wie dendritische Zellen (DCs), Makrophagen und natürliche Killerzellen (NK) (33). Zudem werden adaptiven Immunzellen wie zytotoxische CD8⁺ T-Zellen, CD4⁺ regulatorische T-Zellen und T- und B-Gedächtniszell-Lymphozyten beeinflusst (33). Letztlich führt dies im Organismus zu entzündlichen Reaktionen bis hin zu

EINLEITUNG

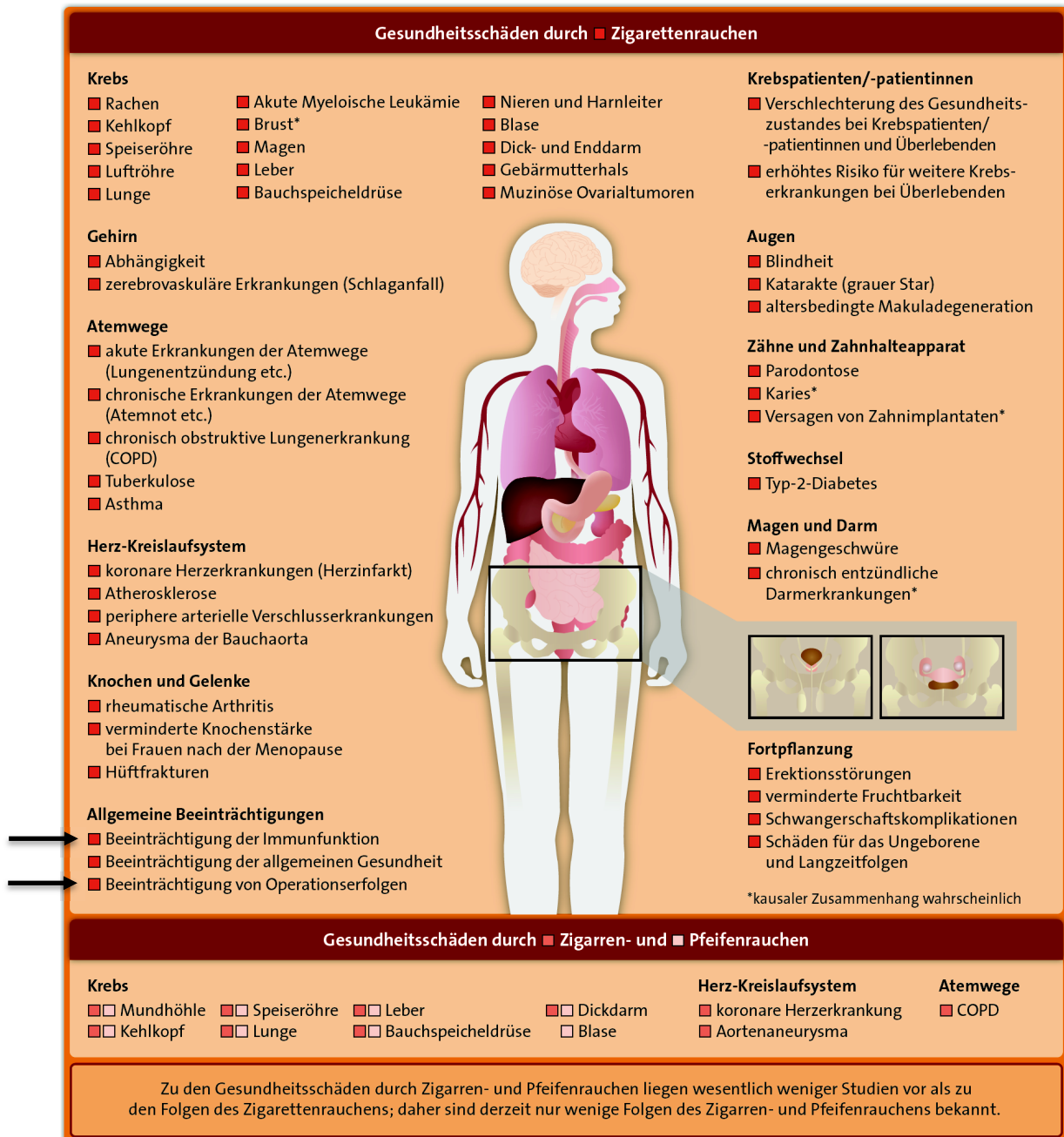
einer gestörten Funktion der Immunzellen (43). Ebenfalls die Exposition gegenüber Passivrauch erhöht bereits nicht nur das Risiko für schwerwiegende Erkrankungen, sondern steigert ebenfalls die Anfälligkeit für postoperative Komplikationen (61).

Für den klinischen Alltag der Unfallchirurgie ist von besonderer Bedeutung, dass der Konsum von Nikotin ein vermeidbarer Risikofaktor für metabolische Knochenerkrankungen darstellt, wie Ehnert *et al.* ebenso wie Aspera *et al.* bereits in ihren wissenschaftlichen Studien 2019 belegen konnten (6, 24). Das Rauchen von Nikotin-haltigen Zigaretten beeinträchtigt den Knochenstoffwechsel und führt zur verzögerten Frakturheilung (6, 8, 24). Begründet liegt dies vor allem in dem schädlichen Einfluss des Rauchens auf die Differenzierung von Stammzellen zu Knochenzellen und die Mineralisierung des Knochens während der Phase der Frakturheilung (8, 59). Der Konsum von Tabak trägt darüber hinaus zu einer Steigerung der Anzahl an knochenabbauenden Zellen bei, führt also zu einer erhöhten Osteoklastenaktivität (8, 59). Dies kann beispielsweise zur Entstehung von Pseudarthrosen führen, indem zum Beispiel Knochenbrüche nicht verheilen oder sogar die Notwendigkeit einer Revisionsoperation bedingen (6, 24, 62).

Darüber hinaus führt regelmäßiger Tabakkonsum zu Veränderungen der Zytokinspiegel im Blut, was ein Ungleichgewicht in der Zytokinregulation bei den betroffenen Patienten zur Folge hat (24, 35, 63-66). Da Zytokine eine entscheidende Rolle in der Regulierung von Entzündungsreaktionen spielen, kann die Blutanalyse wertvolle Erkenntnisse über verschiedene Krankheitsmuster geben (31, 53, 63, 67, 68).

Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt daher auf der Analyse von Zytokinen, da diese je nach Krankheitsbild und Rauchverhalten/-exposition dadurch besonders beeinflusst sein können (68). Die nachfolgende Abbildung 1 (46) veranschaulicht die umfangreichen Auswirkungen des Zigarettenrauchens auf den gesamten menschlichen Organismus.

EINLEITUNG



Gesundheitsschäden durch Zigaretten-, Zigarren- und Pfeifenrauchen

Abbildung 1: Gesundheitliche Folgen des Tabakrauchens aus dem TabakAtlas Deutschland 2020 des Deutschen Krebsforschungszentrum, S.19 (46)

1.3 Postoperative Komplikationen

Unter postoperativen Komplikationen versteht man Entitäten, die durch operative Eingriffe verursacht werden können. Dazu zählen im Allgemeinen Hämatome, kardiovaskuläre Komplikationen, tiefe Beinvenenthrombosen, Lungenembolien und -entzündungen sowie Blutungen, Nachblutungen, Verletzungen umliegender Strukturen, Infektionen, Knochen- und Wundheilungsstörungen (69, 70). Postoperative Komplikationen tragen wesentlich zu einer gesteigerten Morbidität und Mortalität bei (25). Sie führen zu einem verzögerten Heilungsprozess und einer längeren Krankenhausverweildauer (8, 20-26). Darüber hinaus kann sich dies in einem erhöhten Behandlungsaufwand niederschlagen, bedingt durch möglicherweise zusätzlich erforderliche therapeutische Maßnahmen und führt somit ebenfalls zu erheblich gesteigerten Behandlungskosten (20, 25, 26, 30).

Vor jeder Operation werden Patienten grundsätzlich schriftlich und mündlich durch Aufklärung in Form eines Gesprächs und eines Aufklärungsbogen transparent über die möglichen postoperativen Komplikationen informiert.

Die Gefahr der Entwicklung von postoperativen Komplikationen besteht prinzipiell für alle Patienten, wobei das Risiko für Patienten, die einen regelmäßigen Tabakkonsum aufweisen, besonders erhöht ist (1, 6-8, 24, 28, 48, 71). Der tägliche Tabakkonsum sowie regelmäßiger Alkoholkonsum steigern das Risiko von auftretenden Komplikationen nach Fraktur und operativen Eingriffen beispielsweise um das Zwei- bis Vierfache (72). Besonders die schädlichen Auswirkungen des Zigarettenrauchens auf den Knochenmetabolismus stellen einen vermeidbaren Risikofaktor für metabolische Knochenerkrankungen und somit für postoperative Komplikationen dar (7, 8, 11, 24, 59).

1.4 Zytokine

Das menschliche Immunsystem besteht aus zwei grundlegenden Komponenten: dem angeborenen und dem erworbenen Immunsystem (73). Beide Systeme sind äußerst komplex und bestehen aus einem zellulären und einem humoralen, löslichen Anteil, die eng miteinander verflochten sind (73). Die angeborene Immunität ist bereits bei der Geburt vorhanden und umfasst Makrophagen, Granulozyten und natürlichen Killerzellen, die dem Körper einen allgemeinen, unspezifischen Schutz vor Krankheitserregern bieten (73). Im Gegensatz dazu entwickelt sich das adaptive, erworbene Immunsystem erst nach der Geburt und baut eine spezifische körpereigene Abwehr auf (73). Es setzt sich aus Immun-Gedächtniszellen wie T- und B-Lymphozyten zusammen, die auf bestimmte Erreger, sogenannten Antigene, reagieren und daraufhin Antikörper produzieren (73).

Zytokine sind Proteine, Peptide oder Glykoproteine, welche aus 100 – 200 Aminosäuren bestehen (74, 75). Sie werden von einer Vielzahl spezifischer Zellen des Immunsystems produziert und dienen als wichtige Mediatoren, welche über komplexe Netzwerke die Immun- und Entzündungsreaktionen im menschlichen Organismus steuern und regulieren (68, 74, 76). Ihnen wird eine bedeutende medizinische und biologische Relevanz zugeschrieben.

Die Quantifizierung von Zytokinen ermöglicht Einsichten in die physiologischen und pathologischen Abläufe des Organismus. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Bestimmung von Zytokinen können diese Erkenntnisse zu Infektionen, Entzündungen, Autoimmunerkrankungen oder anderen Krankheitszuständen geben und demnach zur Unterstützung von Diagnose und Therapie genutzt werden (53, 68). Abhängig vom vorliegenden Erkrankungsbild kommt es zu Schwankungen oder Veränderungen im Zytokin-Spiegel in den verschiedenen Körperflüssigkeiten, wie beispielsweise im Serum der Patienten (68). Grund hierfür ist, dass einzelne Zytokine von verschiedenen Zelltypen sezerniert werden können, wodurch sie endokrin oder exokrin eine Vielzahl von Zelltypen beeinflussen und damit verbunden zu einer gesteigerten biologischen Aktivität im Körper führen können (68, 74, 75).

EINLEITUNG

Entzündungsprozesse repräsentieren ein über die Evolution erhaltenes und sorgfältig über Zytokine gesteuertes Programm zum Schutz unseres Organismus um Infektionen und Verletzungen bekämpfen zu können (53, 63, 77). Bei bestimmten Patientengruppen, wie beispielsweise bei Rauchern, kann es sinnvoll sein, neben den etablierten laborchemischen Parametern auch gezielt spezifische Zytokine zu analysieren. Der Grund dafür liegt darin, dass Tabakkonsum oft eine suppressive Wirkung sowohl auf die angeborene als auch erworbene Immunantwort hat (31, 78).

Rauchen fördert Entzündungsreaktionen, indem es beispielsweise die Anhaftungsfähigkeit von Monozyten an das Endothelgewebe erhöht (67), was wiederum zu einer verstärkten Freisetzung von Adhäsionsmolekülen und Zytokinen durch Endothelzellen führt (67).

1.5 KIKS/AIQNET

KIKS/AIQNET ist das siegreiche Projekt des Innovationswettbewerbs für künstliche Intelligenz des Bundesministeriums für Wirtschaft und Klimaschutz der Bundesregierung Deutschland aus dem Jahr 2019, welches unter dem Akronym „KIKS – Künstliche Intelligenz für klinische Studien“ bekannt wurde (79, 80). Im späteren Verlauf wurde das Projekt in „*AIQNET – Medical Data Ecosystem*“ umbenannt (80). AIQNET steht für einen bundesweiten Zusammenschluss von 16 Akteuren, welche in den Bereichen Medizintechnik und Gesundheitsversorgung tätig sind (79, 80).

Ziel des Projektes war die Erschaffung eines digitalen Netzwerks, welches die datenschutzkonforme Nutzung sektorenübergreifender medizinischer Daten ermöglicht (80). Die Hauptaufgabe bestand darin, die Verbindung untereinander von Krankenhäusern mit Patienten, Medizinprodukte-Herstellern, Softwareanbietern und weiteren Akteuren des Gesundheitswesens herzustellen und damit eine verbesserte Vernetzung untereinander zu ermöglichen (79, 80).

Hierbei war von entscheidender Bedeutung, dass eine effektive Vernetzung untereinander gewährleistet werden sollte, um medizinische Informationen strukturiert und unter Einhaltung der Datenschutzrichtlinien austauschen zu können (79, 80).

Das Ziel bestand darin, die derzeit unstrukturierten Daten aus den Bereichen Labordiagnostik, Bildgebung, medizinischer Vorgeschichte, Diagnose und Behandlungsverlauf zu strukturieren und dabei die Digitalisierung im Gesundheitswesen voranzutreiben (80). Die Grundvoraussetzung dafür bestand in der Verwendung einheitlicher Datenmodelle, unabhängig von den spezifischen Organisationsstrukturen, Krankenhausinformationssystemen, Technologien und Dateiformaten (79, 80). Mithilfe künstlicher Intelligenz sollte automatisiert geholfen werden, die gewünschten Informationen zu erfassen und diese auf strukturierte Weise zu analysieren, wodurch zusätzlicher Aufwand und Kosten reduziert werden sollen (80). Das Hauptziel dieses digitale Ökosystems bestand in der frühzeitigen Identifizierung von Risikopatienten, indem unverzüglich die relevanten Risikofaktoren der jeweiligen Patienten abgefragt wurden, um

EINLEITUNG

dadurch bestenfalls Komplikationen zu minimieren oder sogar vermeiden zu können (81). Die Firma RAYLYTICS GmbH mit Sitz in Leipzig diente dabei als Initiator des Projektes und leitete zugleich den Zusammenschluss der verschiedenen Akteure. Die Koordination des Vorhabens wurde von der Firma BioRegio STERN Management GmbH in Stuttgart übernommen (81).

Im Rahmen des AIQNET-Projektes konnten in der BG Unfallklinik Tübingen (BGU) Corona-bedingt 1494 Patienten (Stand: 18.01.2024) aus den Abteilungen Endoprothetik, Traumatologie und Alterstraumatologie sowie Patienten mit einem infektiösen Krankheitsverlauf am Bewegungsapparat in die Studie eingeschlossen werden.

1.6 Fragestellung

Die frühzeitige Identifizierung von Risikopatienten spielt eine entscheidende Rolle bei der Optimierung und Verbesserung der Versorgung von Patienten und deren Heilungsverlauf. Gleichzeitig trägt sie zur Effizienzsteigerung und Kostenreduktion bei, was nachhaltig die Wirtschaftlichkeit der Kliniken beeinflusst. Wissenschaftliche Erkenntnisse belegen, dass z. B. Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern eine gesteigerte Anfälligkeit für die Entwicklung von postoperativen Komplikationen aufweisen (7, 8, 72). Aufgrund dessen ist eine frühzeitige Prävention von Komplikationen besonders wichtig. Es ist jedoch zu betonen, dass nicht jeder Raucher zwangsläufig eine Komplikation entwickelt.

Das Bestreben dieser Untersuchung ist die gezielte frühzeitige Identifizierung von Risikopatienten in der Gruppe der Raucher in der Unfallchirurgie und Orthopädie. Dazu wurden Gesundheitsdaten erfasst und das Blut der Patienten neben den etablierten laborchemischen Parametern auch auf prädiktive Marker analysiert, um spezifische Blutmarker zu identifizieren und eine individuell bestmöglich angepasste Therapie zu ermöglichen (68). Dadurch könnten postoperative Komplikationen im besten Fall verhindert und eine Überlastung des Gesundheitssystems vermieden werden.

EINLEITUNG

1.7 Ziel

Komplikationen nach operativen Eingriffen tragen maßgeblich zu einer gesteigerten Morbidität und Mortalität der Patienten bei (25). Durch einen oftmals deutlich verlängerten Heilungsprozess und die daraus resultierende längere Krankenhausaufenthaltsdauer der Patienten werden die Krankenhäuser und das Gesundheitssystem häufig zusätzlich belastet (8, 20-26, 28, 30).

Vor diesem Hintergrund stellte sich die Frage, wie sich Zytokinprofile von Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern nach muskuloskelettalen Frakturen unterscheiden und inwiefern Zytokinspiegel zur Vorhersage des Heilungsverlaufs genutzt werden können, um postoperativen Komplikationen gezielt vorzubeugen.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden für die Patientenkohorte (N = 897) dazu unter anderem verschiedene spezielle, sowohl validierte als auch nicht validierte Fragebögen sowie gezielte Blutanalysen und laborchemische Untersuchungen ausgewählt, um potenzielle Faktoren sowie Blutmarker für die Gruppe der Raucher identifizieren zu können. Zu den laborchemischen Analysen gehörte die Zytokin-/Microarray-Analyse und die ELISA-Analyse. Die Untersuchung von Zytokin-/Microarrays ist eine antikörperbasierte Analysemethode, die die Analyse von Genexpressionen ermöglicht (82, 83). Mithilfe dieser laborchemischen Methode können Unterschiede in den Expressionsniveaus mehrerer Zytokine gleichzeitig identifiziert werden. Durch die Verwendung der für diese Studie ausgewählten Array-Kits der Firma Raybiotech® konnten insgesamt 103 Zytokine untersucht werden, die als bekannte Marker für Entzündungsreaktionen gelten (84-95). Für die quantitative Bestimmung der Konzentration spezifisch regulierter Zytokine aus der Zytokinarray-Analyse dieser Patientenkohorte, darunter CD28, CD80 (B7-1) und CXCL9 (MIG), wurde das Sandwich-ELISA-Verfahren ausgewählt.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Ethikantrag

Das vorliegende Projekt KIKS/AIQNET wurde vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz der Bundesrepublik Deutschland unter der Fördernummer FKZ 01MK20003G gefördert.

Der Ethikantrag wurde am 08.07.2020 von der Ethikkommission der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter der Projektnummer 346/2015B02 für das Gesamtprojekt KIKS/AIQNET und somit auch für diese Dissertation als positiv bewertet und genehmigt.

2.1.2 Fragebögen

Die Patientenbefragung erfolgte in der BGU Tübingen mithilfe von zehn teilweise validierten und nicht-validierten Fragebögen, die auf iPads ausgefüllt wurden. Die nicht-validierten Fragebögen wurden gezielt vom Projektteam KIKS/AIQNET entwickelt und enthalten vier Fragebögen mit insgesamt 19 bis 22 Fragen. Innerhalb dieser vier nicht-validierten Fragebögen wurden Fragenkomplexe zur „medizinischen Vorgeschichte“ (drei Fragen), zur „Mobilität und Umfeld“ (fünf Fragen), zu „Beruf und Bildung“ (vier bis sieben Fragen) sowie zu „Ernährungshindernissen“ (sieben Fragen) abgefragt.

Die sieben validierten Fragebögen beinhalteten weitere 33 bis 38 Fragen. Von Fachexperten sorgfältig überprüft und einheitlich festgelegt, fungierten validierte Fragebögen als zuverlässige Instrumente für eine konsistente und vergleichbare Datenerhebung. Die validierten Fragebögen enthielten Fragen zu verschiedenen Aspekten: Das Diabetesrisiko wurde im „FINDRISK (96) (Finnish Diabetes Risk Score)“ mit acht Fragen bewertet, der Ernährungszustand im „NRS (97) (Nutrition Risk Screening 2002)“ mit vier bis sechs Fragen, der Alkoholkonsum im „AUDIT-C (98)“ mit drei Fragen, das Rauchverhalten im „Ultrakurzfragebogen Aktivrauchen des RKI (99)“ in eine bis vier Fragen, der Gesundheitszustand bezüglich Beweglichkeit, den alltäglichen Arbeitstätigkeiten, Schmerzen und Niedergeschlagenheit im Fragenkomplex

MATERIAL UND METHODEN

„EQ-5D-5L (100, 101) (European Quality of Life 5 Dimension 5 Level Version)“
mit fünf Fragen und schließlich ein allgemeiner Gesundheitsfragebogenkomplex

„SF-12 (102, 103) (Short Form – 12)“ (zwölf Fragen).

MATERIAL UND METHODEN

2.1.3 Zytokinarray-Kits

Table 1: Liste der verwendeten Zytokinarray-Kits

Zytokinarray	Hersteller	Katalog Nr. / Lot Nr.
Human Immune Checkpoint Array C1 Biotinylated Antibody Cocktail	Raybiotech®	AAH-ICM-1B, C0251420
Human Cytokine Array C5 Biotinylated Antibody Cocktail	Raybiotech®	AAH-CYT-5B, C0152521

2.1.4 ELISA-Kits

Table 2: Liste der verwendeten ELISA-Kits

ELISA	Hersteller	Katalog Nr. / Lot Nr.
Human B7-1/CD80	R&D Systems®	DY140, P300652
Human CD28	R&D Systems®	DY342-05, P376560
Human MIG/CXCL9	PeptoTech®	900-K87, 0710087

MATERIAL UND METHODEN

2.1.5 Chemikalien

Tabelle 3: Im Zytokin-Array-Kit enthaltene Chemikalien und Materialien der Firma Raybiotech®

Raybiotech®
Blockierungspuffer
Waschpuffer 1
Waschpuffer 2
Biotinylierter Antikörper-Cocktail
Streptavidin-konjugiertes HRP
Detektionspuffer C
Detektionspuffer D
Lysepuffer
8-Well-Inkubationstablett

Tabelle 4: Verwendete Chemikalien der Firma R&D Systems® für ELISA B7-1/CD80 und CD28

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 (Tetramethylbenzidine)	DY999
Stopplösung	2 N H ₂ SO ₄	DY994

MATERIAL UND METHODEN

Tabelle 5: Verwendete Chemikalien der Firma PeproTech® für ELISA MIG/CXCL9

PeproTech®	Komponenten
PBS	10 PBS auf 1xPBS, pH 7.20 in sterilem Wasser verdünnen
Waschpuffer	0.05 % Tween-20 in PBS
Blockierungspuffer	1 % BSA in PBS
Verdünnungsmittel	0.05 % Tween-20, 0.1 % BSA in PBS
Capture-Antikörper	100 µg Kaninchen Anti-Human MIG (CXCL9) + 2.5 mg D-Mannitol, vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser rekonstituieren, um eine Konzentration von 100 µg/ml zu erhalten
Detektions-Antikörper	100 µg biotinyliertes Kaninchen Anti-Human MIG (CXCL9) + 2.5 mg D-Mannitol, vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser rekonstituieren für eine Konzentration von 100 µg/ml
Standard	1 µg rekombinantes humanes MIG (CXCL9) + 2.2 mg BSA + 11.0 mg D-mannitol, vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser rekonstituieren für eine Konzentration von 1 µg/ml
Avidin-HRP-Konjugat	5.5 µl of Avidin-HRP-Konjugat 1:2000 verdünnt (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 ABTS-Stammlösung, 5 µl 30 % H ₂ O ₂

MATERIAL UND METHODEN

Tabelle 6: Übersicht über die verwendeten ELISAs und den jeweils verwendeten Verdünnungsfaktor

Zytokine	Funktion	Hersteller	Katalog Nr.	Verdünnungsfaktor
CD80	Aktivierung, Regulierung von T-Zellen	R&D Systems®	DY140	1.25
CD28	Aktivierung, Regulierung von T-Zellen	R&D Systems®	DY342-05	2.0
CXCL9	Aktivierung, Migration, Differenzierung von Immunzellen	PeproTech®	900-K87	1.5

MATERIAL UND METHODEN

Tabelle 7: Laborchemikalien und eigens 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
Wasser in Laborqualität (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 Phosphate Buffered Saline 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	-

MATERIAL UND METHODEN

2.1.6 Geräte

Tabelle 8: Liste der verwendeten Geräte

Geräte	Typ/Modell	Seriennummer	Hersteller
Kühlschrank	Power Cooling	3523-21 F	Liebherr®
Gefrierschrank (-80°C)	905	827860-2521	Thermo Fisher Scientific®
Spektralphotometer, UV/sichtbares Licht	Fluostar Omega	415-1264	BMG LABTECH GmbH®
Dosiergerät - Pipettier-Steuerung	Rota-Filter 3000	-	Integra GmbH®
Dosiergerät - Pipettier-Steuerung	Pipetboy acu	629619	Integra GmbH®
Rüttler/Schüttler, Labor	DRS 12	11 DE 090	LTF Labortechnik GmbH®
Mischer, 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-Analysator	Chemo Cam Imager	-	Intas Science Imaging Ins GmbH®
Präzisionswaage	ABJ 120-4 M	WB 1140084	Kern & Sohn GmbH®

MATERIAL UND METHODEN

2.1.7 Softwares

Tabelle 9: Verwendete Softwares

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 20	Clarivate Analytics®	20.6

2.2 Methoden

2.2.1 Patienteneinschluss

Im Rahmen des Projekts KIKS/AIQNET wurden Patienten aus nahezu allen medizinischen Fachbereichen der BGU Tübingen für die Studie gewonnen, ausgenommen waren die Abteilung der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (MKG) und der Hand-, Plastische, Rekonstruktive und Verbrennungschirurgie (HPRV).

In den jeweiligen Abteilungen der Traumatologie, Alterstraumatologie, Endoprothetik und septischer Unfallchirurgie wurden die Patienten zur Studienaufnahme entsprechend befragt.

Die vorliegende klinisch-experimentelle Arbeit beschränkt sich nicht auf eine spezifische Fachabteilung, sondern umfasst die oben genannten Fachabteilungen gleichermaßen. Der Schwerpunkt liegt dabei auf dem Rauchverhalten der Patienten in den eingeschlossenen Abteilungen, wobei intensivpflichtige Patienten ausgeschlossen sind.

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Klinischen Studienzentrum der BGU Tübingen im Zeitraum von Juli 2020 bis September 2023. Das vorliegende Patientenkollektiv umfasst sowohl Raucher mit und ohne Komplikationen als auch eine Kontrollgruppe aus Nichtrauchern ohne Komplikationen.

Zu Beginn wurde die Zustimmung der Patienten mittels eines umfassenden Einverständniserklärungsformulars (*Broad Consent* - Bogen) eingeholt. Dieser wurde den Patienten datenschutzkonform in Kopie ausgehändigt. Daraufhin wurden die Patienten mithilfe von iPads und dem Programm „*Heartbeat Medical*“ (HRTBT Medical Solutions GmbH) befragt. Nach Zustimmung der Patienten zur Blutentnahme erfolgte dann diese im Anschluss an die Befragung im Rahmen einer Routineblutentnahme. Klinische Patientendaten wurden aus dem hauseigenen Krankenhausinformationssystem (KIS) *Medico* erfasst, darunter Informationen zum Alter, zur genauen Diagnose, Trauma- sowie Operationszeitpunkt, postoperative Komplikationen, Revisionseingriffe oder

MATERIAL UND METHODEN

andere wichtige Informationen.

Eine erneute Befragung der Patienten zur besseren Erfassung des Heilungsverlaufs erfolgte nach drei Monaten im Rahmen eines *Follow-Up*. Hierzu wurden die Patienten entweder telefonisch oder auf Wunsch auch per E-Mail kontaktiert und befragt. Darüber hinaus wurden die Patienten darüber aufgeklärt, dass ein Ausstieg aus der Studie jederzeit ohne persönliche Konsequenzen möglich sei.

Die gesammelten Patientendaten wurden im Anschluss gemäß der Datenschutzbestimmungen verschlüsselt und durch eine Identifikationsnummer (ID) geschützt, um einen Zugriff durch Dritte zu verhindern.

2.2.1.1 Einschlusskriterien

Voraussetzung zur Studienteilnahme war eine freiwillige Zustimmung (*Broad Consent: 806/2021BO2*) der Patienten. Das Erfüllen folgender Kriterien war für die Patienten dabei essentiell:

- Volljährigkeit (mindestens 18 Jahre)
- Patient an der BG Unfallklinik Tübingen
- ein bereits durchgeführter oder geplanter operativer Eingriff
- kein vorliegendes Polytrauma
- keine kognitiven und geistigen Einschränkungen
- gute Deutschsprachkenntnisse

2.2.1.2 Ausschlusskriterien

Die Studie schloss Patienten unter 18 Jahren, Patienten mit kognitiver und geistiger Einschränkung, solche mit unzureichenden Deutschkenntnissen, die eine effektive Kommunikation erschweren, sowie Patienten, die die Befragung oder das *Follow-Up* grundsätzlich ablehnen, oder die sich einer konservativen Therapie unterzogen, von der Teilnahme aus.

MATERIAL UND METHODEN

Im Folgenden ist noch einmal schematisch der Auswahlprozess geeigneter Studienteilnehmer anhand der oben genannten Kriterien dargestellt.

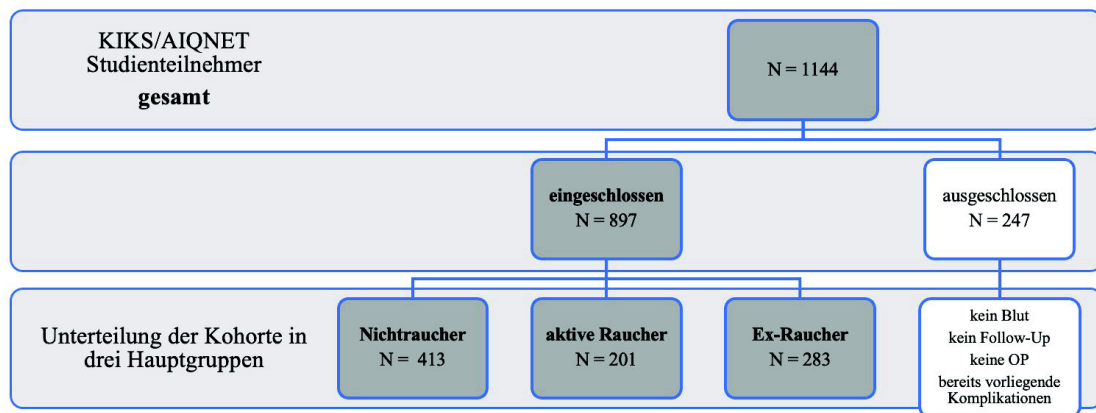


Abbildung 2: Flussdiagramm zur Auswahl geeigneter Studienpatienten

2.2.2 Studiendesign

Patienten, die aufgrund einer Erkrankung stationär in die BGU Tübingen aufgenommen wurden und die Einschlusskriterien für die Teilnahme an der KIKS/AIQNET-Studie erfüllten, wurden, sofern sie zustimmten, in die Studie aufgenommen.

Nach einer Befragung, einer einmaligen Blutentnahme und einem dreimonatigen *Follow-Up*, wurden Patienten in die vorliegende Studie inkludiert und die erhobenen Daten analysiert.

Für das Studiendesign dieser Arbeit wurden neben der Analyse der Zytokinprofile zusätzlich auch die Fragebogenkomplex ausgewertet. Hierbei wurden insbesondere auf Parameter wie das Rauchverhalten, das Alter, der Body-Mass-Index (BMI), das Diabetesrisiko (FINDRISK), die Liegedauer sowie das Alkoholverhalten (AUDIT-C) näher betrachtet.

Für die Analyse waren sowohl rauchende oder ehemals rauchende Probanden als auch Patienten, die noch nie in ihrem Leben geraucht haben, wichtig. In beiden Probandengruppen wurden Patienten sowohl mit als auch ohne Komplikationen ausgewählt.

MATERIAL UND METHODEN

Die Rekrutierung, Aufklärung, Patientenbefragung sowie die Blutentnahme erfolgten in der BGU Tübingen. Zusätzlich wurde das 3-Monats *Follow-Up* per Telefon oder E-Mail durchgeführt. Die Dokumentation im Studienbuch fand im Klinischen Studienzentrum der BGU Tübingen statt.

Die Blutproben wurden nach Entnahme gemäß den Vorgaben, wie in Abschnitt 2.2.2.2 beschrieben, im Siegfried Weller Institut (SWI) Tübingen verarbeitet und gelagert. Dort erfolgte auch die Dokumentation im Laborbuch, die Durchführung der Laborversuche sowie die Auswertung der Ergebnisse.

Die nachstehende Abbildung 3 zeigt das Flussdiagramm zu dem zuvor bereits beschriebenen Studiendesign.

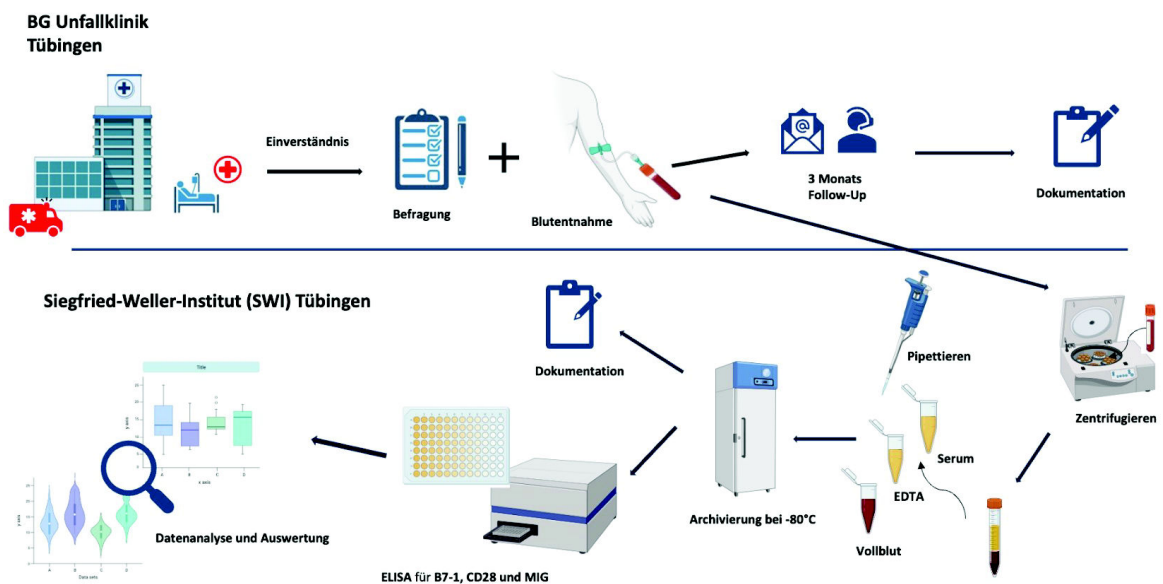


Abbildung 3: Flussdiagramm zum Studiendesign (erstellt mit Windows PowerPoint und BioRender.com)

2.2.2.1 Befragung der Patienten

Nach Zustimmung der Patienten erfolgte die Befragung der Patienten vorwiegend in den jeweiligen Patientenzimmern in der BGU Tübingen. Mithilfe des Programms „*Heartbeat Medical*“ (HRTBT Medical Solutions GmbH) auf dem iPad konnten sich die Patienten eigenständig auf dem iPad durch den Befragungsprozess navigieren. Bei körperlichen Einschränkungen wie einem ruhiggestellten Arm oder Beeinträchtigungen des Sehvermögens wurde die Befragung in Ausnahmefällen in Zusammenarbeit mit einem Doktoranden durchgeführt. Die Befragung umfasste zehn teilweise validierte und teilweise nicht validierte Fragebögen, welche eine Vielzahl von Lebensbereichen abdecken. Weitere relevante Informationen wie beispielsweise genaue Diagnose, Trauma- und Operationszeitpunkt, postoperative Komplikationen, Revisions Eingriffe oder andere wichtige Informationen wurden aus dem hauseigenen KIS *Medico* gewonnen. Um den Erfassungsprozess des Heilungsverlaufs zu optimieren, wurden die Patienten nach drei Monaten in einem *Follow-Up* erneut befragt.

2.2.2.2 Gewinnung der Proben und deren Verarbeitung

Im Zuge der regulären/routinemäßigen Blutentnahme wurde den Patienten ergänzend einmalig Blut entnommen. Da die Patienten in der Regel aufgrund eines geplanten Eingriffs oder eines akuten Krankheitsgeschehens hospitalisiert wurden, blieb oft nur wenig Zeit zwischen der stationären Aufnahme und der Operation. Daher war die Einwilligung zur Studienteilnahme sowie die zusätzliche Blutentnahme für die Studie im Rahmen einer routinemäßigen Blutuntersuchung teilweise erst postoperativ möglich.

Hierzu wurde ihnen kurzzeitig ein Venenzugang mittels einer Flügelkanüle gelegt. Unter Verwendung dieses Venenzugangs konnten pro Patienten insgesamt circa 7 ml venöses Blut, auf jeweils zwei verschiedene Monovetten aufgeteilt, entnommen werden. 2,7 ml wurden davon für die EDTA genormte K3E- und 4 ml für die genormten Serum CAT-Monovette benötigt.

Um die korrekte Zuordnung zu den einzelnen Patienten zu ermöglichen, wurden

MATERIAL UND METHODEN

die Monovetten vor Benutzung mit einem Aufkleber versehen, auf dem die entsprechende Studien-ID sowie das jeweilige Geburtsdatum der Patienten zu erkennen war. Um eine sachgemäße Lagerung der Blutproben während des Sammelprozesses zu gewährleisten, wurden die entnommenen Blutproben während des Sammelprozesses in den dafür vorgesehenen KIKS/AIQNET - Studienboxen auf Eis gelagert und nach 30 bis 60 Minuten weiterverarbeitet. Die Weiterverarbeitung der Blutproben fand nach Einhaltung der Zeitvorgabe im SWI der BGU Tübingen statt. Zunächst wurden die Proben zehn Minuten bei 4°C und 1000xg in der Zentrifuge zentrifugiert. Während dieser Laufzeit wurden die pro Patient zu verwendenden sieben Eppendorf-Tubes® mit jeweils einem Volumen von 5,0 ml mit Datum, Studien-ID, Bezeichnung „E“ für EDTA-Plasma, „D“ für Desoxyribonukleinsäure ((DNA),Vollblut) oder „S“ für Serum sowie mit dem Mitarbeiterkürzel beschriftet.

Nach der Zentrifugation wurden die spezifischen Blutbestandteile mithilfe einer Mikropipette abpipettiert. Dabei wurden, soweit möglich, jeweils 3x 450 µl Serum, 3x 450 µl EDTA-Plasma sowie 1x 450 µl DNA-Vollblut entnommen. Das DNA-Vollblut wurde aus der EDTA-Monovette gewonnen, nachdem zuvor das Serum abpipettiert und die Blutprobe in der Monovette erneut gemischt worden war.

Die Proben wurden im Anschluss in die dafür vorgesehenen KIKS/AIQNET - Lagerungsboxen einsortiert und im Gefrierschrank bei -80°C gelagert.

Die Dokumentation der Probenprozessierung erfolgte handschriftlich sowohl im Laborbuch als auch im Studienbuch sowie zusätzlich in einer digitalen Excel-Datenbank.

2.2.2.3 Erhebung der Daten und Erstellung der KIKS/AIQNET-Datenbank

Die Erstellung der KIKS/AIQNET - Datenbank erfolgte in Zusammenarbeit mit der Informationstechnik-Abteilung (IT) der BGU Tübingen. Die IT-Abteilung ermöglichte die Exportierung erforderlicher Patientendaten in eine Excel-Datei. Erst durch diese Maßnahme konnten die gewünschten Patientendaten zusammengeführt und pseudonymisiert werden.

Von großem Interesse war hierbei das Zusammenbringen verschiedenster Informationen aus Alter, Medikation, der genauen Diagnose, Unfallzeitpunkt und Operationszeitpunkt, postoperativen Komplikationen, Revisionseingriffe, Aufenthaltsdauer und die Auswertung der verschiedenen Fragenkomplexe.

2.2.2.4 Follow-Up

Nach Ablauf von drei Monaten wurde eine erneute Befragung im Rahmen eines *Follow-Ups* durchgeführt, entweder per Telefon oder per E-Mail. Dieses *Follow-Up* diente dazu, den teils sehr individuellen Heilungsverlauf jedes einzelnen Patienten sowie mögliche Komplikationen genauer erfassen und nachvollziehen zu können.

Im Rahmen des *Follow-Ups* wurden erneut verschiedene Fragebögen abgefragt, darunter der allgemeine Gesundheitsfragebogenkomplex „SF-12 (103)“, der Fragenkomplex „EQ-5D-5L (101)“ sowie der Fragebogen zu „Ernährungshindernissen“. Zusätzlich wurden weitere Informationen zu etwaigen Komplikationen, Lebensveränderungen und Gewichtsveränderungen innerhalb des dreimonatigen Zeitraums erfragt und protokolliert.

Die Dokumentation erfolgte sowohl im System „*Heartbeat Medical*“ (HRTBT Medical Solutions GmbH) als auch in der eigens für das Projekt KIKS/AIQNET geschaffenen Datenbank, in der die Komplikationen entsprechend der Komplikationseinteilung (siehe 2.2.3 Einteilung von Komplikationen) eingetragen wurden.

2.2.3 Einteilung von Komplikationen

Komplikationen nach chirurgischen Eingriffen werden üblicherweise durch die etablierte Klassifikationseinteilung postoperativer Komplikationen nach Clavien-Dindo definiert (104). Diese basiert auf der für die Behandlung einer Komplikation erforderlichen Therapie (104), nicht jedoch auf der Art der Komplikation selbst. Im Rahmen dieser Studie benötigten wir eine Klassifikationseinteilung, welche über die etablierte Clavien-Dindo-Einteilung hinausgeht, um die unterschiedlichsten Komplikationsarten nach unfallchirurgischen Eingriffen besser identifizieren zu können. Aus diesem Grund entwickelten wir als SWI-KIKS/AIQNET - Projektteam der BGU Tübingen ein eigenes postoperatives Klassifizierungssystem.

Die neue Einteilung ermöglicht somit eine genauere Differenzierung der Komplikationen. Diese werden hierbei in zehn Komplikationsgruppen unterteilt.

Die Gruppe null kennzeichnet Kontrollen, also „keine Komplikationen“.

Die Klasse eins zielt auf einen „Implantat-assoziierten Frühinfekt“ ab, während Klasse zwei einen „Implantat-assoziierten Spätinfekt“ beschreibt.

Die Klassen drei und vier beschreiben jeweils einen „nicht-Implantat-assoziierten Früh- bzw. Spätinfekt“. Die Klassen eins bis vier wurden übergeordnet dem Komplex „Infektionen/Komplikationen“ zugeschrieben.

Die Gruppe fünf beschreibt die „Eingriff-assoziiert auftretende Komplikation“ und sechs die „Diagnose-assoziierte Komplikation“. Beide Komplikationsgruppen wurden in der Auswertung ausgeschlossen.

Gruppe sieben fasst „internistische Komplikationen“ zusammen, während Gruppe acht „postoperative Komplikationen“ umfasst. Beide Komplikationsarten wurden in der übergeordneten Gruppe „andere Komplikationen“ einsortiert.

Die Gruppe neun umfasst alle „vorbestehenden Komplikationen“, während Gruppe zehn alle anderen Gründe für einen Ausschluss beschreibt. Auch die Gruppen neun und zehn wurden in den Auswertungen ausgeschlossen.

Die Gruppen fünf, sechs, neun und zehn wurden für die Untersuchungen ausgeschlossen, da alle vier Gruppen keinen Rückschluss auf die Entwicklung

MATERIAL UND METHODEN

postoperativer Komplikationen in Folge eines regelmäßigen Tabakkonsums ermöglichten.

Nachfolgend sind die Einteilungsklassen entsprechend tabellarisch dargestellt (Tabelle 10).

Tabelle 10: Komplikationsklassifikation (definiert durch das KIKS/AIQNET Projektteam des SWI)

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

2.2.4 Durchführung Zytokin-Array (Microarray)

Zytokin-/Microarrays ermöglichen grundsätzlich die Analyse einer Genexpression und stellen eine antikörperbasierte Analysemethode dar (82, 83). Bei dieser Form der Analyse können im Vergleich zur quantitativen ELISA-Analyse eines Antigens zeitgleich mehrere Proteine auf einer Membran detektiert werden (83). Ziel dieses Verfahrens ist es, mittels Microarrays, bedeutsame Zytokine oder Zytokingruppen und deren relative Expression zu identifizieren.

Für diese Arbeit wurden zwei Zytokin-/Microarrays der Firma RayBio® (Tabelle 11) ausgewählt: der „*Human Cytokine Antibody Array C5*“ sowie der „*Human Immun Checkpoint Array 1*“. Beide der ausgewählten Arrays weisen Zytokine auf, die eine zentrale Rolle bei der Regulation des Immunsystems, entzündlicher Prozesse oder der Frakturheilung spielen (86-95, 105-110). Insgesamt wurden bei der Verwendung dieser beiden Microarrays der Firma RayBio® 103 Zytokine (Tabelle 11) analysiert.

Tabelle 11: Auflistung der durchgeführten Microarrays (inklusive der Anzahl der jeweils detektierbaren Zytokine pro Membran)

Zytokinarray (RayBiotech®)	Funktion	Anzahl der Zytokine
Human Cytokine Antibody Array C5 (84)	enthält Zytokine, die für das funktionierende Immunsystem relevant sind (84, 111-118)	80
Human Immune Checkpoint Array 1 (85)	enthält zusätzlich Zytokine, die für das Immunsystem relevant sind (85, 113, 114, 116, 118-120)	23

Die Herstellung der Proben erfolgte, indem die Seren der jeweiligen Patientengruppe zu einem Serumpool zusammen gemischt wurden.

Anschließend wurden diese jeweils gruppenspezifische Serumpole homogen in einem Mikroreagenzglas vermischt, um Unregelmäßigkeiten in der Qualität der Serumpools zu vermeiden. Die Lagerung erfolgte danach bei -80°C im

MATERIAL UND METHODEN

Gefrierschrank. Vor dem Tag der Versuchsdurchführung wurden die Proben über Nacht bei + 4°C inkubiert.

Am Tag der Versuchsdurchführung wurden die entsprechenden Serumpooler dann als jeweilige Probe auf die entsprechende Membran aufgetragen. Hierbei ist eine gleichmäßige Verteilung der Lösungen wichtig, welche durch schonende Drehbewegungen während sämtlichen Inkubations- und Waschvorgängen sichergestellt wurde. Hierbei ist ein behutsamer Umgang zur Vorbeugung von Membranschäden wichtig, indem diese nur am Randbereich an den nicht bedruckten Bereichen mittels Pinzetten berührt wurden.

Die experimentelle Durchführung im Labor erfolgte nach einem präzise definierten Ablauf und streng nach Herstellerangaben (84, 85). Dabei war es von großer Bedeutung, darauf zu achten, beide Zytokinarrays unter identischen Bedingungen sorgfältig durchzuführen. Abbildung 4 veranschaulicht den Vorgang des Ablauf des Microarray-Prozesses der Firma RayBiotech® noch einmal bildlich (84, 85).

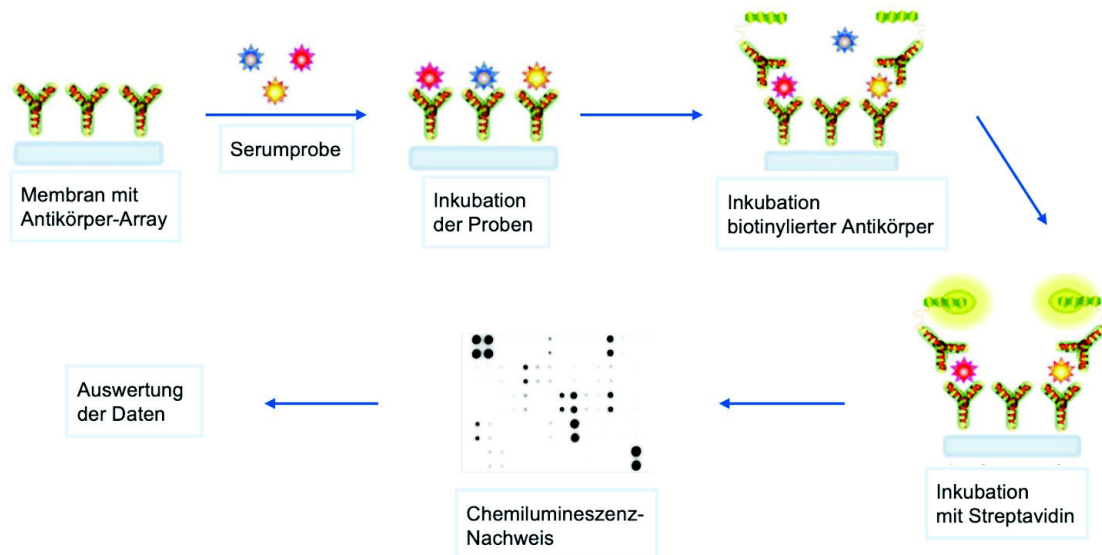


Abbildung 4: Mechanismus Zytokin-/Microarray der Firma RayBiotech® (84, 85) – Abbildung mit Grafiken der Firma RayBiotech® im Programm Microsoft Power-Point erstellt

Die Messungen der Chemilumineszenzsignale wurden mit einer ladungsgekoppelten Kamera (INTAS) aufgezeichnet und mit Hilfe der Software ImageJ quantifiziert. Jedes Zytokin wurde in Duplikaten gemessen und daher

MATERIAL UND METHODEN

zweifach auf die Membran aufgetragen. Zusätzlich enthielt jede Mikrotiterplatte mit 96-Vertiefungen jeweils sechs Positiv- (Standards) sowie zwei Negativkontrollen. Die Positivkontrollen sind Standards mit bekannten Konzentrationen, während die Negativkontrollen keine Konzentration aufweisen. Beide Kontrollarten dienen der Methodvalidierung. Die Positivkontrollen zeigen, dass der Versuch funktioniert.

Die Signalintensitäten wurden auf die sechs Positivkontrollen (Standards) normalisiert. Zum Ausgleich von Unterschieden in der Signalintensität zwischen den verschiedenen Zielproteinen, wurde eine *z-Score*-Normalisierung durchgeführt (siehe 2.2.7 statistische Auswertung).

2.2.5 Zwischenfazit

Um Zytokine mit einer auffälligen Hoch- oder Herunterregulation noch einmal genauer analysieren zu können, wurde sich für eine weitere Betrachtung dieser mittels des ELISA-Verfahrens entschieden. Aus der Array-Analyse wurden Zytokine ausgewählt, die einen Expressionsunterschied von mehr als 10% zwischen den Gruppen aufwiesen. Zu den ausgewählten Zytokinen gehörten unter anderem CD80 (B7-1), CD28 und für CXCL9 (MIG). Diese Zytokine wurden aufgrund ihrer Assoziation mit entzündlichen Prozessen, der Frakturheilung und dem Rauchen für die weitere Analyse mittels ELISA ausgewählt (63, 92, 106, 108, 121-131).

2.2.6 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Um die Konzentration der Zytokine im Patientenblut quantitativ analysieren und die Microarray-Ergebnisse dieser verifizieren zu können, wurden für alle drei Zytokine, welche anhand der Zytokinarray-Auswertung als relevant identifiziert werden konnten, mittels sogenannten Sandwich-ELISAs quantifiziert.

Alle drei ausgewählten Zytokine können sowohl mit entzündungsbedingten Geschehen, als auch mit dem Rauchen in Verbindung gebracht werden (63, 106, 127, 130, 132).

Eingesetzt wurden hierbei die ELISA der Firma R&D Systems® (*Human B7-1/CD80 DuoSet ELISA* und *Human CD28 DuoSet ELISA*) sowie der Firma PeproTech® (*Human MIG/CXCL9 Standard ABTS ELISA Development Kit*).

Das Verfahren der ELISA ermöglicht die Identifizierung eines gesuchten Antigens (Protein) anhand eines Enzym-gebundenen Antikörpers (133). Hierbei werden sogenannte „*Capture Antibodies* (Fänger-Antikörper)“ bereits an der Testplatte (*Microplate*) gebunden (133).

In diesem Verfahren werden zwei spezifische Antikörper verwendet, um das Antigen in einem „Sandwich“-Ansatz zu erfassen (133). Der Fänger Antikörper wird auf eine 96-Vertiefungen große Mikrotiterplatte aufgetragen, auf die die Patientenprobe aufgetragen wird (133). Das Protein, welches von Interesse ist, bindet den Fänger-Antikörper und fixiert diesen so auf der Platte. Daraufhin wird ein Detektions-Antikörper, der an einer anderen Stelle auf dem Zielprotein bindet, beigefügt. Nach Zugabe der Substratlösung kommt es hierbei zu einer Veränderung der Farbe (Signal) (133). Dieser Farbumschlag steht im proportionalen Zusammenhang zur Menge des gesuchten Antigens in der Ausgangsprobe (133). Sandwich-ELISA stellen eine höchst spezifische und sehr empfindliche Nachweismethode dar, da hierbei zur Bindung an das Zielmolekül (Protein) zwei verschiedene Antikörper erforderlich sind (133).

Nachfolgend ist der Ablauf eines Sandwich-ELISA in Form einer Abbildung nochmal veranschaulicht (Abbildung 5).

MATERIAL UND METHODEN

Die experimentelle Laborarbeit wurde während des gesamten Prozesses sorgfältig und streng nach Herstellerangaben durchgeführt.

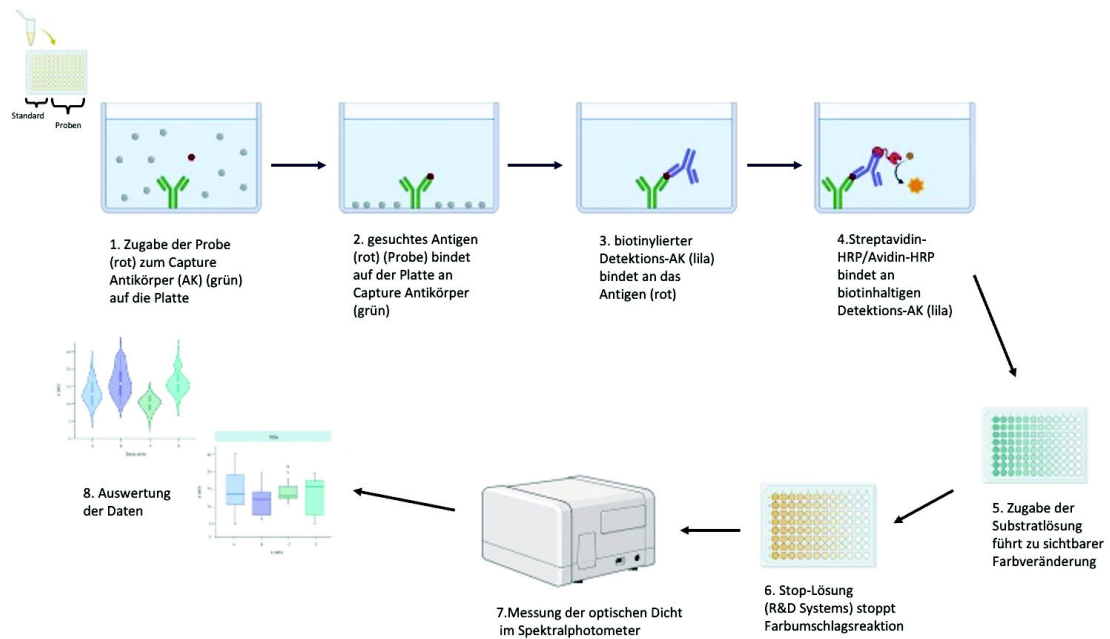


Abbildung 5: Bildliche Darstellung der Durchführung eines Sandwich-ELISA (erzeugt mit BioRender.com)

Gemessen wurde die optische Dichte im Spektralphotometer „FluoStar Omega“ der Firma BMG LABTECH GmbH entweder nach 40 Minuten bei 450 nm (R&D Systems®) oder nach 90 Minuten bei 650 nm (PeproTech®).

2.2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse dieser Arbeit erfolgte mithilfe verschiedener Programme. Zu diesen zählten Microsoft Excel (Fa. Microsoft, Redmond, Washington (USA); Version 16.78.3), das Programm JMP 16 (Fa. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina (USA); Version 16.2.0 (570548)) sowie das Programm GraphPad Prism (Fa. GraphPad Softwares Inc. El Camino Real - Kalifornien (USA); Version 8.0.1.244).

Messwerte unterliegen grundsätzlich einer gewissen Verteilung, die entweder normal oder nicht normal verteilt sein können. Abhängig von der Verteilung der Messwerte sind unterschiedliche Hypothesentests anzuwenden, entweder parametrische (für normalverteilte Werte) oder nichtparametrische (für nicht normalverteilte Werte) Tests.

Zur Untersuchung der Verteilung der Messwerte in unserem Patientenkollektiv wurden sowohl *Violin-Plots* als auch Verteilungshistogramme erstellt.

Die *Violin-Plots* des Patientenkollektivs, bestehend aus 897 Patienten, deuteten visuell auf eine Normalverteilung der Werte hin. Aus diesem Grund wurden für die Vergleiche, die die gesamte Patientenkohorte betrafen, parametrische Tests wie ANOVA- oder t-Tests angewandt.

Jedoch zeigten die Verteilungshistogramme bei Vergleichen zwischen kleineren Gruppen innerhalb der Patientenpopulation keine Normalverteilung mehr. In diesen Fällen kamen nicht-parametrische Tests wie der Mann-Whitney-U-Test/Wilcoxon-Mann-Whitney-Test oder der Kruskal-Wallis-Test zum Einsatz.

Um Signifikanzen feststellen zu können, wurden p-Werte definiert. Diese p-Werte repräsentieren das Signifikanzniveau, welches auf $p \leq 0,05$ festgelegt wurde (Tabelle 11). P-Werte $> 0,05$ gelten als nicht signifikant (ns). Das Signifikanzniveau unterteilt sich in signifikant (p-Wert 0,01 - 0,05), sehr signifikant (p-Wert 0,001 - 0,01), höchst signifikant (p-Wert 0,0001 - 0,001) und extrem signifikant (p-Wert $< 0,0001$). Dargestellt werden die verschiedenen Signifikanzniveaus mittels eines oder mehrerer Sternchen (*).

MATERIAL UND METHODEN

Die detaillierte Auflistung der Signifikanzniveaus findet sich in der nachstehenden Tabelle 12.

Tabelle 12: Darstellung der Signifikanzen mit Graph Pad Prism

p – Wert (p)	Bedeutung	Bezeichnung
≥ 0,05	Nicht signifikant	ns
0,01 – 0,05	Signifikant	*
0,001 – 0,01	Sehr signifikant	**
0,0001 – 0,001	Höchst signifikant	***
≤ 0,0001	Extrem signifikant	****

Für die visuelle Darstellung der Ergebnisse wurden mithilfe des Programms GraphPad Prism graphische Boxplot-Diagramme und Balkendiagramme (Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwerts (SEM)) präsentiert. Die *Heatmap* (*z-Score*) wurde unter Verwendung der Webseite www.software.broadinstitute.org/morpheus/ erstellt.

Für die *Heatmaps* wurden die Signalintensitäten der Zytokin-Arrays mit Hilfe des *z-Scores* nach folgender Gleichung berechnet: $x' = \frac{(x-\mu)}{\sigma}$ und normiert.

x' beschreibt dabei den *z-Score*, x den Datenpunktwert, μ den Mittelwert des Datensatzes und σ die Standardabweichung des Datensatzes (Rohdaten). Der *z-Score* ist ein statisches Maß, das angibt, wie weit ein bestimmter Datenpunkt vom Durchschnitt in Bezug auf die Standardabweichung entfernt ist. Die verschiedenen Darstellungen ermöglichen einen guten Überblick über die Verteilung der Messwerte.

Zur besseren Übersichtlichkeit wurde bei Vorliegen einer Nicht-Signifikanz (ns) darauf verzichtet, diese in den entsprechenden Boxplot-Diagrammen zu präsentieren. Dargestellt wurden nur die statistischen Signifikanzen.

Die Anzahl N entspricht allen erfassten Messwerten, da keine *Column analysis* (Graph Pad Prism ROUT 0,1%) zur Identifizierung von Ausreißern (*Outliern*)

MATERIAL UND METHODEN

durchgeführt wurde. Die Anzahl der Patienten ist deutlich in den Beschreibungen zu den Abbildungen mit N jeweils angegeben.

Alle Serumanalysen wurden in Duplikaten durchgeführt ($n = 2$).

Der Vergleich der Daten erfolgte zum einen durch eine einseitige ANOVA sowie durch den Tukey's post-hoc Test (mehrere Gruppen im Vergleich miteinander) und/oder zum anderen durch dem Student's t-Test.

Im Rahmen einer biometrischen Beratung am Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen wurden sämtliche Messwerte und angewandte Tests mit Dr. med. Blumenstock (M.A., MPH), dem stellvertretenden Leiter des Instituts, besprochen und angepasst.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenrekrutierung und Studienkohorte

Alle Ergebnisse und Analysen wurden nach Rücksprache mit Dr. med. Leyla Tümen (Co-Mentorin der Doktorarbeit) erstellt und ausgewertet und beziehen sich auf die daraus entstandene Veröffentlichung.

3.1.1 Patientenkollektiv

In dem Zeitraum von Juli 2020 bis Oktober 2022 wurden insgesamt 1144 Patienten für diese Studie rekrutiert, darunter 558 Frauen und 586 Männer. Die Auswahl erfolgte unter Patienten, die die festgelegten Einschlusskriterien erfüllten und sich aufgrund eines Traumas oder einer geplanten elektiven Operation in stationärer Behandlung in der BGU Tübingen befanden.

Aus dieser Patientenkohorte schlossen wir 247 Patienten aufgrund fehlender Blutproben sowie vorbestehender, diagnose- oder interventionsbezogener Komplikationen aus. Nach Ausschluss konnten demnach 897 Patienten, davon 437 Männer und 460 Frauen, in die Studie aufgenommen werden. Die Patientenkohorte konnte wie folgt in die nachfolgenden Abteilungen der BGU Tübingen untergliedert werden:

- 361 Patienten aus der Endoprothetik
- 348 Patienten aus der Trauma- und Wirbelsäulen Chirurgie
- 110 Patienten aus der Alterstraumatologie
- 78 Patienten aus der septischen-/Infektionschirurgie

Grundlage dieser Arbeit bildet das Rauchverhalten der Patienten, wobei die Anzahl der gerauchten Packungsjahre der einzelnen Probanden von entscheidender Bedeutung war. Basierend darauf wurden die Patienten in vier unterschiedliche Gruppen kategorisiert. Diese gliedern sich in:

- Nichtraucher – 0 PY
- Ehemalige Raucher (Ex-Raucher = ≥ 1 Jahr rauchfrei)
- Aktive Raucher
 - Moderate Raucher – < 15 PY
 - Starke Raucher – ≥ 15 PY

ERGEBNISSE

Da bekannt ist, dass sich der Organismus nach Rauchabstinenz regeneriert, wurde zum einen zwischen aktiven Rauchern, Nicht- und Ex-Rauchern, als auch nach Intensität des Rauchverhaltens unterteilt (134-136).

Die genaue Einteilung der Gruppen sowie die Verteilung des gesamten Patientenkollektivs sind in Abbildung 6 nochmal detailliert aufgeführt.

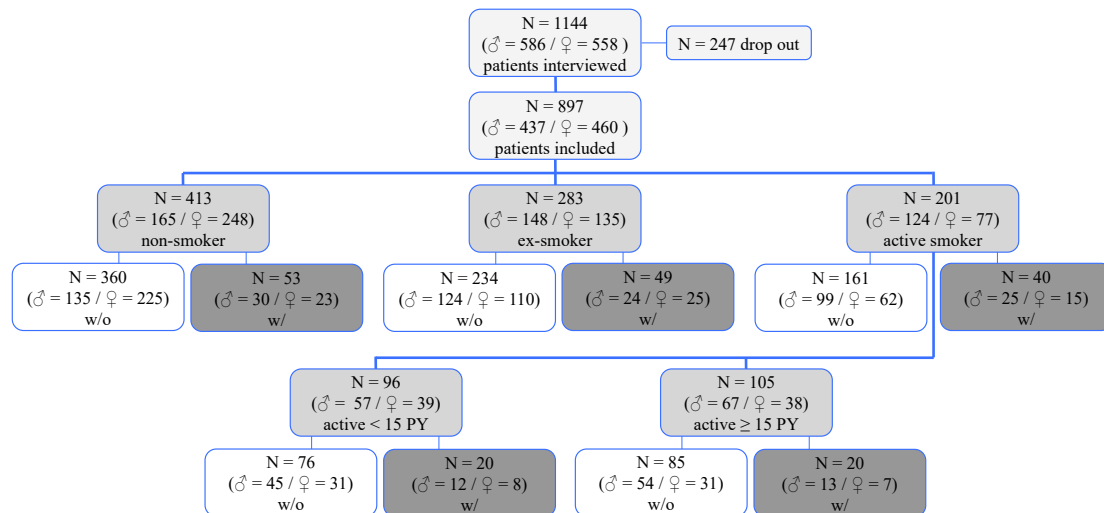


Abbildung 6: CONSORT-Flussdiagramm zur Übersicht über die Patientenkohorte, Tümen et al. 2024 (137)

Die vier definierten Gruppen wurden in Bezug auf das Vorhandensein oder Fehlen von postoperativen Komplikationen (*engl. w/ with oder w/o without*) noch einmal unterteilt.

Der Gruppe der Nichtraucher wurden insgesamt 413 Patienten zugeordnet, von denen 53 Patienten im postoperativen Verlauf eine Komplikation entwickelten. Die Gruppe der Ex-Raucher umfasst insgesamt 283 Patienten, bei etwa 49 Patienten davon traten nach der Operation Komplikationen auf. Die Kohorte der aktivrauchenden Patienten umfasst insgesamt 201 Personen, die aufgrund ihres Rauchverhaltens im Sinne von Packungsjahren (PY) klassifiziert wurden. Dabei wurde eine Abgrenzung von 15 PY festgelegt. Infolgedessen ergaben sich insgesamt 96 Patienten für die Gruppe mit weniger als 15 PY (moderate Raucher < 15 PY), von denen etwa 20,83 % im Verlauf

ERGEBNISSE

nach der Operation Komplikationen entwickelten – dies entspricht 20 Patienten aus dieser Gruppe.

Für die Kohorte der aktiv rauchenden Patienten mit 15 PY oder mehr (aktive Raucher \geq 15 PY) konnten 105 Patienten dieser Gruppe zugeordnet werden. Unter diesen erlitten ebenfalls 20 Patienten postoperative Komplikationen, was einem Anteil von 19,05 % entspricht.

Für eine präzise Datenanalyse sind Kontrollgruppen von entscheidender Bedeutung. Jede der Gruppen (Nichtraucher, Ex-Raucher, Aktiv-Raucher \geq 15 PY und $<$ 15 PY) verfügt über eine entsprechende Kontrollgruppe ohne Komplikation (w/o). In diesen Kontrollgruppen wurden Patienten aufgenommen, die die Kriterien bezüglich ihres Rauchverhaltens sowie der verschiedenen Packungsjahre erfüllten und zugleich keine postoperativen Komplikationen aufwiesen. So ergaben sich für die vier Gruppen folgende Patientenzahlen:

- Nichtraucher – 360 Patienten
- Ex-Raucher – 234 Patienten
- Aktiv-Raucher – insgesamt 161 Patienten, davon
 - < 15 PY – 76 Patienten
 - \geq 15 PY – 85 Patienten

ERGEBNISSE

3.2 Analyse der Ergebnisse

In unserem gesamten Patientenkollektiv untersuchten wir die Einflüsse des Rauchens auf die klinische Entwicklung.

3.2.1 Komplikationsrate

Die Komplikationsrate nach muskuloskelettalen Eingriffen wurde zwischen den Gruppen Nichtrauchern, ehemaligen Rauchern und aktiven Rauchern verglichen. Die Ergebnisse sind graphisch in den folgenden Abbildungen dargestellt (Abbildung 7 und Abbildung 8). Die Analyse zeigt eine signifikante Verteilung der Komplikationsrate innerhalb der verschiedenen Gruppen. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Form von Balkendiagrammen veranschaulicht.

Wie bereits in Abschnitt 3.1.1 beschrieben, wurden die verschiedenen Gruppen (Nichtraucher, Ex-Raucher und aktive Raucher) nach postoperativen Komplikationen differenziert, wobei diejenigen ohne Komplikationen in Weiß (w/o) und diejenigen mit Komplikationen (w/) in Grau dargestellt sind.

Abbildung 7 – Graph A zeigt die Komplikationsrate innerhalb der Studienpopulation, während Graph B die Geschlechterverteilung der Studienkohorte veranschaulicht. Die Komplikationsrate (Graph A) ebenso wie die Geschlechterverteilung (Graph B) sind in Prozent (%) angegeben, und die Anzahl der Patienten wird jeweils in beiden Diagrammen mit N angegeben.

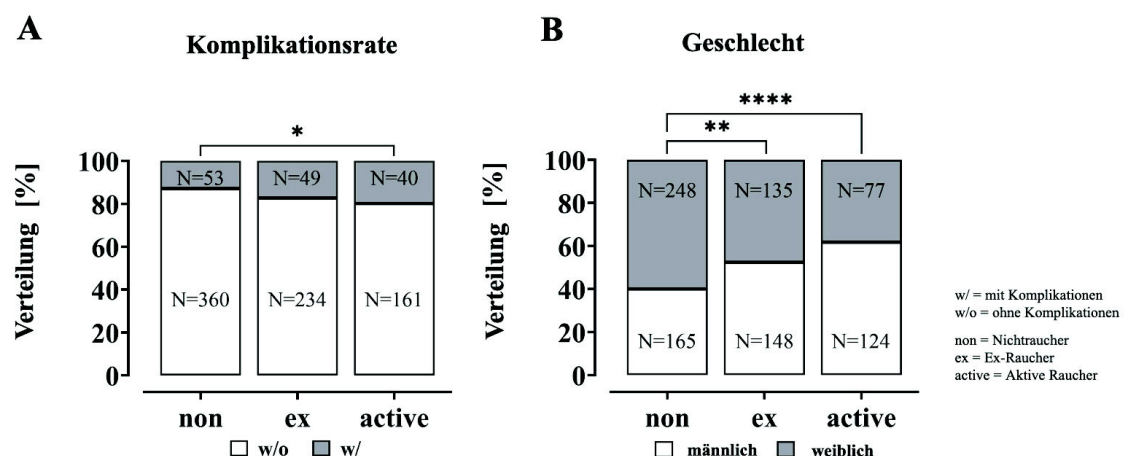


Abbildung 7: Balkendiagramm zur Komplikationsrate innerhalb der verschiedenen Gruppen sowie zur geschlechterspezifischen Verteilung innerhalb des Studienkollektivs, Tümen et al. 2024 (137)

ERGEBNISSE

Insgesamt zeigt Abbildung 7 – Graph A, dass unabhängig vom Rauchverhalten der Großteil der Studienkohorte keine Komplikationen (grau dargestellt) aufweisen.

Insgesamt traten im Patientenkollektiv bei 142 Patienten aus allen Gruppen innerhalb von drei Monaten nach dem Eingriff Komplikationen wie Infektionen, Wundheilungsstörungen, Thrombosen, erforderliche Revisionseingriffe oder Ähnliches auf.

Bei der Analyse der Komplikationsrate innerhalb der Gruppen (Abbildung 7 – Graph A) konnte mittels des statistischen Chi-Quadrat-Tests eine signifikant höhere Komplikationsrate bei aktiven Rauchern im Vergleich zur Nichtrauchergruppe nachgewiesen werden (p - Wert = 0,0219). Die Komplikationsrate der aktiven Raucher betrug dabei 19,90 %, wohingegen die Nichtraucher eine Komplikationsrate von 12,38 % aufwiesen. Im Vergleich zur Gruppe der ehemaligen Raucher (Ex-Raucher) war die Komplikationsrate für diese Gruppe jedoch mit 17,31 % verglichen zu den Nichtrauchern nicht signifikant erhöht.

Darüber hinaus war es von besonderem Interesse zu untersuchen, ob es möglicherweise geschlechterspezifische Besonderheiten innerhalb unserer Gruppen bzw. innerhalb unseres Studienkollektivs gibt, da Studien zeigen, dass es geschlechterspezifische Unterschiede im Suchtverhalten gibt (138, 139). In Abbildung 7 – Graph B wurden dementsprechend diese Unterschiede analysiert, wobei signifikante Unterschiede mit Hilfe des statistischen Chi-Quadrat-Tests festgestellt werden konnten. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass Rauchen in unserem Studienkollektiv bei männlichen Patienten häufiger auftrat als bei weiblichen Patienten, wobei 61,70 % der männlichen aktiven Raucher im Vergleich zu 39,95 % männlichen Nichtrauchern (p - Wert = $< 0,0001$) sowie 52,30 % männliche Ex-Raucher (p - Wert = 0,0013; Signifikanz wurde mit zwei Sternen dargestellt) standen.

Des Weiteren wurde die Frage aufgeworfen, ob es möglicherweise abteilungsspezifische Unterschiede geben könnte. Daher wurde auch dieser Aspekt näher untersucht und in Abbildung 8 grafisch in Form eines

ERGEBNISSE

Balkendiagramms dargestellt. Die Abteilungsverteilung innerhalb der Gruppen wird in Prozent (%) und die Anzahl an Patienten mit N angegeben. Eine Unterscheidung der Abteilungsbereiche erfolgte durch eine unterschiedliche Farbkodierung, indem für die septische Abteilung ein Dunkelgrau, für die Traumatologie ein Mittelgrau und für die Endoprothetik ein Hellgrau verwendet wurde.

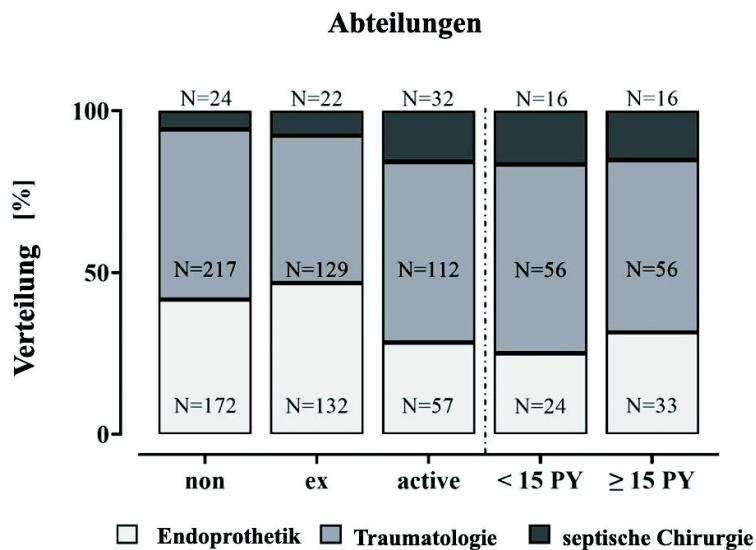


Abbildung 8: Balkendiagramm zur abteilungsspezifischen Verteilung innerhalb des Studienkollektivs basierend auf dem Rauchverhalten, Tümen et al. (137)

In unserer Studienpopulation konnte festgestellt werden, dass Raucher eine geringere Rate an geplanten endoprothetischen Eingriffen aufwiesen verglichen zu Ex-Raucher oder Nichtraucher. Darüber hinaus zeigten Raucher eine höhere Inzidenz an traumatischen und insbesondere an septischen Ereignissen. Auch bei genauerer Differenzierung in der Gruppe der aktiven Raucher nach PY (< 15 PY und \geq 15 PY) zeigt sich insbesondere bei starken Rauchern (\geq 15 PY) einen höheren Anteil an traumatischen und endoprothetischen Eingriffen verglichen zu den moderaten Rauchern (< 15 PY).

ERGEBNISSE

3.2.2 Krankenhausaufenthaltsdauer

Die Rauchgewohnheiten der Patienten spielen eine wichtige Rolle und können im Verlauf des Lebens je nach Häufigkeit und Dauer des Konsums unterschiedliche Auswirkungen haben.

Unsere Datenanalyse ergab, dass innerhalb des drei-monatigen Beobachtungszeitraums nach erfolgtem chirurgischem Eingriff insgesamt 142 Patienten in allen Gruppen Komplikationen entwickelten. Diese Komplikationen variierten in ihrer Art und umfassten beispielsweise Infektionen, Wundheilungsstörungen, erforderliche Revisionseingriffe, Thrombose und Weitere.

Zur Untersuchung der Aufenthaltsdauer der Patienten, welche in Tagen angegeben wird, wurden Boxplot-Diagramme erstellt (Abbildung 9). Es erfolgte ebenfalls eine farbliche Zuordnung für die jeweiligen Gruppen. Die Daten wurden als Mittelwert \pm Standardfehler (*englisch* „Standard error of the mean“, kurz SEM) zusammengefasst und die Signifikanzen durch die Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) bestimmt, wobei ein p-Wert von weniger als 0,05 als statistisch signifikant betrachtet wurde.

In Abbildung 9 wurden die jeweiligen Gruppen mit der Differenzierung mit und ohne Komplikationen zusammen analysiert (*w/ and w/o Komplikationen*). Durch die farbliche Trennung der Komplikations- und Kontrollgruppen können diese unterschieden werden. Die Farbe Dunkelgrau markiert in allen Gruppen jeweils die Komplikationsgruppe (*w/ Komplikationen*), die Farbe Weiß zeigt hingegen den Anteil der Kontrollen in den Gruppen an (*w/o Komplikationen*).

Für die Analyse wurden für N = 413 Nichtraucher, N = 283 Ex-Raucher und N = 201 aktive Raucher unterschieden. Eine erneute Unterteilung fand in der Gruppe der aktiven Raucher statt, indem sie in moderate (N = 96) und starke Raucher (N = 105) eingeteilt wurden.

ERGEBNISSE

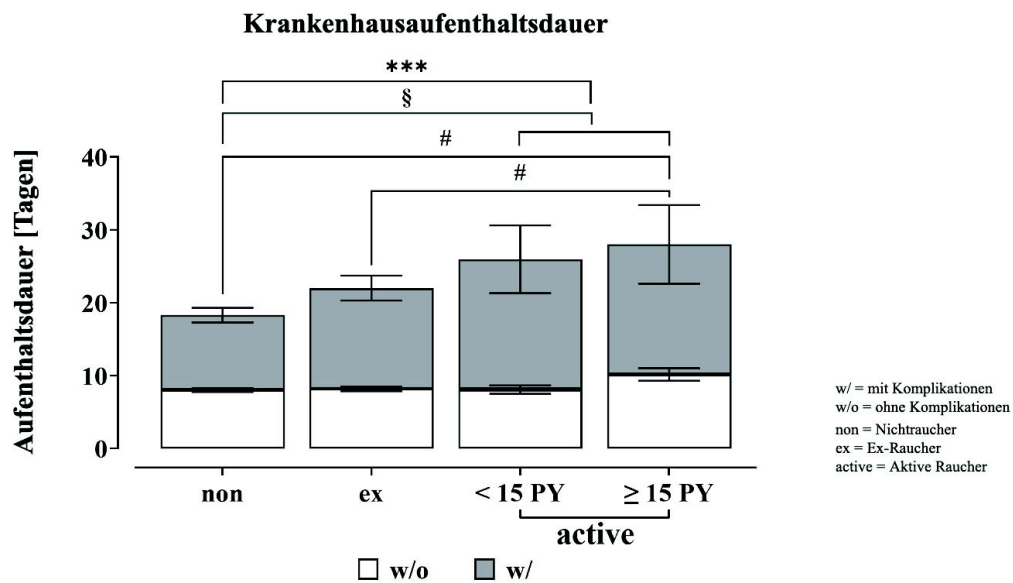


Abbildung 9: Krankenhausaufenthaltsdauer der Studienpopulation basierend auf dem Rauchverhalten #, § $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, Tümen et al. 2014 (137)

Grundsätzlich zeigte sich, dass bei insgesamt 142 Patienten aus allen Patientengruppen innerhalb von drei Monaten postoperative Komplikationen in Form von Infektionen, Wundheilungsstörungen, erforderliche Revisionsoperationen, Thrombosen oder ähnliches Geschehen auftraten (Abbildung 7).

Patienten, die postoperative Komplikationen aufwiesen, unabhängig von der Gruppeneinteilung, hatten erwartungsgemäß insgesamt eine signifikant (p -Wert $< 0,0001$) längere Krankenhausaufenthaltsdauer im Vergleich zu Patienten ohne Komplikationen. Patienten mit Komplikationen lagen im Mittel 13,5 Tagen (Standardabweichung 14,2), die ohne Komplikationen hatten eine Verweildauer im Mittel von 8,6 Tagen (Standardabweichung 5,8).

Für eine bessere Übersichtlichkeit wurden für die Signifikanzen innerhalb der verschiedenen Gruppen einmalig unterschiedliche Symbole verwendet. Das Symbol „*“ gibt die Signifikanz der gesamten Gruppe der aktiven Raucher an (ohne Unterteilung in moderaten und starken Rauchern sowie ohne Unterscheidung zwischen Komplikationen und Kontrollgruppen). Das Symbol „#“ beschreibt die Signifikanz der Gruppenpopulation ohne Komplikationen, wohingegen das Symbol „§“ die Signifikanz der Gruppenpopulation mit

ERGEBNISSE

Komplikationen beschreibt.

Bei genauerer Betrachtung der Krankenhausaufenthaltsdauer zeigt sich, dass aktive Raucher (gesamte Gruppe = mit und ohne Komplikationen zusammen) mit 10,9 Tagen \pm 0,8 Tage einen signifikant längeren Aufenthalt im Krankenhaus aufweisen als beispielsweise Nichtraucher (p – Wert = 0,0004). Nichtraucher verweilen im Vergleich nur 8,3 Tagen \pm 0,3 Tage im Krankenhaus.

Angesichts der Möglichkeit, dass der längere Krankenhausaufenthalt der aktiven Raucher auf die höhere Komplikationsrate zurückzuführen sein könnte, wurden die Krankenhausaufenthalte der verschiedenen Gruppen mit und ohne Komplikationen noch einmal differenziert voneinander untersucht.

Auch bei der Differenzierung innerhalb der Gruppen zwischen Komplikations- und Kontrollgruppe zeigt sich, dass aktive Raucher mit Komplikationen einen signifikant längeren Krankenhausaufenthalt aufweisen als Nichtraucher mit Komplikationen ($\S p < 0,05$).

Betrachtet man nun die Dauer des Krankenhausaufenthaltes in den jeweiligen Gruppen ohne Komplikationen noch einmal genauer und unterteilt die Gruppe der aktiven Raucher in ihre Untergruppen (< 15 PY und ≥ 15 PY) so zeigen vor allem starke Raucher mit ≥ 15 PY einen signifikant längeren Krankenhausaufenthalt mit 10,2 Tagen \pm 0,9 Tage (p –Wert = 0,0167). Dieser ist auch im Vergleich zu ehemaligen Rauchern mit 8,2 Tagen \pm 0,3 Tage (p –Wert = 0,0499) signifikant erhöht.

Generell zeigt sich in der vorliegenden Kohorte, dass verlängerte Krankenhausaufenthalte mit Nikotinabusus in Verbindung stehen. Die Analyse der Krankenhausaufenthaltsdauer innerhalb der verschiedenen Gruppen beziehungsweise ihrer Untergruppen zeigte ein entsprechend signifikantes Muster.

3.2.3 Systemischer Immunitätsindex (SII)

In der Literatur existieren bereits wissenschaftliche Beschreibungen über die allgemeinen immunsuppressiven Auswirkungen von Nikotin auf das Immunsystem des menschlichen Organismus (31, 140).

Um genauere Einblicke in mögliche Mechanismen der Immunsuppression bei Rauchern zu gewinnen, wurde der systemische Immunitätsindex (SII) berechnet und zur genaueren Analyse herangezogen. Berechnet wurde dieser anhand folgender Formel (140-142) : $SII = P \times \frac{N}{L}$.

Hierbei kennzeichnet P die Thrombozytenzahl, N die Anzahl der neutrophilen Granulozyten und L die Gesamtzahl der Lymphozyten (140-142).

Berechnet wurde der SII für die bereits zuvor beschriebenen Gruppen: Nichtraucher (0 PY), Ex-Raucher und aktive Raucher, welche nochmal unterteilt wurden in Raucher mit mäßigem Rauchverhalten (< 15 PY) und aktive Raucher mit starkem Rauchverhalten (≥ 15 PY).

Abbildung 10 veranschaulicht in einem Boxplot-Diagramm (Box und Whiskers-Tukey) die Korrelation des Rauchverhaltens (Rauchdauer) der Patientengruppen und dem SII. Die Signifikanzen wurde durch Anwendung der statistischen Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) bestimmt, da die Daten in diesem Fall einer Normalverteilung folgten. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert von weniger als 0,05 betrachtet.

ERGEBNISSE

A Systemischer Immunitzündungsindex

B Systemischer Immunitzündungsindex

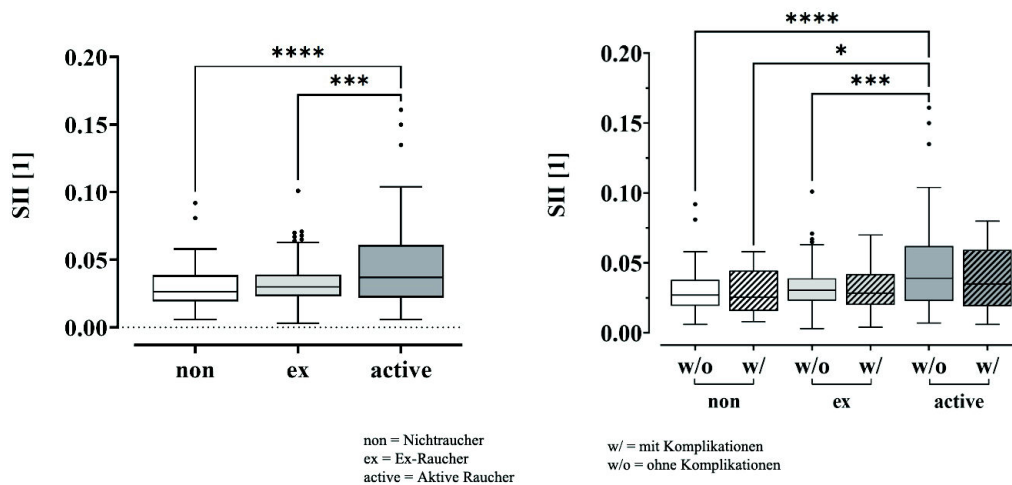


Abbildung 10: Korrelation zwischen dem Rauchverhalten (Rauchdauer) der Patientengruppen und dem systemischen Immunitzündungsindex (SII), * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Tümen et al.(137)

Abbildung 10 – Graph A zeigt, dass der SII bei aktiven Rauchern im Vergleich zur Gruppe der Nichtraucher (0 PY) signifikant erhöht ist (p -Wert = $< 0,0001$). Auch der Vergleich zwischen der Gruppe der aktiven Raucher mit der Gruppe der ehemaligen Raucher (Ex-Raucher) zeigt einen signifikant erhöhten SII (p -Wert $< 0,0001$).

Um eine genauere Analyse der Gruppen zu ermöglichen, unterteilten wir die bekannten Gruppen, wie Abbildung 10 – Graph B zeigt. Unterschieden wurde innerhalb der Gruppen zwischen dem Vorliegen einer Komplikation (w/ Komplikationen) und der jeweiligen Kontrollgruppe (w/o Komplikationen).

Abbildung 10 – Graph B zeigt, dass die höchsten SII-Werte bei aktiven Rauchern ohne Vorliegen eines postoperativen Ereignisses (w/o Komplikationen) beobachtet werden konnten. Im Vergleich der Nichtraucher mit der Gruppe der aktiven Raucher liegt der SII hier ebenfalls deutlich signifikant erhöht vor (p -Wert $< 0,0001$). Auch im Vergleich der aktiven Raucher mit der Gruppe der ehemaligen Raucher ist eine Signifikanz im SII festzustellen (p -Wert $< 0,0001$). Die höchsten Werte konnten bei aktiven Rauchern ohne Komplikationen beobachtet werden, die im Vergleich zu allen anderen Gruppen mit Ausnahme der aktiven Raucher mit Komplikationen signifikant höher lagen. Vergleicht man

ERGEBNISSE

die SII-Werte innerhalb der jeweiligen Gruppen mit Komplikationen, so kann insgesamt ein leichter Rückgang des SII in den Gruppen mit Komplikationen beobachtet werden. Hierfür konnten jedoch keine Signifikanzen festgestellt werden.

3.2.4 Auswertung der Fragebögen

Für die Beurteilung der Ausgangsfragestellung innerhalb unserer Studienpopulation ist es entscheidend, bestimmte Kriterien aus der Patientenbefragung wie beispielsweise den BMI, FINDRISK sowie den AUDIT-C zu berücksichtigen. Diese Kriterien können zusätzlich zum Rauchen weiteren Einfluss auf die Zytokinexpression ausüben. Daher ist die Analyse dieser Faktoren neben der Blutanalyse unerlässlich. Sie gewährleistet den Ausschluss potenzieller Störfaktoren anhand der Bildung homogener Gruppen und ermöglicht so die Vergleichbarkeit der Patienten.

In Abbildung 11 sind die Auswertungen dieser Kriterien mittels Boxplot-Diagramme (Box und Whiskers-Tukey zur Visualisierung von Ausreißern) innerhalb der einzelnen Gruppen dargestellt.

Die Grafiken beziehen sich alle auf das Rauchverhalten der Patienten. Abbildung 11 – Graph A zeigt das Alter der Patienten in Jahren, Graph B den BMI in kg/m^2 , Graph C das Diabetesrisiko im FINDRISK-Punktwert (*Score*) und Graph D das Alkoholtrinkverhalten im AUDIT-C-Punktwert (*Score*).

Die Signifikanz wurde jeweils mit Hilfe des Student's t-Tests ermittelt.

Die verschiedenen Gruppen (Nichtraucher, Ex-Raucher, moderate Raucher und starke Raucher) sind in den verschiedenen Boxplot-Diagrammen durch unterschiedliche Graustufen gekennzeichnet.

In allen vier Graphen wurden die Gruppen jeweils komplikationsunabhängig betrachtet (*w/ and w/o Komplikationen*).

ERGEBNISSE

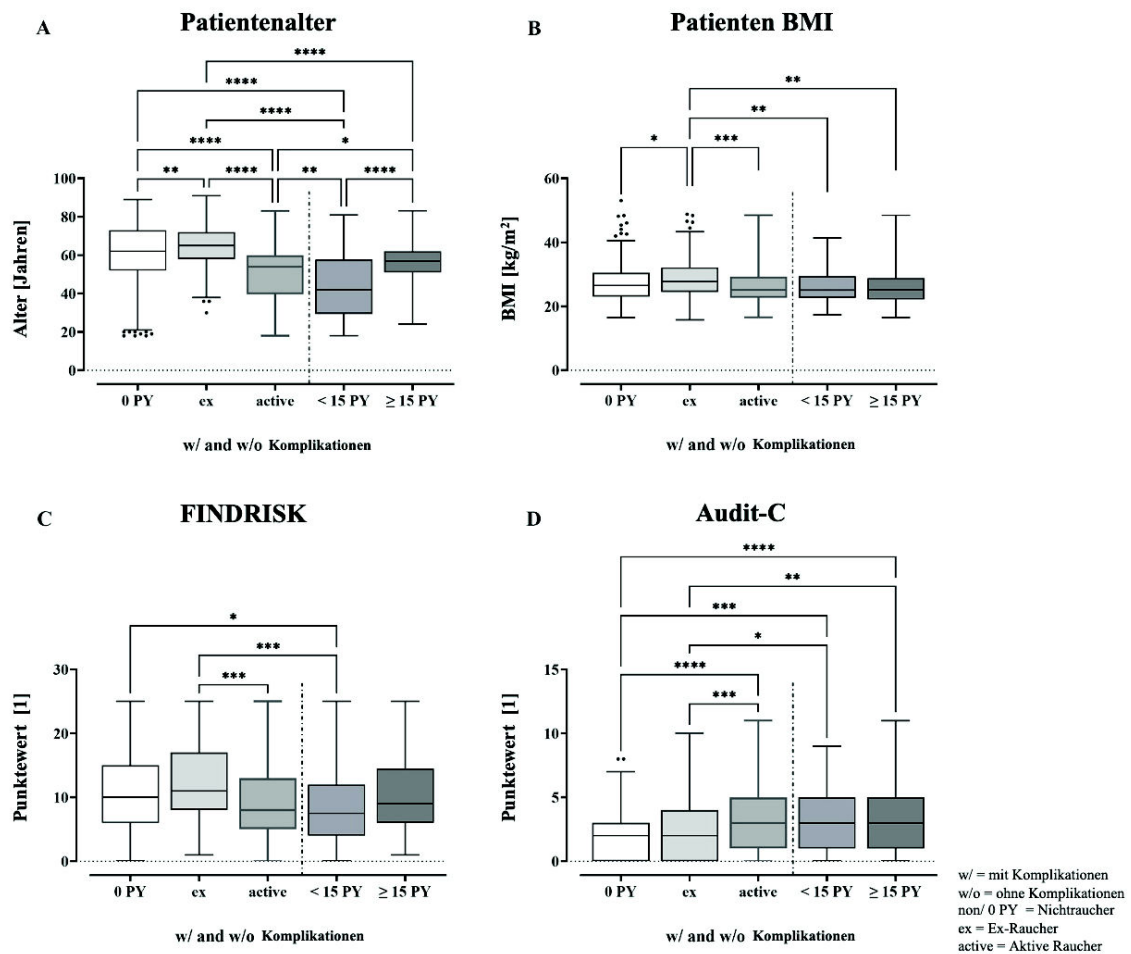


Abbildung 11: Boxplot-Diagramme zur Darstellung der Ergebnisse der Auswertung des Patientenalters, BMI, FINDRISK und AUDIT-C auf Grundlage des Rauchverhaltens innerhalb der Studienpopulation für die C1- und C5-Array-Messungen

Graph A – Abbildung 11 zeigt in Bezug auf das Alter der Patienten multiple Signifikanzen, welche vielfach sogar mit einem p-Wert von unter 0,0001 zwischen den Gruppen Nichtrauchern, Ex-Rauchern und aktiven Rauchern ermittelt wurden.

So konnte festgestellt werden, dass das Alter der Ex-Raucher und derjenigen Patienten, die noch nie in ihrem Leben zuvor geraucht haben (Nichtraucher), im Vergleich zu den aktiven Rauchern signifikant höher war (p-Wert < 0,0001). Unterteilt man die aktiven Raucher erneut nach ihrem Rauchverhalten in starke Raucher mit mehr als 15 PY (≥ 15 PY) und in moderate Raucher mit weniger als 15 PY, so ergaben sich zwischen diesen beiden Gruppen ebenfalls eine Signifikanz mit einem p-Wert von unter 0,0001.

ERGEBNISSE

Graph B – Abbildung 11 zeigt den BMI unserer Patientenpopulation ebenfalls in einem Boxplot-Diagramm. Eine Signifikanz zeigte sich zwischen der Gruppe der aktiven Raucher und den Ex-Rauchern (p -Wert $< 0,001$). Der BMI der Ex-Raucher lag demnach signifikant über dem der aktiven Raucher (p -Wert $< 0,001$). Der BMI der Ex-Raucher lag ebenfalls im Vergleich zu den Nichtrauchern signifikant höher (p -Wert $< 0,05$). Unterteilt man die Gruppe der aktiven Raucher erneut in starke und moderate Raucher, so zeigten sich signifikante Unterschiede im Vergleich der beiden Gruppen zur Gruppe der Ex-Raucher (p -Werte $< 0,01$) mit der Schlussfolgerung, dass aktive Raucher in unserem Patientenkollektiv einen geringeren BMI aufweisen als ehemalige Raucher (Ex-Raucher).

Bei der Analyse des Diabetesrisikos, dargestellt durch den FINDRISK-Punktwert (Graph C – Abbildung 11) konnten Signifikanzen zwischen der Gruppe der ehemaligen Raucher und der Gruppe der aktiven Raucher ermittelt werden (p -Werte $< 0,001$). Der FINDRISK-Punktwert lag bei den aktiven Rauchern signifikant unter dem der ehemaligen Raucher (p -Wert $< 0,001$).

Die Auswertung des Trinkverhaltens der Patienten anhand des AUDIT-C in Graph D – Abbildung 11 zeigte ebenfalls multiple Signifikanzen zwischen den verschiedenen Gruppen.

3.2.5 Zytokinarrays/Microarrays

Um einen Einblick in die Regulationsmechanismen zu erhalten, wurden für unsere Studienkohorte insgesamt zwei Arrays der Firma RayBiotech® ausgewählt und analysiert. Hierbei handelt es sich um den Array „*Human Immune Checkpoint C1*“ (85) sowie den Array „*Human Cytokine Array C5*“ (84).

Die in den nachfolgenden Abbildungen präsentierten Zytokinexpressionen sind durch verschiedene Farben markiert. Überrepräsentierte Zytokine sind in den *Heatmaps* in Rot dargestellt, während unterrepräsentierte Zytokine in Blau erscheinen. Unterteilt wurde erneut in die zuvor beschriebenen Gruppen Nichtraucher (0 PY), Ex-Raucher, moderate Raucher (< 15 PY) sowie starke Raucher (\geq 15 PY). Die Gruppen sind jeweils einmal mit (w/) und jeweils einmal ohne Komplikationen (w/o) dargestellt. Die Studie umfasst insgesamt 32 Nichtraucher pro Gruppe (mit und ohne Komplikation), 25 Ex-Raucher, 14 moderate Raucher und 12 starke Raucher. Zusätzlich zur Analyse des Rauchverhaltens wurden auch der Body-Mass-Index (BMI), das Diabetesrisiko (FINDRISK) sowie das Alkoholtrinkverhalten (AUDIT-C) berücksichtigt, um sicherzustellen, dass die Untersuchung zum Rauchen valide ist und eine übermäßige Varianz im Patientenkollektiv dadurch vermieden wird, da diese Faktoren ebenfalls Einfluss auf den Zytokinspiegel haben können.

Deshalb wurde ein Probenmatching für die Zytokinarrays durchgeführt, um so jeweils homogene Gruppen von 32 nichtrauchenden Patienten (0 PY), 25 ehemaligen Rauchern, 14 moderaten Rauchern (< 15 PY) und 14 starken Rauchern (\geq 15 PY) zu erhalten. Dies erfolgte, um zusätzliche Einflussfaktoren (wie BMI, AUDIT-C und FINDRISK) auf die Zytokine neben dem Rauchen auszuschließen, da das Ziel darin bestand, lediglich den Einfluss des Rauchens als Faktor zu untersuchen.

In Abbildung 12 ist die Auswertung der beiden ausgewählten Zytokin-Arrays C5 und IC 1 der Firma RayBiotech® dargestellt. Insgesamt ermöglichen diese zusammen die Messung von 103 Zytokinen (*Targets*).

ERGEBNISSE

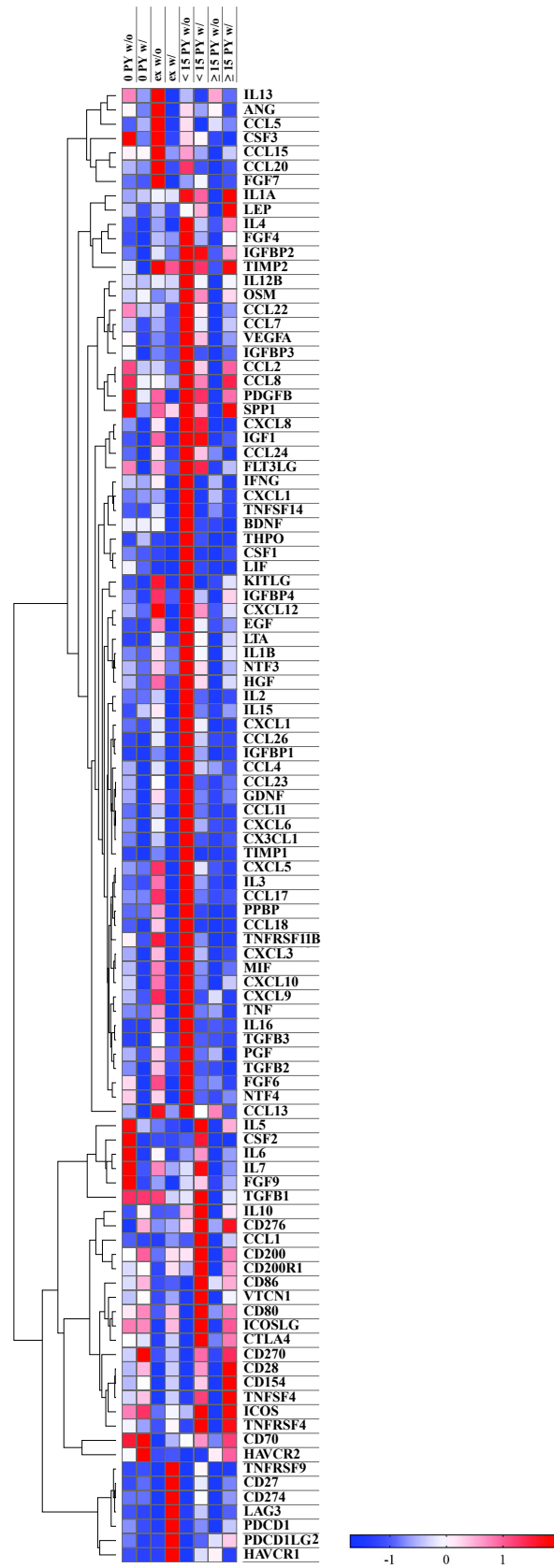


Abbildung 12: Einfluss des Rauchens auf zirkulierende Faktoren im Blut für die Zytokin-Arrays „Human Zytokin-Array C5“ und „Human Immunecheckpoint Array C1“ der Firma RayBiotech®

ERGEBNISSE

Die Auswertung der Zytokin-Arrays (Abbildung 12) zeigt, dass sich die relativen Blutserumspiegel von Zytokinen bei Ex-Rauchern und aktiven Rauchern auf unterschiedlichste Weise verändern.

Insbesondere wiesen drei Zytokine, CXCL9 (MIG), CD28 sowie CD80 (B7-1), auffällige Regulationsmuster im Zusammenhang mit dem Rauchverhalten unseres Patientenpools auf (Abbildung 13).

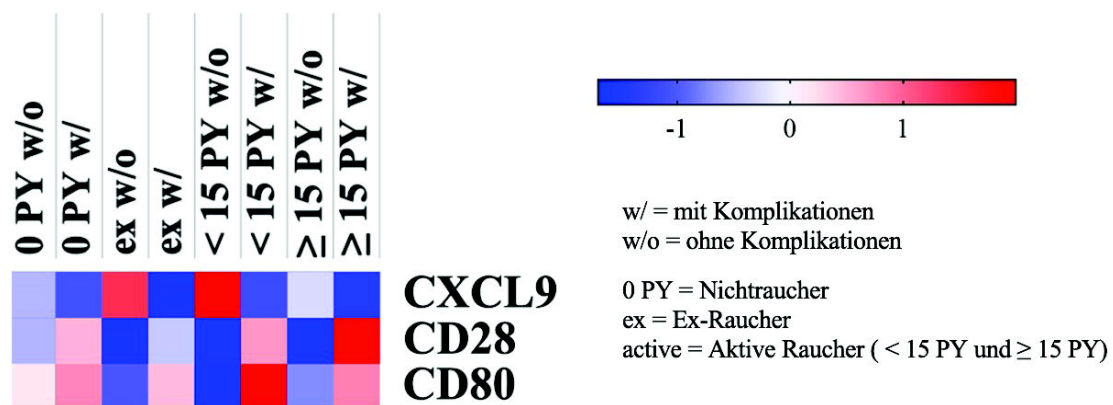


Abbildung 13: Auswahl der geeigneten Zytokine zur Quantifizierung mittels ELISA anhand der Auswertung der Arrays Human Cytokine Array C5 sowie des Human Immune Checkpoint Array C1 der Firma RayBiotech®

Die Blutserumspiegel von T-Zell-Aktivierungs- und Regulationsmarker, insbesondere bei CD28 und CD80 waren sowohl bei Ex-Rauchern als auch bei aktiven Rauchern ohne Komplikationen niedriger (Abbildung 13). Mit dem Auftreten von Komplikationen stiegen die Spiegel, insbesondere bei aktiven Rauchern, an (Abbildung 13).

Für CD28 konnten jeweils herunter regulierte (niedrigere) Blutserumspiegel für die jeweiligen Gruppe ohne Komplikationen (w/o) der ehemaligen Raucher (Ex-Raucher) sowie für die der aktiven Raucher beobachtet werden. Beim Vorliegen von Komplikationen stiegen die CD28-Blutserumspiegel insbesondere bei starken Rauchern mit mehr als 15 PY an (sichtbare Hochregulation erkennbar).

Das Zytokin CD80 (B7-1) zeigte ebenfalls deutlich entgegengesetzte Regulationen des Blutserumspiegels innerhalb der verschiedenen Gruppen jeweils mit und ohne Komplikationen. So waren in Abwesenheit von

ERGEBNISSE

Komplikationen die Blutserumspiegel von CD80 bei Rauchern und ehemaligen Rauchern verringert. Sie stiegen jedoch beim Vorliegen einer Komplikation an, folglich fand eine Hochregulation des Zytokins statt.

Die Blutserumspiegel von CXCL9 waren grundsätzlich in den jeweiligen Gruppen mit Komplikationen (w/) immer erniedrigt. Die Spiegel waren bei ehemaligen und moderaten Rauchern jedoch etwas erhöht im Vergleich zu den anderen Gruppen. Dieser Effekt konnte bei starken Rauchern jedoch nicht beobachtet werden.

Aufgrund dieser Auffälligkeit sowie ihrer Assoziation mit entzündlichen Prozessen, der Frakturheilung und dem Rauchen wurden diese Zytokine für die weitere Analyse mittels ELISA ausgewählt.

ERGEBNISSE

3.2.6 ELISA

Zur Quantifizierung der Array-Ergebnisse wurden die zuvor identifizierten sowie bei Rauchern auffälligen Zytokine, CXCL-9, CD28 und CD80 ausgewählt und mittels ELISA gezielt untersucht. Alle drei ausgewählten Zytokine können mit dem Rauchen in Zusammenhang gebracht werden (63, 106, 127, 130, 132). Alle ELISA wurden in Duplikaten durchgeführt. Die Signifikanz wurde für die drei ausgewählten Zytokine jeweils durch die Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) bestimmt.

Zur Durchführung der passenden ELISA wurden insgesamt 267 Patienten ausgewählt und wie folgt zugeordnet: Nichtraucher (w/o: N = 43, w/: N = 31), Ex-Raucher (w/o: N = 66, w/: N = 24), moderate Raucher (w/o: N = 35, w/: N = 14) und starke Raucher (w/o: N = 42, w/: N = 12).

Die Fehlerbalken in den Boxplot-Diagrammen markieren den Median \pm 95 % Konfidenzintervall.

3.2.7 CXCL9 (MIG)

CXCL9, auch als MIG („*Monokine Induced by Interferon*“) bekannt, zählt zu den Zytokinen in der großen Gruppe der Chemokine (63, 143-145). Chemokine sind sekretorische Proteine von geringer Molekülgröße, die für eine gezielte Zellmigration verantwortlich sind (63). Sie aktivieren die zelluläre Immunaktivität und sind somit an der Regulation des Immunsystems beteiligt (145).

MIG wird durch Gamma-Interferon (IFN- γ) aktiviert und übernimmt eine Schlüsselrolle in der Immunregulation (63, 143-146). CXCL9 wird hauptsächlich von Monozyten, Endothelzellen, Fibroblasten und Krebszellen als Reaktion auf IFN- γ sezerniert (145). MIG spielt eine entscheidende Rolle bei der Chemotaxis von T-Lymphozyten was zu deren Proliferation führt und die Zytokinproduktion fördert (122).

Ihm wird vor allem eine bedeutende Funktion in der effektiven Immunantwort zugeschrieben, darunter die Regulation von Entzündungsprozessen, die Involvierung in Autoimmunerkrankungen, die Beteiligung an der Immunabwehr

ERGEBNISSE

sowie die Steuerung der Immunantwort (63, 121, 144). Ihre Zielzellen umfassen vor allem Immunzellen, darunter T-Zellen und natürliche Killerzellen ebenso wie dendritische Zellen, Makrophagen und viele weitere (143, 145). MIG ist außerdem an der gerichteten Migration, Adhäsion und Aktivierung von Makrophagen sowie B-Zellen beteiligt, die den MIG-Rezeptor CXCR3 exprimieren (147). Die aufgeführten Eigenschaften von MIG verdeutlichen seine wesentliche Rolle in der Pathogenese verschiedener Erkrankungen (63).

Abbildung 14 veranschaulicht mit Hilfe von Boxplot-Diagrammen den Einfluss des Rauchens auf den Serumspiegel des Zytokins CXCL9. Zwei verschiedene Graphen werden dabei präsentiert. Graph A zeigt die Serumspiegel von CXCL9 in den einzelnen Gruppen (Nichtraucher, Ex-Raucher, moderaten Raucher und starken Raucher), ohne dabei die spezifische Unterscheidung zwischen Komplikationen und nicht Komplikationen zu berücksichtigen. In Graph B wurde hingegen innerhalb jeder Einzelgruppe zusätzlich zwischen den Kontrollgruppen (keine Komplikationen, w/o) und den Gruppen mit Komplikationen (w/) differenziert.

Die Boxplots in Graph A wurden in unterschiedlichen Graustufen dargestellt, während in Graph B die dazu jeweils passenden Komplikationsgruppen zusätzlich mit schraffierten Boxplots präsentiert werden.

Angegeben wird der Serumspiegel von CXCL9 mit der Einheit pg/ml.

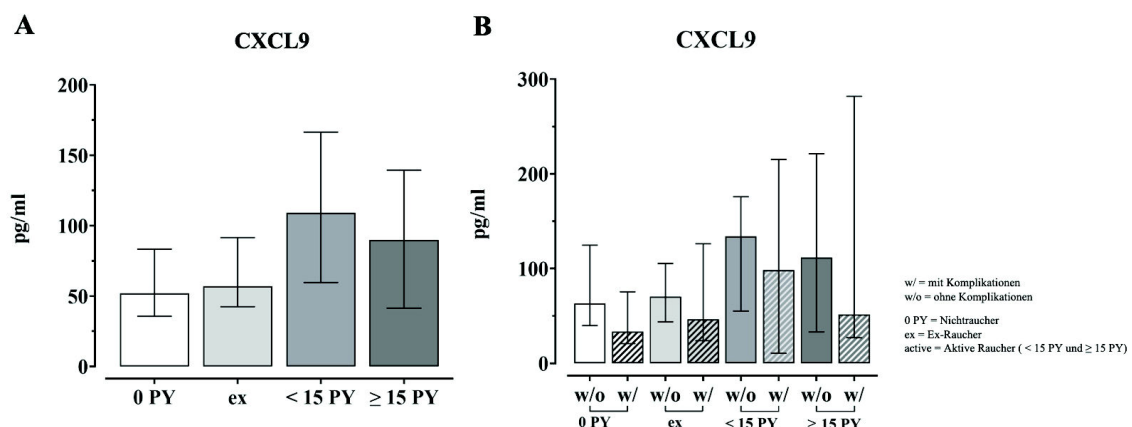


Abbildung 14: Auswirkung des Rauchens auf die Serumwerte des Zytokins MIG/CXCL9

ERGEBNISSE

Bei genauerer Betrachtung von Graph A (Abbildung 14) zeigt sich, dass mit einer steigenden Anzahl an Packungsjahren eine Zunahme des CXCL9 Serumspiegels einherzugehen scheint, welcher selbst nach Rauchentwöhnung nicht auf das Niveau der Nichtraucher zurückfindet. Die Konzentration bleibt im Vergleich zur Gruppe der Nichtraucher trotz Verzicht des Tabakrauchens leicht erhöht.

Dennoch zeigte die Auswertung, dass die Serumwerte von CXCL9 bei Rauchern mit einer Raucheranamnese von mehr als 15 PY leicht rückläufig waren.

Um möglicherweise präzisere Ergebnisse zu erzielen, wurden die Gruppen in Graph B (Abbildung 14) jeweils separat sowohl für die Komplikations- als auch für die Kontrollgruppe erneut analysiert. Hier zeigte sich, dass die CXCL9-Werte in der Kontrollgruppe der ehemaligen Raucher sowie der moderaten Raucher höher waren. Beim Auftreten von Komplikationen zeigten sich in der entsprechenden Gruppe hingegen geringere CXCL9-Konzentrationen. Beim Vergleich der Komplikationsgruppen unseres Patientenpools in Graph B konnte festgestellt werden, dass die CXCL9-Werte im Allgemeinen bei den ehemaligen Rauchern sowie bei den moderaten Rauchern anstiegen. Bei starken Rauchern mit über 15 PY hingegen sind diese Werte im Vergleich zu den moderaten Rauchern geringer.

In Folge der Analyse der Graphen A und B (Abbildung 14) stellte sich zusätzlich die Frage, ob es geschlechterspezifische Unterschiede bei diesem Zytokin (CXCL9) gibt. Daher erfolgte in Abbildung 15 – Graph C eine erneute Analyse dieser Fragestellung, jedoch ohne einzelne Differenzierung der jeweiligen Kontroll- oder Komplikationsgruppen.

ERGEBNISSE

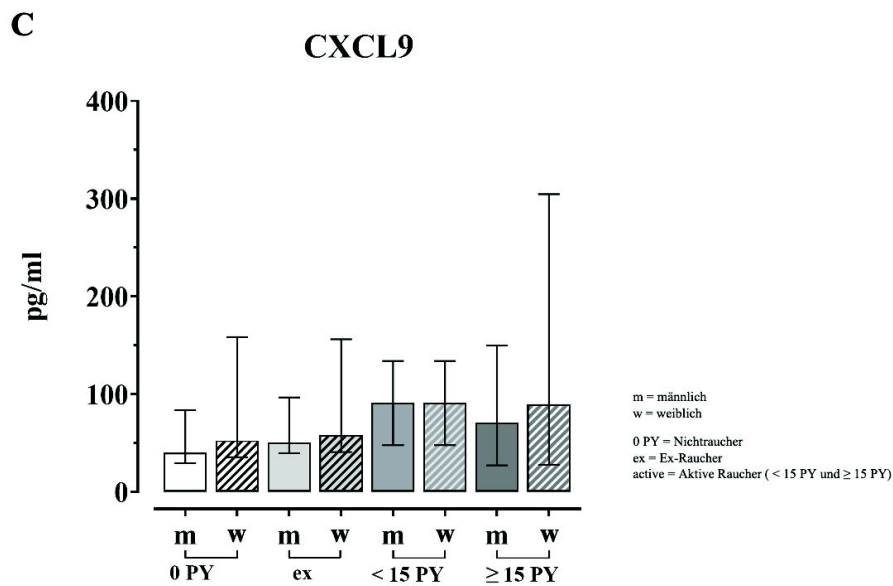


Abbildung 15: Auswirkung des Rauchens auf die geschlechterspezifischen Serumwerte von CXCL9

Anhand der geschlechterspezifischen Auswertung in Abbildung 15 – Graph C, lässt sich der Trend eines leicht erhöhten CXCL9-Serumspiegels bei Frauen im Vergleich zu Männern innerhalb ihrer Gruppen erkennen, welcher jedoch keine statistische Signifikanz aufweist.

Insgesamt konnten in unserer Auswertung über die Auswirkung des Rauchens auf die Serumwerte von CXCL9 (Abbildung 14 und Abbildung 15) keine statistischen Signifikanzen für unser Patientenkollektiv ermittelt werden.

ERGEBNISSE

3.2.8 B7-1/CD80

CD80, auch als B7-1 bezeichnet, ist ein Zytokin, welches als Oberflächenmarker und Co-Stimulationsmolekül auf der Oberfläche von antigen-präsentierenden Zellen (APCs) als Antigenpräsentationsmarker exprimiert wird (95). Zu den APCs gehören vor allem Makrophagen, B-Lymphozyten und dendritische Zellen.

B7-1/CD80 interagiert neben CD28 auch mit dem zytotoxischen T-Lymphozyten-Antigen-4, das auch als CTLA-4 bekannt ist (105). B7-1/CD80 wird auf aktivierten T-Zellen als Oberflächenmerkmal präsentiert (95). Die Bindung an CD28 stimuliert die T-Zell-Proliferation und damit die Produktion von Zytokinen, während die Bindung an CTLA-4 die entgegengesetzte Wirkung hat und damit die Aktivierung von T-Zellen hemmt (95, 107, 123, 148, 149). Die Affinität von CD80 zu CTLA-4 ist dabei deutlich höher als die Bindungsaffinität zu CD28 (150, 151).

B7-1/CD80 spielt somit eine entscheidende Rolle in der Immunregulation, indem es die Abwehr von Krankheitserregern durch Aktivierung des angeborenen und des adaptiven Immunsystems fördert (107, 129).

Des Weiteren ist CD80, ebenso wie CD28, CTLA-4 und viele weitere Zytokine, ein entscheidender Faktor der Pathogenese der Sepsis (126).

Abbildung 16 veranschaulicht den Einfluss des Rauchens auf den Serumspiegel des Zytokins CD80 (B7-1). Die Gruppen sind durch verschiedene Graustufen gekennzeichnet und wurden bereits zuvor beschrieben (vgl. 3.2 Analyse der Ergebnisse/Einteilung). Die Komplikationen innerhalb der Gruppen sind durch Schraffierung hervorgehoben. Graph A (Abbildung 16) präsentiert die Serumspiegel der jeweiligen Gruppen, unabhängig davon, ob Komplikationen vorliegen oder nicht. Die Differenzierung zwischen dem Vorliegen bzw. Fehlen von Komplikationen und dem Vorliegen keiner Komplikation der jeweiligen Gruppen ist in Graph B (Abbildung 16) dargestellt.

ERGEBNISSE

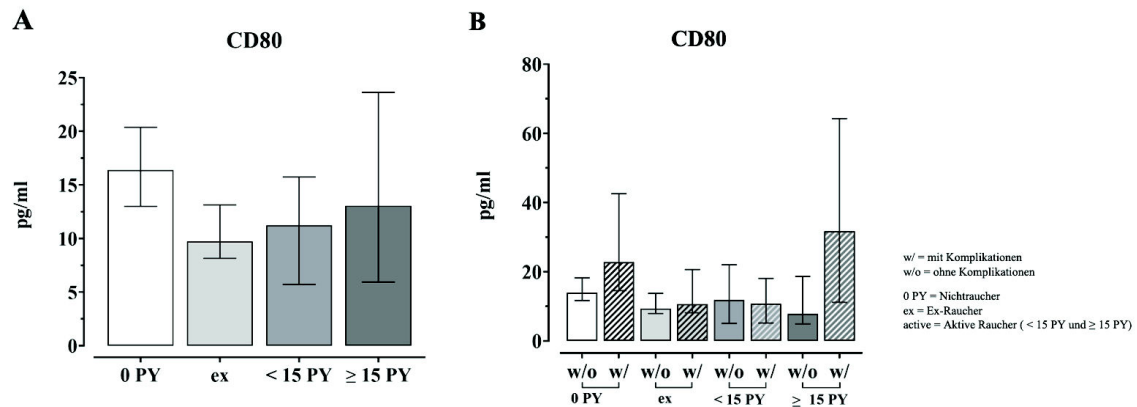


Abbildung 16: ELISA-Auswertung des Einflusses des Rauchens auf den Serumspiegel des Zytokins CD80 (B7-1)

Die in Graph A dargestellten ELISA-Ergebnisse des Zytokins CD80 zeigen im Mittel eine niedrigere Konzentration an CD80 bei ehemaligen und aktiven Rauchern (Abbildung 16 – A).

Bei der Differenzierung der Gruppen durch Berücksichtigung der Komplikations- und Kontrollgruppen fällt eine leicht höhere, jedoch nicht signifikante Erhöhung der Serumwerte von CD80 in den Komplikationsgruppen bei Nichtrauchern, ehemaligen Rauchern und starken Rauchern auf. Gegenteiliges konnte bei moderaten Rauchern mit weniger als 15 PY beobachtet werden (Abbildung 16 – Graph B).

Ohne Vorliegen einer Komplikation wiesen starke Raucher einen reduzierten CD80-Serumspiegel auf. Kam es jedoch zu einer Komplikation, konnten hingegen deutlich höhere CD80-Werte festgestellt werden.

ERGEBNISSE

3.2.9 CD28

CD28 ist ein Zytokin, das eine entscheidende Rolle bei der Regulierung von Immunreaktionen übernimmt (149). Es unterstützt die Aktivierung und Differenzierung von Effektor-T-Zellen und beeinflusst gleichzeitig die Entwicklung und Funktion von regulatorischen T-Zellen (131). CD28 wird an der Zelloberfläche antigenpräsentierender T-Zellen exprimiert, und wird den Transmembranproteinen der Immunglobulin-Superfamilie zugeordnet (152). Es verfügt über eine extrazelluläre Domäne, die Liganden monovalent bindet und interagiert Bindung an das Zytokin CD80 (125, 152).

Die Abbildung 17 visualisiert die Auswertung der ELISA-Ergebnisse für das Zytokin CD28. Graph A zeigt die Serumspiegel-Konzentrationen von CD28 komplikationsunabhängig im Gruppenvergleich. In Graph B wurden die Gruppen komplikationsabhängig differenziert analysiert.

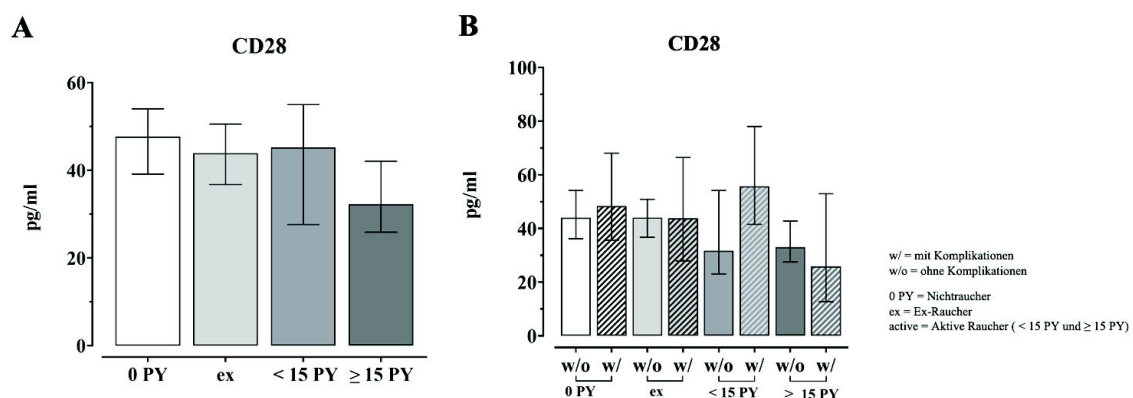


Abbildung 17: ELISA-Auswertung des Einflusses des Rauchens auf den Serumspiegel des Zytokins CD28

Graph A (Abbildung 17) zeigt, dass der CD28-Serumspiegel in unserem Patientenpool im Allgemeinen bei rauchenden Patienten im Vergleich zur Gruppe der Nichtraucher erniedrigt ist. Auch bei der differenzierten Betrachtung der einzelnen Gruppen (Kontroll- und Komplikationsgruppen – Graph B) zeigen sich für die Gruppe der starken Raucher für die Komplikationsgruppe erniedrigte CD28-Serumwerte. Für Nichtraucher sowie für mäßige Raucher waren die CD28-Werte, wenn Komplikationen auftraten erhöht, wohingegen sich in ihren jeweiligen Kontrollgruppen die CD28-Werte erniedrigt darstellten.

3.2.9.1 ROC-Analyse für das Zytokin CXCL9

Aufgrund der Ergebnisse der Auswertung des Zytokins CXCL9 wurde eine ROC-Analyse (*Receiver Operating Characteristics*) zur Komplikationsvorhersagekraft dieses Markers durchgeführt. Eine ROC-Analyse ermöglicht, Auskunft über die Zuverlässigkeit der Aussagekraft des untersuchten Zytokins zu geben. In einer zugehörigen ROC-Kurve werden die Sensitivität an der y-Achse (Ordinate) und die Spezifität an der x-Achse (Abzisse) gegeneinander aufgetragen.

Die Sensitivität beschreibt dabei, wie viele der untersuchten Proben korrekt als krank identifiziert wurden. Die Spezifität hingegen zeigt, wie viele Proben korrekt als gesund identifiziert wurden. Sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität werden dabei in der Einheit Prozent (%) angegeben.

Die Abbildung 18 zeigt die ROC-Kurve für das Zytokin CXCL9.

Die rote Linie in der Mitte des Graphen ist die Referenzlinie. In dicker schwarzer Linie ist die ausgewertete ROC-Kurve für das Zytokin CXCL9 dargestellt. Die Fläche, welche sich unterhalb der Kurve zeigt, wird „*Area under the curve*“ (AUC) bezeichnet. Diese ist ein Maß für den Vorhersagewert des entsprechenden Tests. Bei einem AUC-Wert von 1 läge ein maximal prädiktiver Aussagewert für das Zytokin vor.

ERGEBNISSE

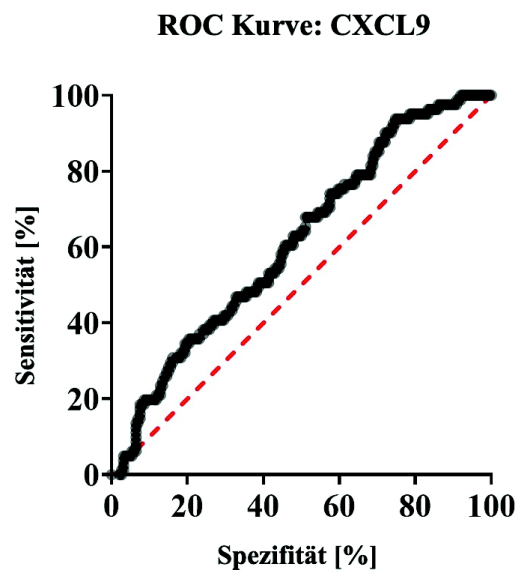


Abbildung 18: ROC-Kurve für den Marker CXCL9

Die ROC-Kurve in Abbildung 18 stellt sich in unmittelbarer Nähe zur Referenzlinie dar, weshalb die Aussagekraft des Markers CXCL9 als eher geringer einzustufen ist, da sich keine deutliche Abtrennung zwischen den richtig positiven und den richtig negativen Werten zeigt.

Die ROC-Analyse (Tabelle 13) zeigte für das Zytokin CXCL9 einen AUC-Wert von 0,6134 mit einem p-Wert von 0,0032. Mit Hilfe der Berechnung des Youden-Index wurde der Grenzwert auf 19,10 pg/ml festgelegt, was bedeutet, dass der Cut-off-Wert bei > 19,10 pg/ml lag.

In der nachstehenden Tabelle 13 sind sämtliche Werte der ROC-Analyse für das Zytokin CXCL9 nochmal aufgeführt.

Tabelle 13: ROC-Analyse für das Zytokin CXCL9

Marker	AUC (95% CI)	Youden- Index	Cut-off	Sensitivität (%)	Spezifizität (%)	p - Wert
CXCL9	0,6134 (0,5425 – 0,6843)	19,10	> 19,10 pg/ml	93,83	25,27	0,0032

4 Diskussion

Im Folgenden werden die gewonnenen Erkenntnisse zu diesem Thema im Kontext des aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstandes diskutiert. Zahlreiche Studien haben bisher gezeigt, dass Rauchen unter anderem zu einer erhöhten Morbidität, einer vermehrten Anzahl an Wundkomplikationen und damit einhergehend zu gesteigerten Behandlungskosten führt (1, 4-8, 10-13, 19, 21, 24, 25, 28, 30-32, 34, 59, 153-158). Darüber hinaus hat es negative Auswirkungen auf den Gesamtorganismus, die bis hin zu einer erhöhten Mortalität reichen (1, 4-8, 10-13, 19, 21, 24, 25, 28, 30-32, 34, 59, 153-158). In der Folge entstehen potenziell erhebliche Belastungen für das Gesundheitssystem, sowohl in Bezug auf die Verfügbarkeit von Krankenhausbetten als auch hinsichtlich des Fachkräftemangels und der finanziellen Ressourcen (21, 24, 25, 28, 30).

Vor diesem Hintergrund ist es entscheidend, geeignete Methoden zur Identifizierung von Risikopatienten sowie zur Prävention von Komplikationen zu entwickeln. Die vorliegenden Ergebnisse untermauern den schädlichen Einfluss des Rauchens, wie etwa die erhöhte Komplikationsrate (vgl. Abschnitt 3.2.1) und der signifikant höhere SII bei aktiven Rauchern (vgl. Abschnitt 3.2.3). Im Folgenden werden verschiedene Einflussfaktoren eingehend analysiert.

4.1 Patientenkollektiv

Die Rekrutierung der Patienten für die Studie KIKS/AIQNET erfolgte aus fast allen medizinischen Fachbereichen des Lehrstuhls für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie der medizinischen Fakultät Tübingen an der BGU Tübingen, darunter aus der Traumatologie, Alterstraumatologie, Endoprothetik sowie der septischen Unfallchirurgie. Besonders in diesen Fachbereichen zeigt sich ein Zusammenhang zwischen Tabakkonsum und der Entwicklung postoperativer Komplikationen (1, 6, 11-14, 19, 24, 157-162).

Dass das Rauchen auch heute noch weit in unserer Gesellschaft verbreitet ist, zeigt die Analyse unseres Patientenkollektivs. Über 50 % der Patienten, die die

DISKUSSION

BGU Tübingen aufsuchten, waren Ex-Raucher (31,6 %) oder noch aktive Raucher (22,4 %). Das Bundesgesundheitsministerium in Deutschland berichtet aktuell (ESA 2021) von einer bundesweiten Raucherquote (Personen ab 18 Jahren) von insgesamt 20,1 % (163).

Die Einteilung des Patientenkollektivs erfolgte in Anlehnung an gängige Klassifikationen von Rauchern in Nichtraucher, ehemalige Raucher und aktive Raucher (1, 14, 35, 39, 50, 63, 136, 164, 165). In unserer Studie differenzierten wir jedoch zusätzlich die aktiven Raucher nach der Intensität ihres Rauchverhaltens, wobei wir nach der Analyse des Patientenkollektivs eine Grenze von unter oder über 15 PY festlegten. Wir legten die Grenze für die Abstinenz der ehemaligen Raucher auf über ein Jahr fest.

Die Kategorisierungen der Raucherswellenwerte (PY) sowie die Abstinenzzeit für ehemaligen Raucher variieren in den verschiedenen Studien zu diesem Thema. So definierten Goodman *et al.* (2019) beispielsweise für ihre Studie die Raucher in die Gruppen leichte Raucher von 1-10 PY, moderate Raucher mit 1-20 PY und starke Raucher mit 20 PY oder mehr (164). Pan *et al.* (2015) legten hingegen für ihre Studienpopulation folgende Grenze fest: < 5 PY, 5-10 PY sowie 10 PY und mehr fest (56). Für unsere Studienpopulation wäre jedoch eine Festlegung dieser Grenzen nicht sinnvoll gewesen, da dies zu einer zu kleinen Gruppengröße und somit zu einer statistisch nicht aussagekräftigen Untersuchung geführt hätte.

In allen genannten Studien, einschließlich der vorliegenden, wurde die Gruppe der Nichtraucher als Referenzgruppe definiert.

4.2 Postoperative Komplikationen

Postoperative Komplikationen traten in unserer Studienpopulation in der Gruppe der aktiven Raucher signifikant häufiger auf als bei Nichtrauchern (vgl. 3.2.1 Komplikationsrate). Dennoch ist es wichtig zu betonen, dass nicht jeder Raucher in unserem Patientenkollektiv eine Komplikation infolge eines muskuloskelettalen Eingriffs entwickelte. Raucher weisen im Vergleich zu Nichtrauchern ein signifikant höheres Risiko für postoperative Komplikationen auf (1, 5, 6, 13).

Obwohl wir keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe der aktiven und der ehemaligen Rauchern feststellen konnten, zeigt unsere Analyse der Komplikationsrate (vgl. Abbildung 7) einen Trend: Ehemalige Raucher, die seit mindestens einem Jahr rauchfrei sind, weisen tendenziell weniger postoperative Komplikationen auf als aktive Raucher. Dieser Trend bestätigt die Ergebnisse früherer Studien, wie beispielsweise die von Mills *et al.* (7), Wong *et al.* (134), Scolaro *et al.* (13), Aspera-Werz *et al.* (1, 11, 24), Ehnert *et al.* (6), Weng *et al.* (59) oder Lee *et al.* (14).

Mills *et al.* (2011) zeigten, dass eine längere präoperative Rauchentwöhnung die Häufigkeit postoperativer Komplikationen verringern kann (7). Ähnliches belegten Wong *et al.* (2012), dass eine Rauchabstinenz von mindestens drei bis vier Wochen Komplikationen im Wundheilungsverlauf reduzieren kann (134).

Aspera-Werz *et al.* (2020) berichten von einer *in vitro* Studie, dass Tabakerhitzungssysteme im Vergleich zu herkömmlichen Zigarettenrauch während der Osteogenese eine weniger schädliche Wirkung auf die Knochenzellen haben (11).

Sowohl Rudäng *et al.* (156), als auch Ehnert *et al.* wiesen in ihren Untersuchungen darauf hin, dass Rauchen mit einer verminderten Knochendichte einhergeht (6, 156).

Zigarettenrauch und die darin enthaltenen toxischen Substanzen beeinträchtigen auf verschiedenste Weise den Knochenstoffwechsel, beispielsweise können Knochenzellen direkt geschädigt werden oder indirekt zu Veränderungen des

DISKUSSION

Hormonstatus, der Immunreaktion, des Gefäßsystems oder der Sauerstoffversorgung führen (6). Auch Weng *et al.* (2023) zeigten ebenfalls in ihren *in vitro* Studien, dass Zigarettenrauch das homöostatische Gleichgewicht bei der Frakturheilung stören kann, indem er die Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen hemmt und die Differenzierung osteoklastischer Monozyten/Makrophagen aktiviert, was letztendlich zu einem wahrscheinlichen Knochenverlust oder einer zumindest verzögerten Mineralisierung des Knochens führen kann (59).

Rudäng *et al.* (2012) wie auch Scolaro *et al.* (2014) stellten in ihren Untersuchungen einen engen Zusammenhang zwischen Rauchen und dem Risiko perioperativer Komplikationen, einschließlich Weichteilinfektionen, fest (13, 156). Wie bereits zuvor mehrfach betont, weisen Raucher ein erhöhtes Risiko einer Nichtheilung von Frakturen auf (13, 156). Aspera-Werz *et al.* berichten von einer hohen Komplikationsrate bei Rauchern nach einer Fraktur mit anschließenden muskuloskelettalen Eingriffen, die insbesondere auf eine verzögerte Frakturheilung zurückzuführen ist (24). Die Autoren untersuchten die Auswirkungen des Rauchens auf die TGF- β -Signalübertragung und stellten fest, dass Rauchen die TGF- β -Signalgebung signifikant reduziert (24). Der transformierende Wachstumsfaktor TGF- β vermittelt in der frühen Frakturheilungsphase die Rekrutierung und Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen und stellt somit entscheidenden Faktor in der Frakturheilung dar (24).

In einer weiteren Studie von Aspera-Werz *et al.* (2022) wird eine erhöhte Expression von Peptidyl-Arginine-Deminiase-4-Expression (PADI4) bei aktiven und starken Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern mit einer höheren Komplikationsrate in Verbindung gebracht (1). PADI4 beschreibt ein Gen, das für Enzyme kodiert, die eine entscheidende Rolle bei der Entzündungs- und Immunreaktionen spielen (1, 166).

Lee *et al.* (2024) beschreiben den engen Zusammenhang zwischen Rauchen und dem Auftreten einer Sepsis (14). Darüber hinaus zeigen sie, dass Rauchen unabhängig von bestehenden chronischen Erkrankungen oder allgemeinen

DISKUSSION

Gesundheitsverhalten ein signifikanter Risikofaktor für die Entwicklung einer Sepsis darstellt (14). Das Risiko einer Sepsis steigt in Abhängigkeit mit der kumulierten Menge des Tabakkonsums (14). Eine Rauchentwöhnung kann daher zur Vorbeugung schwerwiegender Infektionen, einschließlich einer Sepsis, beitragen (14).

Alle genannten wissenschaftlichen Studien bestätigen und unterstützen die Ergebnisse unserer Untersuchung.

4.2.1 Geschlechterspezifische Unterschiede in der Komplikationsrate

In Anlehnung an frühere Studien, die geschlechterspezifische Unterschieden im Suchtverhalten von Frauen und Männer aufzeigten, wie beispielsweise Minutillo *et al.* (138), Shiffman *et al.* (139) oder Hitchman *et al.* (167), analysierten wir im Patientenkollektiv ebenfalls auf geschlechterspezifische Besonderheiten.

Dies steht auch im Einklang mit den langfristigen Analysen/Untersuchungen des „Beauftragten der Bundesregierung für Sucht- und Drogenfragen in Deutschland“, bei dem über die Jahre hinweg festgestellt werden konnte, dass Männer in Deutschland häufiger rauchen als Frauen (29).

Unsere Untersuchungen zeigten, dass ein größerer Anteil der Männer im Vergleich zu Frauen aktiv rauchte. Das berechnete Verhältnis von Frauen zu Männern in dieser Gruppe liegt bei etwa 0,62.

Dieses Ergebnis stimmt mit den Zahlen der Weltgesundheitsorganisation nahezu überein, die für Deutschland ein berechnetes Verhältnis von etwa 0,6 zwischen männlichen und weiblichen Rauchern angeben (167).

Hitchman *et al.* (2011) beschrieben in ihrer Untersuchung, dass weltweit schätzungsweise fast fünfmal mehr Männer als Frauen rauchen, das Verhältnis variiert jedoch von Land zu Land (167). Ähnliches beschrieben auch Minutillo *et al.* in ihrer Untersuchung 2016, indem sie geschlechterspezifische Unterschiede in verschiedenen Suchtbereichen wie Tabakrauchen, Alkoholkonsum, Drogenmissbrauch und Dopingpraktiken in der italienischen Bevölkerung mit dem Ergebnis untersuchten, dass ein Geschlechtergefälle besteht (138). Demnach zeigten sich Frauen weniger anfällig für ein Suchtverhalten (138).

4.2.2 Abteilungsspezifische Unterschiede

Die abteilungsspezifische Analyse des Studienkollektivs zeigt, dass Raucher häufiger wegen traumatologischer und infektiöser Ereignisse ins Krankenhaus eingeliefert werden als Nichtraucher, was die Erkenntnisse früherer Studien untermauert (6, 12, 13, 159). Im Vergleich zu Nichtrauchern weisen Raucher weniger elektive Eingriffe, wie zum Beispiel endoprothetische Operationen, auf.

Unsere Ergebnisse bestätigen den aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand (1, 11-13, 24, 48, 59, 67, 78, 159, 161, 168).

Smolle *et al.* führten 2021 eine systematische Übersichtsarbeit und Meta-Analyse durch, um die negativen Auswirkungen des Rauchens bei Orthopädie- und Traumapatienten zu untersuchen (12). Sie fanden heraus, dass Rauchen mit einem insgesamt erhöhten Frakturrisiko, insbesondere Hüftfrakturen und Wirbelfrakturen, signifikant assoziiert ist (12). Das Risiko für eine ausbleibende Frakturheilung nach Frakturoperationen, postoperativen Infektionen sowie eine persistierende Nonunion nach Kahnbeinoperationen war bei Rauchern deutlich erhöht (12).

Die Tatsache, dass ehemalige Raucher in unserer Studienpopulation im Vergleich zu aktiven Rauchern deutlich weniger septische Eingriffe aufwiesen, deutet darauf hin, dass eine Rauchabstinenz zu einer Reduzierung solcher Komplikationen führen kann. Diese Beobachtung wird durch verschiedene Studien, darunter beispielsweise die von Aspera-Werz *et al.* (1), Smolle *et al.* (12), Mills *et al.* (7) und Lee *et al.* (14) gestützt.

4.2.3 Krankenhausaufenthaltsdauer

Insgesamt entwickelten 142 Patienten aus allen Patientengruppen unseres Patientenkollektivs innerhalb von drei Monaten nach einem muskuloskelettalen Eingriff postoperative Komplikationen, die eine Verlängerung ihres Krankenhausaufenthaltes zur Folge hatten.

Aktive Raucher wiesen im Vergleich zu Nichtrauchern eine signifikant längere Hospitalisierungsdauer auf, obwohl sie in unseren Analysen durchschnittlich jünger sind und einen niedrigeren BMI und FINDRISK haben als ehemalige Raucher. Zurückzuführen sein könnte dies auf die deutlich verzögerte postoperative Genesungsphase bei Rauchern (4, 6, 12, 13). Ehemalige Raucher hingegen zeigten ebenfalls eine verlängerte Verweildauer im Krankenhaus, was vermutlich auf ihr höheres Alter, ihren höheren BMI und ihr höheren FINDRISK zurückzuführen ist (14, 169-171).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass ehemalige Raucher im Vergleich zu aktiven Rauchern, insbesondere starken Rauchern (≥ 15 PY) dennoch eine signifikant kürze Krankenhausaufenthaltsdauer aufwiesen (vgl. 3.2.2). Auch bei näherer Betrachtung des Krankenhausaufenthaltes wird deutlich, dass aktive Raucher grundsätzlich längere Krankenhausaufenthalte haben als Nichtraucher und ehemalige Raucher, selbst wenn keine Komplikationen im Heilverlauf aufgetreten sind. Diese Beobachtung stützt die Thesen vorangegangener Studien, die das Rauchen mit einer verlängerten Heilungsphase in Verbindung bringen, wie beispielsweise Rudäng *et al.* (156), Scolaro *et al.* (13), Wong *et al.* (134), Mills *et al.* (7), Aspera-Werz *et al.* (1, 24), Ehnert *et al.* (6), Smolle *et al.* (12) oder Weng *et al.* (59).

Smolle *et al.* fanden heraus, dass das Risiko für Raucher, nach einer Frakturoperation eine Infektion zu entwickeln, 2,1-mal höher als das für Nichtraucher (12). Ihre Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen von Scolaro *et al.* (13), die bereits zuvor ein ähnliches Verhältnis beschrieben haben (12, 13). Dies stützt sich auf frühere Studien, die einen Zusammenhang zwischen Nikotinabusus und verlängerten Krankenhausaufenthalten aufgezeigt haben (1, 8, 10-14, 24, 59).

DISKUSSION

Unsere Ergebnisse stützen die Erkenntnisse früherer Studien und untermauern die These, dass Rauchabstinenz oder Rauchentwöhnung vor operativen Eingriffen dazu beitragen könnten, postoperative Komplikationen zu reduzieren und damit eine längere Hospitalisierungsdauer zu vermeiden oder zumindest zu reduzieren (1, 7, 12, 14).

Eine verlängerte Hospitalisierungsdauer infolge postoperativer Komplikationen steht häufig nicht nur mit einer langwierigen und oft komplexen Behandlung in Verbindung, sondern auch mit negativen Auswirkungen auf die Lebensqualität der Patienten und einer erheblichen finanziellen Belastung für das Gesundheitssystem (12, 20, 21, 25, 26, 30).

Daten aus den USA aus dem Jahr 2018 schätzten die Gesundheitskosten, die auf Zigarettenrauchen zurückzuführen waren, auf ca. 1,85 Billion US-Dollar (30).

In ihrem Bericht über das Rauchverhalten und Passivrauchbelastung Erwachsener in Deutschland 2022 berichten Starker *et al.*, dass die jährlichen Kosten für die Behandlung von rauchbedingten Erkrankungen und Gesundheitsproblemen deutschlandweit etwa 30 Milliarden Euro betragen (163).

4.2.4 Systemischer Immunitätsindex (SII)

Unsere Untersuchung ergab, dass aktive Raucher signifikant höhere SII-Werte aufwiesen als Nichtraucher und ehemalige Raucher. Diese Erkenntnis ist von großer Relevanz für alle Patienten, die an infektiösen Ereignissen leiden oder bei denen ein muskuloskelettaler Eingriff geplant ist. Die Ergebnisse zeigen eine starke Korrelation zwischen dem Rauchen und einer systemischen Entzündungsreaktion.

Der aktuelle Stand der Forschung bringt den SII-Index mit verschiedensten Erkrankungsbildern in Zusammenhang. So beschrieben beispielsweise Zhang *et al.* eine negative Korrelation zwischen dem SII und der Knochendichte, die mit einem erhöhten Frakturrisiko einhergeht (172). Sie führen erhöhte SII-Werte als Risikofaktor für Osteoporose bei postmenopausalen Frauen auf (172). Liu *et al.* zeigen zudem eine positive Korrelation zwischen dem SII und rheumatischer Arthritis fest (142). Diese Erkrankung ist eine chronisch entzündliche Autoimmunerkrankung, die unter anderem durch die Infiltration proinflammatorischer Zytokine gekennzeichnet ist (142). Der SII-Index wird unter anderem auch mit einer Vielzahl von Krebserkrankungen in Verbindung gebracht, darunter beispielsweise Kolorektal-Karzinome (173), kleinzellige Lungenkarzinome (174) oder Gebärmutterhalskrebs (175).

Raucher weisen im Vergleich zu Nichtrauchern und ehemaligen Rauchern signifikant höhere SII-Werte auf (vgl. 3.2.3). Diese Werte unterscheiden sich interessanterweise beim Auftreten einer Komplikation im Heilungsverlauf nicht. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen könnte in einer potenziellen Erschöpfung des Immunsystems liegen, entweder aufgrund einer bereits bestehenden chronischen Infektion oder einer vorherigen Immunantwort auf das Trauma (176, 177). Infolgedessen steigen die Werte aufgrund dieser sogenannten Immunerschöpfung nicht weiter an (176, 177). Des Weiteren zeigt sich in unseren Untersuchungen ein deutlicher Trend: Nachdem der Tabakkonsum eingestellt und ein Jahr rauchfrei gelebt wurde, normalisiert sich der SII-Wert nahezu, und das unabhängig von den zuvor gerauchten PY. Ähnliches wird auch in der Literatur beschrieben: so konnten Derella *et al.* in

DISKUSSION

ihrer Untersuchung nachweisen, dass bereits eine kurzfristige Rauchentwöhnung das systemische Entzündungsprofil reduzieren kann (66).

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen stimmen mit den Ergebnissen früherer Forschungsarbeiten zu diesem Thema überein (6, 7, 9, 12, 13, 66) und bestätigen, dass Rauchen eine nachteilige Wirkung auf den postoperativen Heilungsverlauf und die Reaktion des Immunsystems hat.

4.2.4.1 Folgen durch Nikotinabusus

In der Literatur finden sich eine Vielzahl von Theorien zu den Auswirkungen des Rauchens auf den Organismus. Darunter werden vor allem die Auswirkungen des Nikotinkonsums auf die Frakturheilung beschrieben, im Zusammenhang mit einer verringerten Blutversorgung, einem Mangel an Antioxidantien und Vitaminen, erhöhten Werten reaktiver Sauerstoffspezies sowie toxische Auswirkungen auf die Osteoblasten und Osteoklasten (1, 4, 6, 8, 11, 13, 18, 19, 24, 155, 156, 161, 178).

Abate *et al.* beschrieben bereits 2013, dass das im Zigarettenrauch enthaltene Nikotin nicht nur die Haut und das Unterhautgewebe durch die Freisetzung von Katecholaminen schädigt, sondern auch eine Vasokonstriktion der lokalen Blutgefäße verursacht, was zu einer verminderten Durchblutung des Gewebes führt (8, 164, 179). Bereits 1998 konnten Leow *et al.* in ihrer Untersuchung belegen, dass der im Tabakrauch enthaltene Kohlenmonoxidgehalt den Sauerstoff aus dem Hämoglobin verdrängt, wodurch es zu einem Druckabfall des Sauerstoffs im Gewebe kommt (180). Ähnliches berichten Smolle *et al.* in ihren Untersuchungen von 2021, indem sie dem im Zigarettenrauch enthaltene Kohlenmonoxid eine direkte Wirkung auf das Oxyhämoglobin im Blut zuschreiben (12). Sie berichten, dass es in Folge dessen zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve kommt (12). Eine Linksverschiebung der Sauerstoffsättigungskurve führt zu einer verringerten Sauerstoffversorgung des Gewebes (181).

Hahad *et al.* (2023) identifizierten das Rauchen als Hauptrisikofaktor für Arteriosklerose und arterielle Hypertonie und brachten es zudem mit erhöhtem

DISKUSSION

oxidativem Stress, endothelialer Dysfunktion und Entzündungen in Verbindung (179). Obwohl die genauen Mechanismen hinter den komplexen Prozessen noch nicht vollständig aufgeklärt sind, ist eindeutig, dass Rauchen eine starke Korrelation mit Erkrankungen wie Entzündungen oder Autoimmunkrankheiten aufweist (34). Rauchen beeinflusst nicht nur die angeborene, sondern auch die adaptive Immunantwort (Saint-André *et al.* (34)). In ihrer Studie aus dem Jahr 2024 zeigten Saint-André *et al.*, dass Rauchen eine verstärkte Entzündungsreaktion nach bakterieller Stimulation auslöste, die nach Rauchstopp zeitnah wieder abklang (34). Dennoch berichten sie ebenfalls von langfristigen Auswirkungen des Rauchens auf die T-Zell-Reaktionen, die selbst nach Jahren der Rauchentwöhnung bestehen blieben (34).

4.3 Auswertung der Fragebögen

Die Auswahl der Kriterien aus den verschiedenen Fragebögen erfolgte auf Grundlage des aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstands zu diesem Thema.

Studien wie jene von Pan *et al.* (56), Brath *et al.* (57), Maddatu *et al.* (182), Batatinha *et al.* (64) und Chao *et al.* (171) belegen den Zusammenhang zwischen Rauchen und einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes sowie den Einfluss des Rauchens auf den BMI von Patienten und die damit verbundenen gesundheitlichen Risiken (56, 57, 171, 182, 183).

Ehnert *et al.* heben das erhöhte Frakturrisiko und die verzögerte Frakturheilung bei Typ-2-Diabetes-Patienten hervor (170). Sie bringen eine schlechte Blutzuckerkontrolle mit negativen metabolischen Auswirkungen in Verbindung (170). Ein unzureichend regulierter Blutzucker beeinträchtigt das Gleichgewicht zwischen Osteoblasten und Osteoklasten und stellt somit einen entscheidenden Faktor für die Knochenhomöostase dar (170). Xu *et al.* (2021) untersuchten den Einfluss von Rauchen und Alkohol auf die Frakturheilung (184).

Die von uns ausgewählten Kriterien FINDRISK, Audit-C und BMI sind bewährte, standardisierte Messgrößen, die sich durch klare Vorgaben und Reproduzierbarkeit auszeichnen (96, 98, 185, 186). Auch die Einheit Packungsjahre (PY) ist eine standardisierte, reproduzierbare Maßeinheit zur Quantifikation des Rauchverhaltens (164).

4.3.1 Diabetesrisiko FINDRISK, Alter, BMI und Audit-C

Brath *et al.* berichten in ihrer Studie von 2023, dass aktives Rauchen bei Menschen ohne Diabetes die Blutzuckerwerte sowie die Inzidenz einer Diabetes-Typ-2-Erkrankung um 37 % bis über 100 % steigern kann (57). Sie beziehen sich dabei auf Ergebnisse einer früheren Studie von Durlach *et al.* (187). Diese zeigte eine erhöhte Insulinresistenz, eine vermehrte Akkumulation viszeralen Fettes, eine erhöhte Sympathikusaktivität, erhöhte Spiegel von Cortisol und Hormonen der Schilddrüse, erhöhte systemische Entzündungsreaktionen sowie eine Reduktion der Insulinfreisetzung (57, 187).

DISKUSSION

Unsere Auswertungen zeigten keine signifikanten Unterschiede im Diabetesrisiko zwischen aktiven Rauchern und Nichtrauchern. Zwar fanden sich signifikante Unterschiede zwischen aktiven Rauchern und ehemaligen Rauchern, doch waren die FINDRISK-Werte der aktiven Raucher signifikant niedriger als die der ehemaligen Raucher. Auch der Vergleich zwischen Nichtrauchern und moderaten Rauchern (< 15 PY) ergab ein ähnliches Bild. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnte sein, dass aktive Raucher in unserem Patientenkollektiv, im Vergleich zur restlichen Patientenkohorte, signifikant jünger waren, unabhängig vom Auftreten einer Komplikation. Zudem weisen aktive Raucher häufig einen niedrigeren BMI auf als ehemalige Raucher.

Da das Patientenkollektiv der aktiven Raucher in dieser Studie deutlich jünger ist und typischerweise ältere Patienten eher an Diabetes-mellitus-Typ-2 erkranken (169), könnte dies unsere Ergebnisse zumindest teilweise erklären. Darüber hinaus ist darauf hinzuweisen, dass wir in der vorliegenden Kohorte keine detaillierte Diabetesdiagnostik durchgeführt haben, abgesehen von den angegebenen Parametern.

Laut Zeyfang *et al.* leiden in Deutschland rund 3 Millionen Menschen über 65 Jahren an Diabetes (169). Eine neuere Studie von Harreiter *et al.* (2023) bestätigt, dass Diabetes-mellitus-Typ-2 überwiegend ältere Menschen betrifft. Diese stellte jedoch auch eine zunehmend frühere Manifestation der Krankheit fest (188). Zurückführen lässt sich dies auf den weltweiten Anstieg von Übergewicht und Adipositas in den letzten Jahren (189, 190). Laut Schienkiewitz *et al.* (2022) sind derzeit etwa 53,5 % der Bevölkerung in Deutschland übergewichtig (190). Ein hoher BMI ist eng mit einer Vielzahl von Erkrankungen assoziiert, insbesondere mit Diabetes-mellitus-Typ-2 (189, 190), sowie mit der Entwicklung von Gelenkerkrankungen oder entzündlichen Prozessen im Körper (191, 192) (189, 190). Zong *et al.* weisen in ihrer Untersuchung von 2024 darauf hin, dass ein hoher BMI die Eigenschaften von mesenchymalen Stromazellen aus dem Knochenmark negativ beeinträchtigen kann und somit das Risiko für postoperative Komplikationen nach muskuloskelettalen Eingriffen erhöht (193).

Die Analyse des BMIs in unserer Patientenkohorte zeigte signifikante

DISKUSSION

Unterschiede zwischen aktiven Raucher und ehemaligen Rauchern. Dies könnte auf den Zusammenhang zwischen Rauchen und Körpergewicht zurückzuführen sein. Beispielsweise beschreiben Chao *et al.* (2019) Rauchen im Zusammenhang mit Gewichtskontrolle und stellen fest, dass es nach Rauchstopp häufig zu einer Gewichtszunahme kommt (171). Sie zeigen, dass Nikotin das Körpergewicht beeinflusst, indem es den Appetit unterdrückt, eine mögliche anorektische Wirkung aufweist und das Ernährungsverhalten verändert (171). Zusätzlich beobachteten sie, dass bei Rauchern häufig schlechtere Ernährungsgewohnheiten, die nach Rauchstopp eine Gewichtszunahme begünstigen könnten, auftreten (171). Unsere Analysen bestätigen, dass Rauchen und Gewicht eng miteinander verknüpft sind.

Die Analyse des Trinkverhalten in unserem Patientenkollektiv zeigte ebenfalls, dass aktive Raucher häufig auch ein zusätzliches Suchtverhalten, im Hinblick auf Alkoholkonsum, aufwiesen. In unserer Studie konsumierten aktive Raucher nach eigenen Angaben mehr Alkohol als ehemalige Raucher oder Nichtraucher. Alkohol beeinflusst ebenfalls den Zytokinspiegel im Blut, da übermäßiger Konsum Entzündungsreaktionen und oxidativen Stress auslöst (183, 194-197).

Über die Veränderungen im Konsumverhalten von Rauchern und Alkoholkonsumenten während der Coronapandemie gibt es unterschiedliche Berichte. Einige Studien berichten von einem Anstieg des Rauchens in dieser Zeit, während andere von einem Rückgang der Gesamtprävalenz berichten (198). Für Deutschland zeigte sich jedoch während der Pandemie ein leichter Anstieg der Raucher- sowie der Alkoholzahlen (29, 40, 186).

Da wir einen Großteil der Patienten während dieser Zeit rekrutierten, könnte dies eine mögliche Erklärung für das auffällig jüngere Alter der aktiven Raucher und den leicht erhöhten Alkoholkonsum in unserem Patientenkollektiv darstellen. Beide Suchtverhalten werden häufig zur Kompensation von Stress genutzt, wie beispielsweise Koopmann *et al.* (38), *The Lancet Psychiatry* (199) oder Andersen *et al.* (198) beschreiben.

DISKUSSION

Die Coronapandemie stellte die Gesellschaft weltweit vor enorme Herausforderung. Diese Zeit war besonders von tiefgreifenden Veränderungen und außergewöhnlich hohem Stresslevel geprägt, was in der Gesellschaft zu einer erheblichen psychischen Belastung führte, die sich in Ungewissheit, Ängsten und depressiven Mustern manifestierte (186, 199-201).

So beschreiben Koopmann *et al.*, dass die langanhaltenden Einschränkungen des gesellschaftlichen Lebens, die im März 2020 von der deutschen Bundesregierung als gesellschaftlicher Konsens beschlossen wurde, die Sorgen und Ängste verstärken konnten (38). Sie führten zudem auf, dass der Konsum von Alkohol und Tabak häufig als dysfunktional angewandte Strategie zur Bewältigung solcher Gefühle eingesetzt wird (38).

4.4 Zytokine im Blut

Heilungsprozesse sind im Allgemeinen komplexe Vorgänge im Organismus, die von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst werden. Für eine erfolgreiche Wundheilung müssen z.B. Wachstumsfaktoren, Zytokine und Chemokine sezerniert werden, um in das Wundgewebe einzuwandern und dort die Wundheilung fördern zu können (63, 202). Wachstumsfaktoren und Zytokine werden unter anderem von Fibroblasten sezerniert und sind für einen regelrechten Heilungsverlauf essentiell. Rauchen hemmt jedoch die biologische Funktion der Fibroblasten und beeinträchtigt so die Wundheilung (19). Rauchen stört zudem das Gleichgewicht des Immunsystems, indem es immunregulatorische Aktivitäten so verändert, dass es in Folge dessen zu Entzündungen kommt (63). Gesteuert werden diese Prozesse durch ein komplexes Netzwerk sekundärer Botenstoffe, wie beispielsweise Zytokine und Chemokine, die sowohl zur angeborenen, als auch zur erworbenen Immunität gehören (63, 118). Theiss *et al.* beschrieben bereits in ihrer Untersuchung aus dem Jahr 2000, dass Nikotin die Expression einer Vielzahl von Zytokinen direkt hemmen kann, darunter auch diejenigen die mit der Neovaskularisierung und der Osteoblastendifferenzierung in Verbindung stehen (65).

Die Analyse des vorliegenden Patientenpools zeigt, dass Raucher in unserem Patientenkollektiv häufiger traumatische oder infektiöse Ereignisse erleiden. Dies steht im Einklang mit den zuvor genannten Faktoren und bestätigt Ergebnisse früherer Studien. Der genaue Mechanismus, durch den Rauchen Entzündungen beeinflusst und wie diese Veränderungen entstehen, ist jedoch noch nicht vollständig geklärt (Stand September 2024).

4.4.1 Zytokinarrays vs. ELISAs

Die potenziell komplikationsprädiktiven Blutmarker bei Rauchern in unserem Patientenkollektiv wurden zunächst mittels Zytokinarrays eingrenzend identifiziert. Insgesamt wurden 103 Targets mit dem Human Immune Checkpoint C1 sowie dem Human Cytokine Array C5 untersucht. Dabei fielen mehrere auffällige Targets wie MIG (CXCL-9), B7-1 (CD80) und CD28 durch auffällige Regulationsmuster auf (vgl. 3.2.5 Ergebnisse Zytokinarrays). Diese identifizierten

DISKUSSION

Targets wurden bereits in früheren Studien, wie etwa von Bratke *et al.* (129), Zhang *et al.* (127) oder de la Iglesia *et al.* (130), mit dem Rauchen in Verbindung gebracht. Diese Targets stehen in Zusammenhang mit der Aktivierung und Differenzierung von T-Zellen (94, 95, 125, 150, 203). T-Zellen spielen eine wichtige Rolle als Regulatoren der Osteoklasten-Differenzierung und der Knochenfunktion (94). Bei entzündlichen Knochenerkrankungen fördern sie im aktivierten Zustand über verschiedene Mechanismen die verstärkte Differenzierung von Osteoklasten und üben damit einen knochenschädigenden Effekt aus (94, 204).

Es ist allgemein bekannt, dass Knochenzellen durch Immunzellen wie den T-Lymphozyten beeinflusst werden, wie Weitzmann *et al.* bereits 2005 in ihrer Studie zur Rolle der T-Lymphozyten im Knochenmetabolismus beschrieben haben (205). Grassi *et al.* beschreiben Osteoklasten als immunkompetente Zellen, die T-Zellen zurückhalten (94). Bei der Osteoklastenreifung wird beispielsweise B7-1 signifikant hochreguliert (94).

In unseren Analysen zeigten die Zytokine CD28 sowie B7-1 bei aktiven Rauchern ohne Komplikationen im Vergleich zu Nichtrauchern leicht herunterregulierte Werte. Bei allen Gruppen traten jedoch Veränderungen in der Regulation auf, sobald eine Komplikation vorlag.

Bei Rauchern, sowohl aktiven als auch ehemaligen, die Komplikationen entwickelten, wurden hochregulierte Expressionen bei CD28 und B7-1 festgestellt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Rauchen diese Zytokine beeinflusst, insbesondere bei Vorliegen von Komplikationen.

Bereits 1996 beschrieben Zhang *et al.* die Wirkung von Nikotin auf T-Zellen (127). Sie konnten mit ihrer Untersuchung zeigen, dass Nikotin den Prozentsatz der CD4+T-Zellen, die beispielsweise CD28 exprimieren, verringert und zusätzlich die Intensität der CD28-Expression reduziert (127).

Liu *et al.* nennen in ihrer Studie von 2022 Immuncheckpoints wie CD28 und B7-1 als wichtige Faktoren für Immunstörungen bei der Erkrankung der Sepsis, insbesondere im Zustand der Immunsuppression (126). Ähnliches beschreiben Nolan *et al.* für B7-1 (107).

DISKUSSION

Die Array-Ergebnisse zeigten für MIG eine leichte Herunterregulation der Zytokinexpression in allen Gruppen, bei denen Komplikationen vorlagen. Das Zytokin MIG spielt eine entscheidende Rolle in der Pathogenese verschiedener Krankheiten, insbesondere bei Autoimmunerkrankungen (63). Die proinflammatorischen Reaktionen im Organismus werden durch das Rauchen verstärkt (63). Wang *et al.* belegen dies mit einem Anstieg des MIG-Spiegels bei Rauchern (63). Sie untersuchten 2022 die Auswirkungen des Rauchens auf die Expression von MIG (63). Hierbei konnten sie einen signifikanten Anstieg von MIG im menschlichen Serum sowohl bei aktiven als auch bei ehemaligen Rauchern feststellen (63). Zusätzlich berichten sie, dass die MIG-Werte auch nach dem Rauchstopp nicht zurückgingen und betrachten dies als eine mögliche Erklärung für die proinflammatorischen und proarteriosklerotischen Auswirkungen des Rauchens (63). Unsere Analyse zeigt hingegen, dass ein Rauchstopp zu einem Rückgang der MIG-Konzentration im Serum führte. In unserem Patientenkollektiv zeigten aktive Raucher beim Vorliegen einer Komplikation einen herunterregulierten MIG-Spiegel als Nichtraucher mit Komplikationen.

Kwak *et al.* bringen eine Entzündung mit osteoklastischer Knochenresorption in Verbindung (147). Dies bedeutet, dass Raucher mit höheren Entzündungswerten und höheren MIG-Serumspiegeln ein erhöhtes Risiko für Knochenbrüche haben (206).

Zur genauen Quantifizierung der Ergebnisse aus der Zytokinarray-Analyse wurden ELISA durchgeführt.

Beim Vergleich der Array-Ergebnisse mit den ELISA-Daten für die ausgewählten Marker CD28, B7-1 und MIG zeigen sich entgegengesetzte Ergebnisse. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Array-Gruppen im Rahmen eines Probenabgleichs hinsichtlich der Faktoren Alter, BMI, FINDRISK und Audit-C angepasst und harmonisiert wurden. Ziel war es, zusätzliche Einflussfaktoren auszuschließen, um den Einfluss des Rauchens auf die Zytokine isoliert zu untersuchen. Das Array-Verfahren identifiziert zwar auffällig regulierte Zytokine, liefert jedoch keine spezifischen Aussagen für jeden einzelnen Patienten

DISKUSSION

innerhalb der Gruppen. Infolge dessen war der Gruppenpool bei den Array-Auswertungen im Vergleich zu den ELISA-Analysen deutlich kleiner und homogener. Im Gegensatz dazu erlaubt die ELISA-Quantifizierung jedoch eine direkte Analyse einer Vielzahl unterschiedlicher Einflussfaktoren auf Zytokine, einschließlich BMI, Alter, FINDRISK und Audit-C.

Dieser Unterschied könnte auch die abweichenden Ergebnisse zwischen der Array- und der ELISA-Analysen erklären.

Die vorliegende Studie belegt nichtsdestotrotz, dass Rauchen die Expression verschiedener Zytokine beeinflusst, die für die Regulierung von Entzündungsprozessen und der Immunantwort verantwortlich sind. Diese Beobachtung lässt sich darauf zurückführen, dass das Rauchen chronische systematische Entzündungen im Organismus hervorrufen, die mit einer Dysregulation des Immunsystems einhergehen (55, 63, 64, 207).

4.5 Schlussfolgerung

In der Analyse unseres Patientenkollektivs konnten wir keinen eindeutigen spezifischen prädiktiven Blutmarker bei Rauchern identifizieren. Wie die Ergebnisse der ELISA-Analyse zeigen, ist der Zytokinspiegel multifaktoriell durch eine Vielzahl anderer Faktoren beeinflusst.

Der komplexe, multifaktorielle Einfluss auf die Zytokine im Blut erschwert die Identifizierung einzelner potenziell prädiktiver Marker bei Rauchern erheblich. Es ist möglich, dass Patienten beispielsweise nicht alle eingenommenen Medikamente oder beispielsweise Nahrungsergänzungsmittel in der Befragung angegeben haben, wodurch dieser mögliche Einflussfaktor nicht vollständig berücksichtigt werden konnte. Zudem konnten weitere Einflussfaktoren (siehe Abschnitt 5: Limitationen) nicht vollständig berücksichtigt und analysiert werden, entweder aufgrund fehlender Informationen oder aufgrund anderer limitierender Faktoren.

5 Limitationen

Der Beginn dieser Studie fiel in die Zeit der Coronapandemie, was die Rekrutierung und Aufnahme von Patienten zu Beginn erschwerte. Wie bereits mehrfach erwähnt, werden Raucher häufiger aufgrund traumatischer oder infektiöser Ereignisse und weniger wegen selektiver Eingriffe hospitalisiert. Dies hat zur Folge, dass sie sich aufgrund eines akuten, lebensbedrohlichen Zustands sofort einem operativen Eingriff unterziehen müssen, bevor eine präoperative Befragung oder die Generierung von Blutproben im Rahmen der routinemäßigen Blutuntersuchung durchgeführt werden konnte. In diesem Zusammenhang fehlt häufig zum Zeitpunkt der Studienaufnahme der Patienten die Information über den Zeitpunkt der Therapie und die Krankheitsprogression, und es ist nicht unmittelbar ersichtlich, ob es sich um eine initiale Erkrankung oder um einen Revisionseingriff handelt. Untersucht wurden nur kurzfristige Ereignisse im Heilungsverlauf, nicht jedoch langfristige Auswirkungen des Rauchens auf den Heilungsprozess und die Immunantwort. Eine dreimonatige Beobachtungszeit der Patienten hinsichtlich Komplikationen im Heilungsverlauf nach muskuloskelettalen Eingriffen ist oft nicht ausreichend, um die langfristigen Folgen vollständig zu erfassen. Daher empfiehlt sich eine längere Beobachtungsdauer dieser Patienten. Auch eine Kosten-Nutzen-Analyse ist in dieser kurzen Zeit nur eingeschränkt möglich. Raucher haben häufig einen deutlich verlängerten Heilungsverlauf, und es wäre aufschlussreich, die gesamten Kosten für diese Patienten über mehrere Jahre hinweg zu erfassen. Ein weiterer einschränkender Faktor ist, dass wir im Rahmen dieser Untersuchung nur eine begrenzte Anzahl an Zytokinen bei Rauchern analysiert haben. Obwohl wir Zytokine untersucht haben, die an Entzündungen und Immunreaktion beteiligt sind, beschränkte sich unsere Analyse auf eine begrenzte Auswahl, die wir anhand der Auswertung der Array-Ergebnisse identifiziert und mittels ELISA quantifiziert haben. Wie bereits erwähnt, können die verschiedenen Zytokine durch eine Vielzahl zusätzlicher Faktoren beeinflusst sein. Um ein vollständiges Bild der immunologischen Veränderungen bei Rauchern zu erhalten, empfiehlt sich eine umfassendere Analyse des Zytokinprofils.

LIMITATIONEN

Ein zusätzlicher limitierender Faktor ist, dass die Hospitalisierung der Patienten meist aufgrund eines geplanten Aufenthaltes oder akuten Krankheitsereignisses erfolgte, wodurch oft nur wenig Zeit zwischen stationärer Aufnahme und Operation blieb. Infolgedessen war es uns teilweise erst nach der Operation möglich, die Einwilligung zur Studienaufnahme einzuholen und die zusätzliche Blutentnahme im Rahmen der routinemäßigen Blutuntersuchung durchzuführen. Möglicherweise könnte der Operationszeitpunkt ebenfalls die verschiedenen Marker im Blut beeinflussen, was zu Unterschieden zwischen der prä- und postoperativen Blutanalyse führen könnte. Dies könnte ein weiterer Grund dafür sein, dass wir in unserem Patientenkollektiv keinen eindeutigen spezifischen prädiktiven Blutmarker bei Rauchern identifizieren konnten.

6 Ausblick

Die Praktikabilität der Identifizierung von Risikopatienten im Klinikalltag stellt sich herausfordernd dar. Durch die Blutuntersuchung bekannter Infektionsparameter können bereits viele Erkrankungsbilder erkannt werden. Diese Parameter dienen als Anzeichen für pathogene Vorgänge (bestehende/fortgeschrittene Infektionen, Tumore, Mangelerscheinungen, Allergien) im Körper.

Wie zuvor beschrieben, reagieren Zytokine im Blut äußerst sensibel auf verschiedene Einflüsse, insbesondere auf Zigarettenkonsum.

Der menschlichen Organismus enthält eine Vielzahl von Zytokinen. Aufgrund der hohen Kosten und des großen Aufwands gestaltet sich die Untersuchung von Zytokinen im Blut als herausfordernd, sodass eine umfassende Untersuchung aller Zytokine in der routinemäßigen Blutuntersuchung jedes einzelnen Patienten so nicht realisierbar ist.

In unserer Untersuchung konnten wir keine aussagekräftigen und zuverlässigen Marker im Blut rauchender Patienten identifizieren, die als prädiktive Indikatoren für die Früherkennung von Risikopatienten oder postoperativen Komplikationen geeignet sind. Dennoch veranschaulicht dieses Ergebnis die Komplexität der Biomarker und ihr Zusammenhang im Organismus.

In unserer Studie betrachteten wir vorwiegend die kurzfristigen postoperativen Ergebnisse, die möglicherweise nicht die langfristigen Auswirkungen des Rauchens auf den Heilungsverlauf und auf die Immunantwort widerspiegeln. Des Weiteren analysierten wir nur eine begrenzte Anzahl an Zytokinen, die an Entzündungs- und Immunreaktionen beteiligt sind.

Durch Folgestudien könnten relevante Zytokine vielleicht im Langzeitverlauf näher analysiert werden. Bei Identifikation weiterer geeigneter Marker kann möglicherweise bei der routinemäßigen Blutuntersuchung bei initialer Stationsaufnahme bei bestimmten erhöhten Werten direkt ein Risiko für eine Komplikationsentstehung abgeleitet werden. Weiterhin können zusätzliche Marker möglicherweise die diagnostische Genauigkeit erhöhen. So kann schon bei stationärer Aufnahme die individuelle Therapie evaluiert und angepasst

AUSBLICK

werden. Dies ermöglicht ein bestmögliches *Outcome* für Patient und Klinik.

Vor diesem Hintergrund könnte eine weitere Analyse mittels einer Langzeitstudie sinnvoll sein, beispielsweise im Zusammenhang mit einer größeren Patientenkohorte, einer umfassenderen Analyse des Zytokinprofils, einer Analyse des rein präoperativen Blutes sowie der Berücksichtigung weiterer möglicher Einflussfaktoren wie psychischer Erkrankungen, beruflicher/privater Stress sowie körperlicher Fitness/regelmäßiger körperlicher Betätigung sein (208-210).

7 Zusammenfassung

Postoperative Komplikationen sind nach muskuloskelettalen Eingriffen bei Rauchern ein häufiges Erscheinungsbild (1, 4-7). Regelmäßiges Rauchen beeinträchtigt die Heilung von Knochenbrüchen, indem es die Zelldifferenzierung und Mineralisierung stört und die Aktivität von Osteoklasten erhöht (1, 6, 8-11, 19, 24, 59, 156, 158, 161, 211). Trotz bekannter Risiken ist Rauchen in Deutschland nach wie vor weit verbreitet und verursachte 2018 erhebliche rauchbedingte medizinische Mehrkosten von rund 27 Milliarden Euro (1, 6, 8, 11, 15, 17, 24, 27, 43, 59, 161). In Folge postoperativer Komplikationen kommt es für die Patienten zu einem prolongierten Heilungsverlauf und zu einer längeren Krankenhausaufenthaltsdauer, was wiederum das Gesundheitssystem und dessen Personal stark belastet (5, 21, 25, 26, 28).

Aus diesem Grund zielten unsere Untersuchungen im Rahmen der KIKS/AIQNET-Studie darauf ab, Risikopatienten in der Gruppe der Raucher frühzeitig zu identifizieren. Hierzu untersuchten wir rauchende Patienten mit dem Ziel, einen prädiktiven Marker zu identifizieren, wodurch eine bestmöglich angepasste Therapie geboten und einer Überlastung des Gesundheitssystems vorgebeugt werden könnte.

Im Zeitraum von Juli 2020 bis Oktober 2022 haben wir 897 Patienten aus verschiedensten Abteilungen für die Studie rekrutiert und ihr Rauchverhalten sowie relevante Parameter wie Alter, BMI, Trinkverhalten und Diabetesrisiko analysiert, um eine valide Untersuchung sicherzustellen.

Aktive Raucher wiesen im Vergleich zu Nichtrauchern einen signifikant längeren Krankenhausaufenthalt auf, auch wenn keine Komplikation vorlag. Männer rauchten in unserer Kohorte tendenziell häufiger als Frauen. Raucher wiesen eine höhere Rate sowohl an traumatischen als auch an infektionsbedingten Ereignissen auf. Sie wurden in unserem Kollektiv weniger aufgrund geplanter endoprothetische Eingriffe hospitalisiert. Die Analyse des SII zeigte eine signifikante Korrelation zwischen Rauchen und erhöhten systemischen Entzündungsreaktionen.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Analyse der Zytokine, die mittels Zytokinarrays identifiziert und durch Sandwich-ELISA quantifiziert wurden, zeigten unter anderem drei davon Auffälligkeiten im Regulationsmuster: CXCL9 (MIG), CD28 und CD80 (B7-1). Alle drei Zytokine können entweder mit dem Rauchen, entzündlichen Prozessen oder der Frakturheilung in Verbindung gebracht werden (63, 92, 106, 108, 121-132). Wir konnten nachweisen, dass eine Rauchentwöhnung zu einem Rückgang der MIG-Konzentration im Serum führte, wobei der CXCL9-Spiegel mit der Anzahl an Packungsjahre korrelierte. Aktive Raucher hatten bei auftretenden Komplikationen niedrigere MIG-Serumspiegel im Vergleich zu Nichtrauchern mit Komplikationen, was auf eine mögliche Erschöpfung des Immunsystems hinweist. Für B7-1 und CD28 wurden bei aktiven Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern leicht niedrigere Werte im Serumspiegel festgestellt, auch bei Patienten mit Komplikationen zeigten sich keine Signifikanzen.

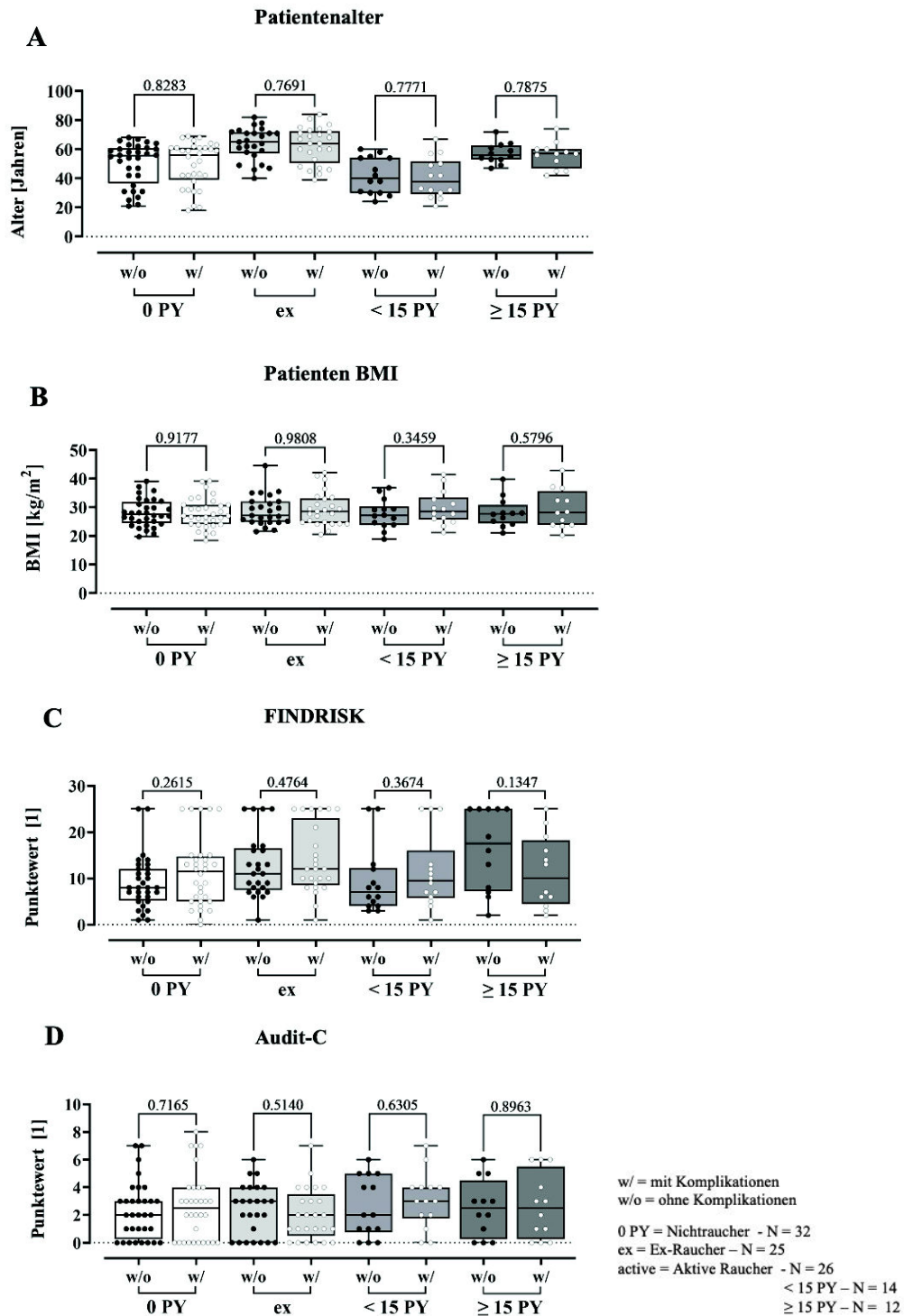
Unsere Studie bestätigt die negativen Auswirkungen des Rauchens auf die postoperative Genesung und die Immunreaktion. Es zeigt, dass Rauchen die Expression von Zytokinen beeinflusst, die Entzündungen und die Immunantwort regulieren, was mit früheren Studien übereinstimmt (1, 6, 7, 11, 24, 59, 63, 161).

Jedoch erwiesen sich keine der von uns analysierten Zytokine als zuverlässige prädiktive Marker für Komplikationen bei Rauchern. Dies könnte auf die begrenzte Auswahl an Zytokinen zurückzuführen sein, die an Entzündungsprozessen und Immunreaktionen beteiligt sind und für diese Studie mittels Array-Daten analysiert und anschließend mittels ELISA gemessen wurden. Ein weiterer Grund könnte sein, dass der Zytokinspiegel durch eine Vielzahl weiterer Faktoren beeinflusst wird.

Eine umfassendere Analyse der aufgeführten Faktoren sowie des Zytokinprofils wäre daher empfehlenswert.

8 Anhang

8.1 Auswertung der Fragebögen komplikationsabhängig (w/ and w/o Komplikationen) – Array Matching
Tümen et al. (137)



ANHANG

8.2 Anfrage zur Verwendung externen Abbildungen

Abbildung	Quellenangabe in Dissertation	Schriftverkehr mit Genehmigung von
<p>Abbildung 1: Gesundheitliche Folgen des Tabakrauchens aus dem Tabakatlas Deutschland 2020 des Deutschen Krebsforschungszentrum, S.19 (46)</p>	<p>46. Katrin Schaller SK, Laura Graen, Ute Mons, Nobilia Ouédraogo. Tabakatlas Deutschland 2020 [Website]. Deutsches Krebsforschungszentrum: 2020 [updated; cited.; Access Date: 12.12.23, 19:28. Available from: https://www.dkfz.de/de/krebspraevention/Downloads/pdf/Buecher_und_Berichte/2020_Tabakatlas-Deutschland-2020.pdf</p>	<p>i.A. Katrin Schaller Leitung (komm.) Stabsstelle Krebsprävention und WHO-Kollaborationszentrum für Tabakkontrolle Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg</p>
<p>Abbildung 4: Mechanismus Zytokin-/Microarray der Firma RayBio® (84,85)</p>	<p>84. Inc. R. RayBio® C-Series Human Cytokine Antibody Array C5 [Website]. 2021 [updated; cited.; Protokoll Zytokin-/Microarray RayBio Human Cytokine Array C5] Access Date: 12.12.2023, 16:00. Available from: https://doc.raybiotech.com/pdf/Manual/AAH-CYT-5.pdf</p> <p>85. Inc. R. RayBio® C-Series Human Cytokine Antibody Array C1 [Website]. 2015 [updated; cited.; Protokoll Human Cytokine Antibody Array C1 RayBio®] Access Date: 13.12.2023, 14:00. Available from: https://doc.raybiotech.com/pdf/Manual/AAH-CYT-1.pdf</p>	<p>i.A. Kelly Whittaker, Ph.D. Marketing & Technical Support Specialist RayBiotech®</p>

9 Literaturverzeichnis

1. Aspera-Werz RH, Mück J, Linnemann C, Herbst M, Ihle C, Histing T, et al. Nicotine and Cotinine Induce Neutrophil Extracellular Trap Formation-Potential Risk for Impaired Wound Healing in Smokers. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(12).
2. Prävention postoperativer Wundinfektionen: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2018;61(4):448-73.
3. Garabet W, Wolters K, Schelzig H, Rembe J-D. Postoperative Wundinfektionen. *Gefässchirurgie*. 2022;27(6):452-62.
4. Sørensen LT. Wound Healing and Infection in Surgery: The Clinical Impact of Smoking and Smoking Cessation: A Systematic Review and Meta-analysis. *Archives of Surgery*. 2012;147(4):373-83.
5. He Y, Omar M, Feng X, Neunaber C, Jagodzinski M. Impact of smoking on the incidence and post-operative complications of total knee arthroplasty: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Bosn J Basic Med Sci*. 2022;22(3):353-65.
6. Ehnert S, Aspera-Werz RH, Ihle C, Trost M, Zirn B, Flesch I, et al. Smoking Dependent Alterations in Bone Formation and Inflammation Represent Major Risk Factors for Complications Following Total Joint Arthroplasty. *J Clin Med*. 2019;8(3).
7. Mills E, Eyawo O, Lockhart I, Kelly S, Wu P, Ebbert JO. Smoking cessation reduces postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Am J Med*. 2011;124(2):144-54. e8.
8. Abate M, Vanni D, Pantalone A, Salini V. Cigarette smoking and musculoskeletal disorders. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2013;3(2):63-9.
9. Gaston MS, Simpson AHRW. Inhibition of fracture healing. *The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume*. 2007;89-B(12):1553-60.
10. Lee JJ, Patel R, Biermann JS, Dougherty PJ. The musculoskeletal effects of cigarette smoking. *J Bone Joint Surg Am*. 2013;95(9):850-9.
11. Aspera-Werz RH, Ehnert S, Müller M, Zhu S, Chen T, Weng W, et al. Assessment of tobacco heating system 2.4 on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and primary human osteoblasts compared to conventional cigarettes. *World J Stem Cells*. 2020;12(8):841-56.
12. Smolle MA, Leitner L, Böhler N, Seibert FJ, Glehr M, Leithner A. Fracture, nonunion and postoperative infection risk in the smoking orthopaedic patient: a systematic review and meta-analysis. *EFORT Open Rev*. 2021;6(11):1006-19.
13. Scolaro JA, Schenker ML, Yannascoli S, Baldwin K, Mehta S, Ahn J. Cigarette smoking increases complications following fracture: a systematic review. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(8):674-81.

LITERATURVERZEICHNIS

14. Lee EH, Lee KH, Lee KN, Park Y, Do Han K, Han SH. The Relation Between Cigarette Smoking and Development of Sepsis: A 10-Year Follow-Up Study of Four Million Adults from the National Health Screening Program. *J Epidemiol Glob Health*. 2024;14(2):444-52.
15. Nikotin/Tabak, Zahlen, Daten, Fakten [Website]. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e.V.; [updated; cited.; Access Date: 11.12.2023. Available from: <https://www.dhs.de/suechte/tabak>
16. Bundesministerium für Gesundheit. Rauchen [Webseite]. 2021 [updated 17. Dezember 2021; cited.; Access Date: 15.12.2023. Available from: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/r/rauchen.html#:~:text=Rauchen%20ist%20das%20größte%20vermeidbare,a n%20den%20Folgen%20des%20Tabakkonsums>.
17. Lugg ST, Scott A, Parekh D, Naidu B, Thickett DR. Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: mechanisms for lung disease. *Thorax*. 2022;77(1):94-101.
18. Addissouky TA, El Sayed IET, Ali MMA, Wang Y, El Baz A, Elarabany N, et al. Oxidative stress and inflammation: elucidating mechanisms of smoking-attributable pathology for therapeutic targeting. *Bulletin of the National Research Centre*. 2024;48(1):16.
19. Sloan A, Hussain I, Maqsood M, Eremin O, El-Sheemy M. The effects of smoking on fracture healing. *Surgeon*. 2010;8(2):111-6.
20. Xu Y, Huang TB, Schuetz MA, Choong PFM. Mortality, patient-reported outcome measures, and the health economic burden of prosthetic joint infection. *EFORT Open Rev*. 2023;8(9):690-7.
21. Badia JM, Casey AL, Petrosillo N, Hudson PM, Mitchell SA, Crosby C. Impact of surgical site infection on healthcare costs and patient outcomes: a systematic review in six European countries. *J Hosp Infect*. 2017;96(1):1-15.
22. Sculco TP. The economic impact of infected total joint arthroplasty. *Instr Course Lect*. 1993;42:349-51.
23. Nanwa N, Kendzerska T, Krahn M, Kwong JC, Daneman N, Witteman W, et al. The economic impact of *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(4):511-9.
24. Aspera-Werz RH, Chen T, Ehnert S, Zhu S, Fröhlich T, Nussler AK. Cigarette Smoke Induces the Risk of Metabolic Bone Diseases: Transforming Growth Factor Beta Signaling Impairment via Dysfunctional Primary Cilia Affects Migration, Proliferation, and Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12).
25. Khan NA, Quan H, Bugar JM, Lemaire JB, Brant R, Ghali WA. Association of postoperative complications with hospital costs and length of stay in a tertiary care center. *J Gen Intern Med*. 2006;21(2):177-80.
26. Vonlanthen R, Slankamenac K, Breitenstein S, Puhan MA, Muller MK, Hahnloser D, et al. The impact of complications on costs of major surgical procedures: a cost analysis of 1200 patients. *Ann Surg*. 2011;254(6):907-13.

LITERATURVERZEICHNIS

27. Effertz T. Die Kosten des Rauchens in Deutschland im Jahr 2018 – aktuelle Situation und langfristige Perspektive. *Atemwegs- und Lungenkrankheiten*. 2019;45:307-14.
28. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, De Laet C, Eisman JA, et al. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2005;16(2):155-62.
29. Drogenfragen DBdBfS-u. Nikotin- und Tabakkonsum in Deutschland [Webseite]. Der Beauftragte der Bundesregierung für Sucht- und Drogenfragen; 2023 [updated; cited.; Access Date: 12.06.2024. Available from: <https://datenportal.bundesdrogenbeauftragter.de/nikotin>
30. Goodchild M, Nargis N, Tursan d'Espaignet E. Global economic cost of smoking-attributable diseases. *Tob Control*. 2018;27(1):58-64.
31. Blanchet MR, Israël-Assayag E, Cormier Y. Inhibitory effect of nicotine on experimental hypersensitivity pneumonitis in vivo and in vitro. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169(8):903-9.
32. Geng Y, Savage SM, Johnson LJ, Seagrave J, Sopori ML. Effects of nicotine on the immune response. I. Chronic exposure to nicotine impairs antigen receptor-mediated signal transduction in lymphocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1995;135(2):268-78.
33. Qiu F, Liang CL, Liu H, Zeng YQ, Hou S, Huang S, et al. Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down? *Oncotarget*. 2017;8(1):268-84.
34. Saint-André V, Charbit B, Biton A, Rouilly V, Possémé C, Bertrand A, et al. Smoking changes adaptive immunity with persistent effects. *Nature*. 2024;626(8000):827-35.
35. Chen H, Cowan MJ, Hasday JD, Vogel SN, Medvedev AE. Tobacco smoking inhibits expression of proinflammatory cytokines and activation of IL-1R-associated kinase, p38, and NF-kappaB in alveolar macrophages stimulated with TLR2 and TLR4 agonists. *J Immunol*. 2007;179(9):6097-106.
36. Statistisches Bundesamt (Die Berichterstattung des Bundes). Rauchen [Website]. Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2006 [updated; cited.; Access Date: 11.12.2023. Available from: <https://www.gbe-bund.de/glossar/Rauchen.html>
37. Institut RK. Gesundheit in Deutschland aktuell - GEDA 2019/2020-EHIS [Website]. 2022 [updated 21.Dezember 2022; cited.; Rauchverhalten in Deutschland]Access Date: 28.01.2024. Available from: https://public.tableau.com/app/profile/robert.koch.institut/viz/Gesundheit_in_Deutschland_aktuell/GEDA_20192020-EHIS
38. Koopmann A, Georgiadou E, Reinhard I, Müller A, Lemenager T, Kiefer F, et al. The Effects of the Lockdown during the COVID-19 Pandemic on Alcohol and Tobacco Consumption Behavior in Germany. *Eur Addict Res*. 2021;27(4):242-56.

LITERATURVERZEICHNIS

39. Kastaun S, Brown J, Brose LS, Ratschen E, Raupach T, Nowak D, et al. Study protocol of the German Study on Tobacco Use (DEBRA): a national household survey of smoking behaviour and cessation. *BMC Public Health*. 2017;17(1):378.
40. DEBRA DBzR-. Tabakrauchen [Website]. Deutsche Befragung zum Rauchverhalten - DEBRA Studie; 2024 [updated 05/2024; cited.; Access Date: 08.06.2024. Available from: <https://www.debra-study.info/>
41. Gesundheit Bf. Rauchen: 2024 [updated 3.Januar 2024; cited.; Access Date: 03.05.2024. Available from: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/r/rauchen>
42. El-Zawawy HB, Gill CS, Wright RW, Sandell LJ. Smoking delays chondrogenesis in a mouse model of closed tibial fracture healing. *J Orthop Res*. 2006;24(12):2150-8.
43. Bauer-Kemény C, Herth FJF. [Smoking-toxic substances and immunological consequences]. *Radiologie (Heidelb)*. 2022;62(9):731-7.
44. Li Y, Hecht SS. Carcinogenic components of tobacco and tobacco smoke: A 2022 update. *Food Chem Toxicol*. 2022;165:113179.
45. Nicotine and health. *Drug Ther Bull*. 2014;52(7):78-81.
46. Katrin Schaller SK, Laura Graen, Ute Mons, Nobilia Ouédraogo. Tabakatlas Deutschland 2020 [Website]. Deutsches Krebsforschungszentrum: 2020 [updated; cited.; Access Date: 12.12.2023. Available from: https://www.dkfz.de/de/krebspraevention/Downloads/pdf/Buecher_und_Berichte/2020_Tabakatlas-Deutschland-2020.pdf
47. Pavia CS, Plummer MM. Clinical implications of nicotine as an antimicrobial agent and immune modulator. *Biomed Pharmacother*. 2020;129:110404.
48. Morris TM, Marlborough FJ, Montgomery RJ, Allison KP, Eardley WGP. Smoking and the patient with a complex lower limb injury. *Injury*. 2021;52(4):814-24.
49. Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Schaller K, Batra A, Lindinger P, Nair U. Fakten zum Rauchen - Nikotin (Pharmakologische Wirkung und Entstehung der Abhängigkeit) [Website]. www.tabakkontrolle.de: dkfz. (Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg); 2008 [updated; cited.; Nikotin] Access Date: 23.01.2024. Available from: https://www.dkfz.de/de/rauchertelefon/download/FzR_Nikotin.pdf
50. Chowdhury NJ, Nessa A, Begum M, Nabi MA, Matin NI. Relationship between Pack Year and Lung Function Parameters in Asymptomatic Smokers. *Mymensingh Med J*. 2021;30(2):509-13.
51. Pleasants RA, Rivera MP, Tilley SL, Bhatt SP. Both Duration and Pack-Years of Tobacco Smoking Should Be Used for Clinical Practice and Research. *Ann Am Thorac Soc*. 2020;17(7):804-6.

LITERATURVERZEICHNIS

52. Bundesministerium für Gesundheit gbd. Rauchen und Rauchentwöhnung [Website]. gesund.bund.de; 2022 [updated 08.11.2022; cited.]; Auswirkungen des Rauchens [Access Date: 12.12.2023. Available from: <https://gesund.bund.de/rauchen>
53. Andersen AM, Lei MK, Beach SRH, Philibert RA. Inflammatory biomarker relationships with helper T cell GPR15 expression and cannabis and tobacco smoking. *J Psychosom Res.* 2021;141:110326.
54. Mao Y, Huang P, Wang Y, Wang M, Li MD, Yang Z. Genome-wide methylation and expression analyses reveal the epigenetic landscape of immune-related diseases for tobacco smoking. *Clin Epigenetics.* 2021;13(1):215.
55. Ishida M, Sakai C, Kobayashi Y, Ishida T. Cigarette Smoking and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *J Atheroscler Thromb.* 2024;31(3):189-200.
56. Pan A, Wang Y, Talaei M, Hu FB, Wu T. Relation of active, passive, and quitting smoking with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3(12):958-67.
57. Brath H, Kaser S, Tatschl C, Fischer-See S, Fasching P. [Smoking, heated tobacco products, alcohol and diabetes mellitus (update 2023)]. *Wien Klin Wochenschr.* 2023;135(Suppl 1):84-90.
58. Dahdah A, Jaggars RM, Sreejit G, Johnson J, Kanuri B, Murphy AJ, et al. Immunological Insights into Cigarette Smoking-Induced Cardiovascular Disease Risk. *Cells.* 2022;11(20).
59. Weng W, Bovard D, Zanetti F, Ehnert S, Braun B, Uynuk-Ool T, et al. Tobacco heating system has less impact on bone metabolism than cigarette smoke. *Food Chem Toxicol.* 2023;173:113637.
60. Mach L, Bedanova H, Soucek M, Karpisek M, Nemec P, Orban M. Tobacco smoking and cytokine levels in human epicardial adipose tissue: Impact of smoking cessation. *Atherosclerosis.* 2016;255:37-42.
61. Raupach T, Radon K, Nowak D, Andreas S. [Passive smoking--health consequences and effects of exposure prevention]. *Pneumologie.* 2008;62(1):44-50.
62. Dietrich G, Terrier A, Favre M, Elmers J, Stockton L, Soppelsa D, et al. Influence of smoking on the healing of conservatively treated displaced midshaft clavicle fractures. *Bone Joint J.* 2023;105-b(7):801-7.
63. Wang H, Chen H, Fu Y, Liu M, Zhang J, Han S, et al. Effects of Smoking on Inflammatory-Related Cytokine Levels in Human Serum. *Molecules.* 2022;27(12).
64. Batatinha HAP, Rosa Neto JC, Krüger K. Inflammatory features of obesity and smoke exposure and the immunologic effects of exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2019;25:96-111.

LITERATURVERZEICHNIS

65. Theiss SM, Boden SD, Hair G, Titus L, Morone MA, Ugbo J. The effect of nicotine on gene expression during spine fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000;25(20):2588-94.
66. Derella CC, Tingen MS, Blanks A, Sojourner SJ, Tucker MA, Thomas J, et al. Smoking cessation reduces systemic inflammation and circulating endothelin-1. *Scientific Reports*. 2021;11(1):24122.
67. Pamminger M, Mayr A. [Cardiovascular consequences of smoking : Imaging overview]. *Radiologie (Heidelb)*. 2022;62(9):763-71.
68. 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.
69. Faß H. Die häufigsten postoperativen Komplikationen. In: Faß H, editor. *Lehrbuch der Chirurgie: für Unterricht und Praxis in der Krankenpflege*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1982. p. 272-86.
70. Claus A, Asche G, Brade J, Bosing-Schwenkglens M, Horchler H, Müller-Färber J, et al. [Risk profiling of postoperative complications in 17,644 total knee replacements]. *Unfallchirurg*. 2006;109(1):5-12.
71. Ayode F, Li DD, Mabrouk A, Todd JR. *Periprosthetic Joint Infection*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
72. Tønnesen H, Faurschou P, Ralov H, Mølgaard-Nielsen D, Thomas G, Backer V. Risk reduction before surgery. The role of the primary care provider in preoperative smoking and alcohol cessation. *BMC Health Serv Res*. 2010;10:121.
73. Murphy K, Weaver C. *Grundbegriffe der Immunologie*. In: Murphy K, Weaver C, editors. *Janeway Immunologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 3-46.
74. *Bundesgesundheitsblatt. Bedeutung von Zytokinbestimmungen in der umweltmedizinischen Praxis [Webseite]*. Robert-Koch-Institut: Robert-Koch-Institut; 2004 [updated; cited.; Access Date: 19.06.2023. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/UmweltKommission/Archiv/Zytokinbestimmung.pdf?__blob=publicationFile
75. Thomas L. 20.1 Zytokine und Zytokinrezeptoren; Definition, Klassifizierung, Struktur und Funktion der Zytokine [Webseite]. [updated; cited.; Access Date: 16.01.2024. Available from: <https://www.labor-und-diagnose.de/k20.html>
76. Oppenheim JJ. Cytokines: past, present, and future. *Int J Hematol*. 2001;74(1):3-8.
77. Floege J, Lüscher B, Müller-Newen G. Cytokines and inflammation. *Eur J Cell Biol*. 2012;91(6-7):427.
78. Piao WH, Campagnolo D, Dayao C, Lukas RJ, Wu J, Shi FD. Nicotine and inflammatory neurological disorders. *Acta Pharmacol Sin*. 2009;30(6):715-22.

LITERATURVERZEICHNIS

79. Ecosystem AMD. [Website]. [updated; cited.; Projekt KIKS/AIQNET gefördert durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz (Projektgewinn 2019)]Access Date: 19.06.2023. Available from: <https://aiqnet.eu>
80. Klimaschutz BfWu. AIQNET - Medical Data Ecosystem [Webseite]. Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz; [updated; cited 17.01.2024, 17:00]. Access Date: 17.01.2024. Available from: https://www.digitale-technologien.de/DT/Redaktion/DE/Standardartikel/KuenstlicheIntelligenzProjekt e/KuenstlicheIntelligenz_ErsterFoerderaufruf/ki-projekt_AIQNET.html
81. E-HEALTH-COM. BioRegio: AIQNET - Pioniere im modernen Gesundheitswesen - BG Klinik Tübingen nutzt KI zur Identifikation von Risikopatienten [Webseite]. HEALTH-CARE-COM GmbH; 2020 [updated 03.12.2020; cited.; Access Date: 18.01.2024. Available from: <https://e-health-com.de/details-unternehmensnews/bioregio-stern-aiqnet-pioniere-im-modernen-gesundheitswesen/>
82. 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.
83. Bogner V, Mutschler W. [Microarrays as biomarkers in trauma]. *Unfallchirurg.* 2014;117(8):686-92.
84. Inc. R. RayBio® C-Series Human Cytokine Antibody Array C5 [Website]. 2021 [updated; cited.; Protokoll Zytokin-/Microarray RayBio Human Cytokine Array C5]Access Date: 12.12.2023. Available from: <https://doc.raybiotech.com/pdf/Manual/AAH-CYT-5.pdf>
85. Inc. R. RayBio® C-Series Human Cytokine Antibody Array C1 [Website]. 2015 [updated; cited.; Protokoll Zytokin-/Microarray RayBio Human Cytokine Array C1]Access Date: 13.12.2023. Available from: <https://doc.raybiotech.com/pdf/Manual/AAH-CYT-1.pdf>
86. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(10):a016295.
87. Uciechowski P, Dempke WCM. Interleukin-6: A Masterplayer in the Cytokine Network. *Oncology.* 2020;98(3):131-7.
88. Yazdi AS, Ghoreschi K. The Interleukin-1 Family. *Adv Exp Med Biol.* 2016;941:21-9.
89. Verstockt B, Salas A, Sands BE, Abraham C, Leibovitzh H, Neurath MF, et al. IL-12 and IL-23 pathway inhibition in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2023;20(7):433-46.
90. Fu B, Xiong Y, Sha Z, Xue W, Xu B, Tan S, et al. SEPTIN2 suppresses an IFN- γ -independent, proinflammatory macrophage activation pathway. *Nat Commun.* 2023;14(1):7441.
91. Paparo SR. The MIG Chemokine in Inflammatory Myopathies. *Clin Ter.* 2019;170(1):e55-e60.

LITERATURVERZEICHNIS

92. Hünig T, Lühder F, Elflein K, Gogishvili T, Fröhlich M, Guler R, et al. CD28 and IL-4: two heavyweights controlling the balance between immunity and inflammation. *Med Microbiol Immunol.* 2010;199(3):239-46.
93. Scarpa M, Marchiori C, Scarpa M, Castagliuolo I. CD80 expression is upregulated by TP53 activation in human cancer epithelial cells. *Oncoimmunology.* 2021;10(1):1907912.
94. Grassi F, Manferdini C, Cattini L, Piacentini A, Gabusi E, Facchini A, et al. T cell suppression by osteoclasts in vitro. *J Cell Physiol.* 2011;226(4):982-90.
95. Vasu C, Wang A, Gorla SR, Kaithamana S, Prabhakar BS, Holterman MJ. CD80 and CD86 C domains play an important role in receptor binding and co-stimulatory properties. *Int Immunol.* 2003;15(2):167-75.
96. Gabriel R, Acosta T, Florez K, Anillo L, Navarro E, Boukichou N, et al. Validation of the Finnish Type 2 Diabetes Risk Score (FINDRISC) with the OGTT in Health Care Practices in Europe. *Diabetes Res Clin Pract.* 2021;178:108976.
97. Kondrup J, Rasmussen HH, Hamberg O, Stanga Z. Nutritional risk screening (NRS 2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials. *Clin Nutr.* 2003;22(3):321-36.
98. Liskola J, Haravuori H, Lindberg N, Niemelä S, Karlsson L, Kiviruusu O, et al. AUDIT and AUDIT-C as screening instruments for alcohol problem use in adolescents. *Drug Alcohol Depend.* 2018;188:266-73.
99. Latza U HW, Terschüren C, Chang-Claude J, Kreuzer M, Schaffrath Rosario A, Kropp A, Stang A, Ahrens W, Lampert T. Erhebung, Quantifizierung und Analyse der Rauchexposition in epidemiologischen Studien: Robert Koch-Institut; [updated; cited.; Access Date: 19.01.2024. Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Themen/Rauchen/Rauchexposition_epidstudien.pdf?__blob=publicationFile
100. Leidl R, Reitmeir P. An Experience-Based Value Set for the EQ-5D-5L in Germany. *Value Health.* 2017;20(8):1150-6.
101. Schreckenberger Y DKV. Fragebogen EQ-5D-5L [Webseite]. Heartbeat Medical; 2021 [updated; cited.; validierter Fragebogen EQ-5D-L]Access Date: 10.01.2024. Available from: <https://heartbeat-med.com/de/resources/eq-5d-5l/>
102. Gandek B, Ware JE, Aaronson NK, Apolone G, Bjorner JB, Brazier JE, et al. Cross-validation of item selection and scoring for the SF-12 Health Survey in nine countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. J Clin Epidemiol.* 1998;51(11):1171-8.
103. Schreckenberger Y DKV. Short Form 12 (SF-12) [Webseite]. 2021 [updated; cited.; validierter Fragenbogen SF-12]Access Date: 19.01.2024. Available from: <https://heartbeat-med.com/de/resources/short-form-12-sf-12/>
104. 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.

LITERATURVERZEICHNIS

105. Okiyama N, Tanaka R. Immune-related adverse events in various organs caused by immune checkpoint inhibitors. *Allergol Int.* 2022;71(2):169-78.
106. Mulligan JK, O'Connell BP, Pasquini W, Mulligan RM, Smith S, Soler ZM, et al. Impact of tobacco smoke on upper airway dendritic cell accumulation and regulation by sinonasal epithelial cells. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2017;7(8):777-85.
107. Nolan A, Kobayashi H, Naveed B, Kelly A, Hoshino Y, Hoshino S, et al. Differential role for CD80 and CD86 in the regulation of the innate immune response in murine polymicrobial sepsis. *PLoS One.* 2009;4(8):e6600.
108. Seo DH, Corr M, Patel S, Lui LY, Cauley JA, Evans D, et al. Chemokine CXCL9, a marker of inflammaging, is associated with changes of muscle strength and mortality in older men. *Osteoporos Int.* 2024;35(10):1789-96.
109. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury.* 2011;42(6):551-5.
110. Chen Y, Wang Y, Tang R, Yang J, Dou C, Dong Y, et al. Dendritic cells-derived interferon- λ 1 ameliorated inflammatory bone destruction through inhibiting osteoclastogenesis. *Cell Death Dis.* 2020;11(6):414.
111. Clark AK, Staniland AA, Malcangio M. Fractalkine/CX3CR1 signalling in chronic pain and inflammation. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011;12(10):1707-14.
112. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. Sepsis and septic shock. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2:16045.
113. Jordan SC, Choi J, Kim I, Wu G, Toyoda M, Shin B, et al. Interleukin-6, A Cytokine Critical to Mediation of Inflammation, Autoimmunity and Allograft Rejection: Therapeutic Implications of IL-6 Receptor Blockade. *Transplantation.* 2017;101(1):32-44.
114. Melchiades JL, Zabaglia LM, Sallas ML, Orcini WA, Chen E, Smith MAC, et al. Polymorphisms and haplotypes of the interleukin 2 gene are associated with an increased risk of gastric cancer. The possible involvement of *Helicobacter pylori*. *Cytokine.* 2017;96:203-7.
115. Picca A, Calvani R, Coelho-Júnior HJ, Marini F, Landi F, Marzetti E. Circulating Inflammatory, Mitochondrial Dysfunction, and Senescence-Related Markers in Older Adults with Physical Frailty and Sarcopenia: A BIOSPHERE Exploratory Study. *Int J Mol Sci.* 2022;23(22).
116. Wei T, Zhu Z, Liu L, Liu B, Wu M, Zhang W, et al. Circulating levels of cytokines and risk of cardiovascular disease: a Mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1175421.
117. Moon HG, Kim SJ, Kim KH, Kim YM, Rehman J, Lee H, et al. CX(3)CR(1)(+) Macrophage Facilitates the Resolution of Allergic Lung Inflammation via Interacting CCL26. *Am J Respir Crit Care Med.* 2023;207(11):1451-63.

LITERATURVERZEICHNIS

118. Commins SP, Borish L, Steinke JW. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2 Suppl 2):S53-72.
119. Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int Immunopharmacol.* 2021;101(Pt B):107598.
120. Baggiolini M, Clark-Lewis I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett.* 1992;307(1):97-101.
121. Arabpour M, Saghadzadeh A, Rezaei N. Anti-inflammatory and M2 macrophage polarization-promoting effect of mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Int Immunopharmacol.* 2021;97:107823.
122. Koper OM, Kamińska J, Sawicki K, Kemona H. CXCL9, CXCL10, CXCL11, and their receptor (CXCR3) in neuroinflammation and neurodegeneration. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(6):849-56.
123. Takahashi HK, Iwagaki H, Hamano R, Kanke T, Liu K, Sadamori H, et al. The immunosuppressive effects of nicotine during human mixed lymphocyte reaction. *Eur J Pharmacol.* 2007;559(1):69-74.
124. Prado C, Iruretagoyena M, Burgos PI, Pacheco R. Smoking promotes exacerbated inflammatory features in dendritic cells of Chilean rheumatoid arthritis patients. *Rev Med Chil.* 2018;146(2):150-9.
125. Ganesan A, Moon TC, Barakat KH. Revealing the atomistic details behind the binding of B7-1 to CD28 and CTLA-4: A comprehensive protein-protein modelling study. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018;1862(12):2764-78.
126. Liu YC, Shou ST, Chai YF. Immune checkpoints in sepsis: New hopes and challenges. *Int Rev Immunol.* 2022;41(2):207-16.
127. Zhang S, Petro TM. The effect of nicotine on murine CD4 T cell responses. *Int J Immunopharmacol.* 1996;18(8-9):467-78.
128. Stefanowski J, Lang A, Rauch A, Aulich L, Köhler M, Fiedler AF, et al. Spatial Distribution of Macrophages During Callus Formation and Maturation Reveals Close Crosstalk Between Macrophages and Newly Forming Vessels. *Front Immunol.* 2019;10:2588.
129. Bratke K, Klug M, Bier A, Julius P, Kuepper M, Virchow JC, et al. Function-associated surface molecules on airway dendritic cells in cigarette smokers. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008;38(6):655-60.
130. de la Iglesia JV, Slebos RJC, Martin-Gomez L, Wang X, Teer JK, Tan AC, et al. Effects of Tobacco Smoking on the Tumor Immune Microenvironment in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2020;26(6):1474-85.
131. Leddon SA, Fettis MM, Abramo K, Kelly R, Oleksyn D, Miller J. The CD28 Transmembrane Domain Contains an Essential Dimerization Motif. *Front Immunol.* 2020;11:1519.

LITERATURVERZEICHNIS

132. Gao FG, Li HT, Li ZJ, Gu JR. Nicotine stimulated dendritic cells could achieve anti-tumor effects in mouse lung and liver cancer. *J Clin Immunol*. 2011;31(1):80-8.
133. Systems b-tRD. ELISA GUIDE - A clear and easy guide to ELISAs [Website]. [updated; cited.; Access Date: 22.12.2023. Available from: https://resources.rndsystems.com/pdfs/brochures/rndsystems_br_elisa_guide_a_sdfy20-10071.pdf?_ga=2.178873964.950618493.1705943687-101249494.1705943687
134. Wong J, Lam DP, Abrishami A, Chan MT, Chung F. Short-term preoperative smoking cessation and postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Can J Anaesth*. 2012;59(3):268-79.
135. Sharath SE, Chin-Bong Choi J, Ollison J, Koungias P. Association Between Pack-Years and Smoking Cessation on Outcomes After Vascular Interventions. *J Surg Res*. 2024;300:534-41.
136. Fan H, Zhang X. Effects of smoking intensity trajectory, cumulative smoking exposure, and the number of years since quitting on the subsequent risk of hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2022;24(7):937-44.
137. Tümen L, Pollmann-Schweckhorst L, Breinbauer R, Hammour MM, Aspera-Werz RH, Blumenstock G, et al. Smoking increases risk of complication after musculoskeletal surgery: analysis of single immune parameter to predict complication risk. *EXCLI Journal*. 2024;23:967-90.
138. Minutillo A, Pacifici R, Scaravelli G, De Luca R, Palmi I, Mortali C, et al. Gender disparity in addiction: an Italian epidemiological sketch. *Ann Ist Super Sanita*. 2016;52(2):176-83.
139. Shiffman S, Paton SM. Individual differences in smoking: gender and nicotine addiction. *Nicotine Tob Res*. 1999;1 Suppl 2:S153-7; discussion S65-6.
140. Shiels MS, Katki HA, Freedman ND, Purdue MP, Wentzensen N, Trabert B, et al. Cigarette Smoking and Variations in Systemic Immune and Inflammation Markers. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2014;106(11).
141. Zhao Y, Shao W, Zhu Q, Zhang R, Sun T, Wang B, et al. Association between systemic immune-inflammation index and metabolic syndrome and its components: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2011-2016. *J Transl Med*. 2023;21(1):691.
142. Liu B, Wang J, Li YY, Li KP, Zhang Q. The association between systemic immune-inflammation index and rheumatoid arthritis: evidence from NHANES 1999-2018. *Arthritis Res Ther*. 2023;25(1):34.
143. Ding Q, Lu P, Xia Y, Ding S, Fan Y, Li X, et al. CXCL9: evidence and contradictions for its role in tumor progression. *Cancer Med*. 2016;5(11):3246-59.
144. Elia G, Guglielmi G. CXCL9 chemokine in ulcerative colitis. *Clin Ter*. 2018;169(5):e235-e41.

LITERATURVERZEICHNIS

145. Tokunaga R, Zhang W, Naseem M, Puccini A, Berger MD, Soni S, et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation - A target for novel cancer therapy. *Cancer Treat Rev.* 2018;63:40-7.
146. Gasperini S, Marchi M, Calzetti F, Laudanna C, Vicentini L, Olsen H, et al. Gene expression and production of the monokine induced by IFN-gamma (MIG), IFN-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC), and IFN-gamma-inducible protein-10 (IP-10) chemokines by human neutrophils. *J Immunol.* 1999;162(8):4928-37.
147. Kwak EL, Sordella R, Bell DW, Godin-Heymann N, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Irreversible inhibitors of the EGF receptor may circumvent acquired resistance to gefitinib. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(21):7665-70.
148. CD80/B7-1 [Internet]. [cited 17.01.2024]. Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000121594-CD80>.
149. Jubel JM, Randau TM, Becker-Gotot J, Scheidt S, Wimmer MD, Kohlhof H, et al. sCD28, sCD80, sCTLA-4, and sBTLA Are Promising Markers in Diagnostic and Therapeutic Approaches for Aseptic Loosening and Periprosthetic Joint Infection. *Front Immunol.* 2021;12:687065.
150. van der Merwe PA, Bodian DL, Daenke S, Linsley P, Davis SJ. CD80 (B7-1) Binds Both CD28 and CTLA-4 with a Low Affinity and Very Fast Kinetics. *Journal of Experimental Medicine.* 1997;185(3):393-404.
151. Lanier LL, O'Fallon S, Somoza C, Phillips JH, Linsley PS, Okumura K, et al. CD80 (B7) and CD86 (B70) provide similar costimulatory signals for T cell proliferation, cytokine production, and generation of CTL. *J Immunol.* 1995;154(1):97-105.
152. Esensten JH, Helou YA, Chopra G, Weiss A, Bluestone JA. CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy. *Immunity.* 2016;44(5):973-88.
153. Abidi NA, Dhawan S, Gruen GS, Vogt MT, Conti SF. Wound-Healing Risk Factors After Open Reduction and Internal Fixation of Calcaneal Fractures. *Foot & Ankle International.* 1998;19(12):856-61.
154. Duthon VB, Ozturk M, El-Achachi S, Menetrey J. [Deleterious effects of smoking on the musculoskeletal system]. *Rev Med Suisse.* 2014;10(437):1466-71.
155. Grønkjær M, Eliassen M, Skov-Ettrup LS, Tolstrup JS, Christiansen AH, Mikkelsen SS, et al. Preoperative smoking status and postoperative complications: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg.* 2014;259(1):52-71.
156. Rudäng R, Darelid A, Nilsson M, Nilsson S, Mellström D, Ohlsson C, et al. Smoking is associated with impaired bone mass development in young adult men: a 5-year longitudinal study. *J Bone Miner Res.* 2012;27(10):2189-97.
157. Ferro TN, Goslar PW, Romanovsky AA, Petersen SR. Smoking in trauma patients: the effects on the incidence of sepsis, respiratory failure, organ failure, and mortality. *J Trauma.* 2010;69(2):308-12.

LITERATURVERZEICHNIS

158. Porter SE, Hanley EN, Jr. The musculoskeletal effects of smoking. *J Am Acad Orthop Surg.* 2001;9(1):9-17.
159. Ahmad SS, Orlik L, Ahmad SJS, Albers CE, Siebenrock KA, Klenke FM. Obesity and smoking predict the results of two-stage exchange in septic revision hip arthroplasty: A cohort study. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2019;105(3):467-71.
160. Truntzer J, Vopat B, Feldstein M, Matityahu A. Smoking cessation and bone healing: optimal cessation timing. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2015;25(2):211-5.
161. Chen Y, Aspera-Werz RH, Menger MM, Falldorf K, Ronniger M, Stacke C, et al. Exposure to 16 Hz Pulsed Electromagnetic Fields Protect the Structural Integrity of Primary Cilia and Associated TGF- β Signaling in Osteoprogenitor Cells Harmed by Cigarette Smoke. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13).
162. Hartmann T, Marino F, Duffield R. Tobacco smoking and acute exercise on immune-inflammatory responses among relative short and longer smoking histories. *Cytokine.* 2019;123:154754.
163. Starker A, Kuhnert R, Hoebel J, Richter A. Smoking behaviour and passive smoke exposure of adults - Results from GEDA 2019/2020-EHIS. *J Health Monit.* 2022;7(3):6-20.
164. Goodman GD, Kaufman J, Day D, Weiss R, Kawata AK, Garcia JK, et al. Impact of Smoking and Alcohol Use on Facial Aging in Women: Results of a Large Multinational, Multiracial, Cross-sectional Survey. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2019;12(8):28-39.
165. Khan F, Judge EP, Das JP, White D, Ingram C, Keane MP, et al. Effects of Active Chronic Cigarette-Smoke Exposure on Circulating Fibrocytes. *Lung.* 2024;202(4):431-40.
166. Pérez-Pérez ME, Nieto-Torres E, Bollain YGJJ, Delgadillo-Ruíz L. Protein Citrullination by Peptidyl Arginine Deiminase/Arginine Deiminase Homologs in Members of the Human Microbiota and Its Recognition by Anti-Citrullinated Protein Antibodies. *Int J Mol Sci.* 2024;25(10).
167. Hitchman SC, Fong GT. Gender empowerment and female-to-male smoking prevalence ratios. *Bull World Health Organ.* 2011;89(3):195-202.
168. Haddad C, Bou Malhab S, Sacre H, Salameh P. Smoking and COVID-19: A Scoping Review. *Tob Use Insights.* 2021;14:1179173x21994612.
169. Zeyfang A, Zeeh J, Bahrmann A, Kugler JN, Heppner HJ. [Diabetes mellitus in old age]. *Z Gerontol Geriatr.* 2021;54(1):61-71.
170. Ehnert S, Freude T, Ihle C, Mayer L, Braun B, Graeser J, et al. Factors circulating in the blood of type 2 diabetes mellitus patients affect osteoblast maturation - description of a novel in vitro model. *Exp Cell Res.* 2015;332(2):247-58.

LITERATURVERZEICHNIS

171. Chao AM, Wadden TA, Ashare RL, Loughead J, Schmidt HD. Tobacco Smoking, Eating Behaviors, and Body Weight: A Review. *Curr Addict Rep.* 2019;6:191-9.
172. Zhang J, Jiang J, Qin Y, Zhang Y, Wu Y, Xu H. Systemic immune-inflammation index is associated with decreased bone mass density and osteoporosis in postmenopausal women but not in premenopausal women. *Endocr Connect.* 2023;12(2).
173. Chen JH, Zhai ET, Yuan YJ, Wu KM, Xu JB, Peng JJ, et al. Systemic immune-inflammation index for predicting prognosis of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2017;23(34):6261-72.
174. Zhou Y, Dai M, Zhang Z. Prognostic Significance of the Systemic Immune-Inflammation Index (SII) in Patients With Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2022;12:814727.
175. Huang H, Liu Q, Zhu L, Zhang Y, Lu X, Wu Y, et al. Prognostic Value of Preoperative Systemic Immune-Inflammation Index in Patients with Cervical Cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):3284.
176. Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(8):486-99.
177. Yang YW, Wu CH, Tsai HT, Chen YR, Chang YP, Han YY, et al. Dynamics of immune responses are inconsistent when trauma patients are grouped by injury severity score and clinical outcomes. *Sci Rep.* 2023;13(1):1391.
178. Sørensen LT, Jørgensen S, Petersen LJ, Hemmingsen U, Bülow J, Loft S, et al. Acute effects of nicotine and smoking on blood flow, tissue oxygen, and aerobic metabolism of the skin and subcutis. *J Surg Res.* 2009;152(2):224-30.
179. Hahad O, Kuntic M, Kuntic I, Daiber A, Münzel T. Tobacco smoking and vascular biology and function: evidence from human studies. *Pflugers Arch.* 2023;475(7):797-805.
180. Leow YH, Maibach HI. Cigarette smoking, cutaneous vasculature, and tissue oxygen. *Clin Dermatol.* 1998;16(5):579-84.
181. Larsen R. Physiologie der Atmung. In: Larsen R, editor. *Anästhesie und Intensivmedizin für die Fachpflege.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. p. 696-708.
182. Maddatu J, Anderson-Baucum E, Evans-Molina C. Smoking and the risk of type 2 diabetes. *Transl Res.* 2017;184:101-7.
183. Kalaoja M, Corbin LJ, Tan VY, Ahola-Olli AV, Havulinna AS, Santalahti K, et al. The Role of Inflammatory Cytokines as Intermediates in the Pathway from Increased Adiposity to Disease. *Obesity (Silver Spring).* 2021;29(2):428-37.
184. Xu B, Anderson DB, Park ES, Chen L, Lee JH. The influence of smoking and alcohol on bone healing: Systematic review and meta-analysis of non-pathological fractures. *EClinicalMedicine.* 2021;42:101179.
185. Zierle-Ghosh A, Jan A. *Physiology, Body Mass Index.* StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

LITERATURVERZEICHNIS

Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.

186. Thielmann B, Böckelmann I, Schumann H. [Drinking behavior at the beginning and during the SARS-CoV-2 pandemic: results of a literature review]. *Notf Rett Med.* 2022;1-7.
187. Durlach V, Vergès B, Al-Salameh A, Bahougne T, Benzerouk F, Berlin I, et al. Smoking and diabetes interplay: A comprehensive review and joint statement. *Diabetes Metab.* 2022;48(6):101370.
188. Harreiter J, Roden M. [Diabetes mellitus: definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2023)]. *Wien Klin Wochenschr.* 2023;135(Suppl 1):7-17.
189. Schienkiewitz A, Damerow S, Schaffrath Rosario A, Kurth B-M. Body-Mass-Index von Kindern und Jugendlichen: Prävalenzen und Verteilung unter Berücksichtigung von Untergewicht und extremer Adipositas. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz.* 2019;62(10):1225-34.
190. Schienkiewitz A, Kuhnert R, Blume M, Mensink GBM. Overweight and obesity among adults in Germany - Results from GEDA 2019/2020-EHIS. *J Health Monit.* 2022;7(3):21-8.
191. Hanoun A, Steele-Turner B, Chandratreya A. Knee Osteoarthritis in Patients With High BMI: The Role of an Orthopaedic Surgeon. *Cureus.* 2023;15(11):e48464.
192. Wirtz PH, Ehlert U, Emini L, Suter T. Higher body mass index (BMI) is associated with reduced glucocorticoid inhibition of inflammatory cytokine production following acute psychosocial stress in men. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33(8):1102-10.
193. Zong Q, Bundkirchen K, Neunaber C, Noack S. Effect of High BMI on Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *Cell Transplant.* 2024;33:9636897241226546.
194. 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).
195. Simeoni E, Hoffmann MM, Winkelmann BR, Ruiz J, Fleury S, Boehm BO, et al. Association between the A-2518G polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 gene and insulin resistance and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2004;47(9):1574-80.
196. Piemonti L, Calori G, Lattuada G, Mercalli A, Ragogna F, Garancini MP, et al. Association between plasma monocyte chemoattractant protein-1 concentration and cardiovascular disease mortality in middle-aged diabetic and nondiabetic individuals. *Diabetes Care.* 2009;32(11):2105-10.
197. Kang H, Lee Y, Bae M, Park YK, Lee JY. Astaxanthin inhibits alcohol-induced inflammation and oxidative stress in macrophages in a sirtuin 1-dependent manner. *J Nutr Biochem.* 2020;85:108477.

LITERATURVERZEICHNIS

198. Andersen AJ, Hecker I, Wallez S, Witteveen A, Lora A, Mittendorfer-Rutz E, et al. Are we equally at risk of changing smoking behavior during a public health crisis? Impact of educational level on smoking from the TEMPO cohort. *BMC Public Health*. 2023;23(1):1016.
199. The Lancet P. COVID-19 and mental health. *Lancet Psychiatry*. 2021;8(2):87.
200. Liu Q, Wang Z. Perceived stress of the COVID-19 pandemic and adolescents' depression symptoms: The moderating role of character strengths. *Pers Individ Dif*. 2021;182:111062.
201. Salanti G, Peter N, Tonia T, Holloway A, White IR, Darwish L, et al. The Impact of the COVID-19 Pandemic and Associated Control Measures on the Mental Health of the General Population : A Systematic Review and Dose-Response Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2022;175(11):1560-71.
202. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008;16(5):585-601.
203. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(4):227-42.
204. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen*. 2020;40:2.
205. Weitzmann MN, Pacifici R. The role of T lymphocytes in bone metabolism. *Immunol Rev*. 2005;208:154-68.
206. Phan QT, Chua KY, Jin A, Winkler C, Koh WP. CXCL9 Predicts the Risk of Osteoporotic Hip Fracture in a Prospective Cohort of Chinese Men-A Matched Case-Control Study. *J Bone Miner Res*. 2022;37(10):1843-9.
207. Caliri AW, Tommasi S, Besaratinia A. Relationships among smoking, oxidative stress, inflammation, macromolecular damage, and cancer. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2021;787:108365.
208. Maes M, Song C, Lin A, De Jongh R, Van Gastel A, Kenis G, et al. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine*. 1998;10(4):313-8.
209. Lindsay EK, Marsland AL, Cole SW, Dutcher JM, Greco CM, Wright AGC, et al. Mindfulness-Based Stress Reduction Reduces Proinflammatory Gene Regulation But Not Systemic Inflammation Among Older Adults: A Randomized Controlled Trial. *Psychosom Med*. 2024;86(5):463-72.
210. Lesnak JB, Berardi G, Sluka KA. Influence of routine exercise on the peripheral immune system to prevent and alleviate pain. *Neurobiol Pain*. 2023;13:100126.
211. Gullihorn L, Karpman R, Lippiello L. Differential Effects of Nicotine and Smoke Condensate on Bone Cell Metabolic Activity. *Journal of Orthopaedic Trauma*. 2005;19(1):17-22.

10 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in Tübingen im Siegfried Weller Institut für Unfallmedizinische Forschung und der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik unter Betreuung von Herrn Professor Dr. A. Nüssler durchgeführt.

Das Studiendesign wurde durch Prof. Dr. A. Nüssler in Zusammenarbeit mit seinem Projektteam konzipiert.

Die Rekrutierung der Patienten mit der Aufgabe der Befragung dieser, dem Sammeln von Blutproben sowie der Dokumentation der Patientendaten erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit dem Klinischen Studienzentrum der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen sowie weiteren Doktoranden, welche ebenfalls am Projekt AIQNET/KIKS beteiligt waren. Nach Einwilligung der Patienten zur Teilnahme an der Studie und der durch mich durchgeführten Blutentnahme erfolgte die Weiterverarbeitung und Archivierung der gesammelten Patientenblutproben nach Einweisung (Regina Breinbauer und Labormitarbeiter des SWI) im Labor des SWI eigenständig.

Alle Laborarbeiten (Zytokin-Arrays und ELISAs) wurden von mir selbstständig nach Einarbeitung durch Labormitglieder des SWI (Regina Breinbauer und Mohammad Majd Hammour) in Betreuung von Regina Breinbauer und Mohammad Majd Hammour durchgeführt.

Alle Ergebnisse sowie statistischen Analysen wurden von mir eigenständig in Rücksprache mit Dr. med. Leyla Tümen (Co-Mentorin der Arbeit) durchgeführt. Nach Rücksprache mit Dr. med. Blumenstock (M.A., MPH), dem stellvertretenden Leiter des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie in Tübingen, wurden die Ergebnisse von mir angepasst und optimiert.

Alle in der vorliegenden Dissertation verwendeten Abbildungen (Abbildung 1 vom Tabakatlas Deutschland 2020 des Deutschen Krebsforschungszentrum, Abbildung 4 Mechanismus Zytokin-/Microarrays von der Firma RayBiotech®), wurden von den jeweiligen Mitautoren oder den veröffentlichenden Quellen (Journals) der Publikationen genehmigt und entsprechend als Quelle gekennzeichnet. Die Erlaubnis der Nutzung erfolgte per Email und liegt sowohl

ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT

der Dissertation bei und wurde zusätzlich ans Promotionsbüro Tübingen übermittelt.

Mit dieser Erklärung versichere ich, die vorliegende Dissertation eigenständig verfasst zu haben und ausschließlich die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Passagen, die wörtlich oder inhaltlich übernommen wurden, sind entsprechend gekennzeichnet. Die Leitlinien für die Einhaltung guter wissenschaftlicher Praxis und den Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten an der Eberhard Karls Universität Tübingen wurden berücksichtigt. Zusätzlich versichere ich, dass die vorliegende Doktorarbeit ausschließlich im Rahmen dieses Promotionsverfahrens eingereicht wurde und dass diesem keine anderen abgeschlossenen Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

Ich versichere, dass derzeit keine strafrechtlichen Verfahren gegen mich anhängig sind. Des Weiteren bin ich mir über die Konsequenzen, die Falschangaben mit sich bringen, bewusst und dass es im Falle von unrichtigen Angaben zur Aberkennung meines möglicherweise verliehenen akademischen Grades kommen kann.

Abschließend betone ich, dass dieser Dissertation keinerlei finanzielle oder kommerzielle Interessen oder Hintergründe zugrunde liegen.

Tübingen, den 18. November 2024

Unterschrift

Lena Pollmann-Schweckhorst

11 Veröffentlichungen

Ausschnitte des vorliegenden Dissertationsmanuskripts wurden bereits als wissenschaftliches Manuskript im EXCLI Journal 2024 zur Veröffentlichung mit folgendem Titel präsentiert:

Smoking increases risk of complication after musculoskeletal surgery: analysis of single immune parameter to predict complication risk

Leyla Tümen¹, Lena Pollmann-Schweckhorst², Regina Breinbauer¹,
Mohammad M. Hammour¹, Romina H. Aspera-Werz¹, Gunnar Blumenstock³,
Tina Hsiting², Maximilian M. Mengers², Sabrina Ehnert¹, Andreas K. Nüssler¹

EXCLI Journal 2024 – veröffentlicht am 13.07.2024 – Vol. 23 -
<https://doi.org/10.17179/excli2024-7306>

12 Danksagung

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. rer. nat. Andreas Nüssler. Ohne Sie wäre diese Promotion nicht möglich gewesen. Sie haben mich nicht nur fachlich unglaublich kompetent geleitet, sondern mich auch mit viel Geduld und großem Engagement unterstützt. Ihr entgegengebrachtes Vertrauen in meine Person und meine Fähigkeiten hat nicht nur meine Motivation gestärkt, sondern mir auch die Möglichkeit gegeben mich fachlich, wissenschaftlich und persönlich weiterentwickeln zu können. Auch wenn es aufgrund meines zeitraubenden Studiums und einiger Differenzen nicht immer einfach war, haben Sie mir stets Verständnis und Ihr Vertrauen entgegengebracht. Ich schätze es sehr, dass die Tür zu Ihrem Büro für uns als Doktoranden immer offen stand und Sie stets ein offenes Ohr für unsere Anliegen hatten.

Für die Zeit im Siegfried Weller Institut möchte ich mich bei allen herzlich für ihre Unterstützung bedanken. Ein besonderer Dank gilt insbesondere Majd Hammour und Dr. med. Leyla Tümen, die mich stets geduldig durch diese manchmal schwierige Zeit begleitet und mich in dieser tatkräftig unterstützt haben. Ihr seid großartig!

Ebenfalls möchte ich mich bei Regina Breinbauer für ihre wertvolle Hilfe herzlich bedanken. Ein Dank gebührt auch Prof. Dr. sc. hum. Sabrina Ehnert, die stets ein offenes Ohr hatte und im Hintergrund mit ihrer Unterstützung immer präsent war.

Des Weiteren möchte ich meine aufrichtige Dankbarkeit dem gesamten Klinischen Studienzentrum der BG Unfallklinik Tübingen zum Ausdruck bringen, welches eine entscheidende Rolle während der Phase der Patientenakquise gespielt hat. Unter der Leitung von Dr. med. Marie Reumann ermöglichte das Team des Klinischen Studienzentrums zu jedem Zeitpunkt einen engen fachlichen und persönlichen Austausch, wodurch eine äußerst harmonische Zusammenarbeit entstand. Ein besonderer Dank gilt Isabell Grow und Franziska Riedmann. Ihr habt nicht nur die manchmal anspruchsvolle Zeit wunderbar gestaltet, sondern zeichneten euch auch durch stets offene Ohren und unterstützende Art aus.

DANKSAGUNG

Ich möchte ebenfalls der IT-Abteilung der BG Unfallklinik Tübingen, Johann Jazewitsch und Tobias Schwarz, für ihre Unterstützung bei der Erstellung der Datenbank meinen Dank aussprechen.

Ebenso möchte ich mich bei Dr. med. Blumenstock (M.A., MPH), dem stellvertretender Leiter des Instituts für klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen, für seine wertvolle Unterstützung im Rahmen der biometrischen Beratung bedanken.

Der größte Dank gilt meiner Familie, meinen Weggefährten und engen Freunden.

Besonders hervorheben möchte ich Dich, liebe Esther! Deine unerschöpfliche Unterstützung, Deine Ratschläge, Wegweisungen und die zahllosen Stunden, Tage, Wochen, Monaten, die Du seit vielen Jahren bereits an meiner Seite verbracht hast, sind für mich von unfassbarem Wert. Mit dieser Arbeit möchte ich Dir meine allergrößte Wertschätzung entgegenbringen.

Zum Abschluss möchte ich mich von Herzen bei Dir, liebe Lisa, bedanken! Deine außergewöhnliche Persönlichkeit und Deine herausragende Unterstützung während der gesamten Zeit sind für mich von unschätzbarem Wert und keineswegs selbstverständlich. Ich schätze mich sehr glücklich, nicht nur für die gemeinsame Zeit sondern auch für den inspirierenden Austausch. Du bist ein echtes Vorbild!