



FAKULTÄT FÜR MEDIZIN

Klinik und Poliklinik für Plastische Chirurgie und Handchirurgie

Klinikum rechts der Isar

Direktor: Prof. Dr. Hans-Günther Machens

**Subgruppenanalysen im Rahmen der „EPO in Burns“-Studie:
Einfluss und Interaktionen von Begleitmedikamenten,
Vorerkrankungen und Nebendiagnosen auf die Wundheilung im
schwerbrandverletzten Patienten**

Felicitas Paula Ilg

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zum Erlangen des akademischen Grades eines Doktors der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Jürgen Schlegel

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr. Hans-Günther Machens
2. apl. Prof. Dr. Stefan Thorban

Die Dissertation wurde am 24.01.2019 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 16.07.2019 angenommen.

Kurzfassung

Erythropoetin (EPO) ist bekannt als körpereigenes Hormon, welches die Ausdifferenzierung der Erythrozyten im Knochenmark fördert. Um die Wende zum 21. Jahrhundert begannen verschiedene Arbeitsgruppen seine zentrale Rolle im Heilungsprozess akuter und chronischer Gewebeschäden nachzuweisen. EPO hemmt die initiale Entzündungsreaktion und Apoptose, stimuliert die Angiogenese und fördert die Reepithelialisierung von Wunden. Die Placebo-kontrollierte, randomisierte, doppelt-verblindete Phase II-Studie „EPO in Burns“ untersuchte die Effekte von niedrigdosiertem EPO bei Verbrennungs- und Verbrühungsverletzungen mit dem Studienziel eine schnellere und verbesserte Wundheilung unter EPO-Therapie zu demonstrieren.

Die vorliegende Arbeit basiert auf den erhobenen Daten der „EPO in Burns“-Studie. Durch erweiterte Analysen wird der Wundheilungsprozess von Spalthautentnahmestellen (SGDS) in verschiedene Reepithelialisierungsgrade unterteilt und in den zwei Behandlungsarmen verglichen. Zudem werden Subgruppen gebildet, um einen möglichen Einfluss durch Begleitmedikamente, Vorerkrankungen, Geschlechtsunterschiede oder Nebendiagnosen auf die Wundheilung zu untersuchen. Die überprüften Medikamente beinhalten Insulin, Vasopressoren, nicht-steroidale Antirheumatika (NSARs) und zwei Antibiotika. Lag anamnestisch eine arterielle Hypertonie vor, oder erlitten Patienten während der Studienzeit eine Sepsis, so werden diese Faktoren ebenfalls analysiert. Als statistische Methoden werden Sterbetafeln und das Cox-Regressionsmodell verwendet.

Die Ergebnisse erlauben keine abschließenden Schlussfolgerungen, doch deuten sie auf eine schnellere Wundheilung in den ersten Tagen unter EPO-Therapie hin. Eine Kombination von EPO mit Insulin lässt ferner die Vermutung eines synergistisch wirkenden, positiven Effekts auf die Reepithelialisierung der untersuchten Wundareale aufkommen. Des Weiteren scheint EPO bei schwerbrandverletzten Patienten hämodynamisch stabilisierend zu wirken. Außerdem beobachtete wir in dieser Studie eine verzögerte Wundheilung beim weiblichen Geschlecht. Weiterführende humane Studien sind wünschenswert, um die beobachteten Effekte zu überprüfen und ein tieferes Verständnis der Wirkung von EPO in der klinischen Anwendung zu entwickeln.

Abstract

Erythropoietin (EPO) is well known as the hormone causing erythropoiesis. Over the last decade, research has shown that EPO plays a pivotal role in the healing of acute and chronic wounds due to its significant anti-inflammatory and pro-regenerative effects. The large, prospective, randomized, double-blind, multi-center phase II study “EPO in Burns“ was initiated to investigate the effects of EPO in severely burned patients. The primary endpoint of the study was the time until complete re-epithelialization of a defined skin graft donor site (SGDS).

In this thesis, the experimental EPO group and its control group of the “EPO in Burns“ trial are compared against each other. It is tested for heterogeneous treatment effects using subgroups that were defined by secondary diagnosis such as arterial hypertension and sepsis and concomitant medications. The investigated drugs include insulin, vasopressor agents, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and two antibiotics. In addition gender differences are analysed.

Life tables are used to compare study groups (EPO vs. placebo) within subgroups. The Cox regression model is applied to evaluate the interaction between the study groups and the subgroups for each re-epithelialization level.

Results of the post hoc analyses indicate a faster onset of re-epithelialization in the first days of EPO treatment. Furthermore, EPO might have a positive, synergistic effect on early stages of re-epithelialization in combination with insulin and a stabilizing effect on critically ill patients (lower numbers of vasopressors in the EPO group). As a side effect, we observed, in our study population, slower wound healing in women, compared to men. However, more clinical trials need to be conducted to gain further insight into these effects.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	I
Abstract	II
Inhaltsverzeichnis	III
1 Einleitung	1
1.1 Haut und Wundheilung	2
1.1.1 Aufbau der Haut	2
1.1.2 Physiologie der Wundheilung	3
1.1.3 Akute und chronische Wunden	6
1.1.4 Ausblick auf Therapiestrategien bei der Versorgung von Wunden	7
1.2 Verbrennungen	8
1.2.1 Inzidenz	8
1.2.2 Verbrennungstiefe und Oberflächenbestimmung	8
1.2.3 Score-Systeme zur Prognosebewertung	11
1.2.4 Verbrennungskrankheit	13
1.2.5 Primärversorgung	15
1.2.6 Stationäre Behandlung	16
1.2.6.1 Medizinische Versorgung	16
1.2.6.2 Versorgung der Verbrennungswunden	16
1.2.6.3 Rehabilitation und Nachsorge	18
1.3 Erythropoetin	19
1.3.1 Struktur und Bildung von EPO und seinem Rezeptor	20
1.3.2 Nebenwirkungen der Therapie mit EPO	21
1.3.3 Nicht-hämatopoetische Wirkungen von EPO	22
1.3.4 Signalwege von EPO	24
1.3.5 EPO in der Wundheilung	26
1.4 Fragestellungen dieser Arbeit	33
1.4.1 Ziel der Ereigniszeitanalysen in den Studiengruppen	33
1.4.2 Definition Subgruppe	33
1.4.3 Ziel der Subgruppenanalysen	34

2	Material und Methoden	34
2.1	Die „EPO in Burns“-Studie	34
2.1.1	Zielsetzung und Hypothese der „EPO in Burns“-Studie.....	35
2.1.2	Studiendesign	35
2.1.3	Patientenpopulation	35
2.1.4	Intervention	37
2.1.4.1	Studienmedikation.....	37
2.1.4.2	Definition der untersuchten Wundareale	37
2.1.5	Durchführung und Dokumentation.....	38
2.1.6	Endpunkte der „EPO in Burns“-Studie.....	38
2.1.7	Wunddokumentation	40
2.2	Statistischer Analyseplan	40
2.2.1	Statistische Methoden der „EPO in Burns“-Studie	40
2.2.2	Statistische Methoden in der vorliegenden Arbeit.....	41
2.2.2.1	Deskriptive Statistik.....	41
2.2.2.2	Reepithelialisierungsgrade	42
2.2.2.3	Sterbetafel.....	42
2.2.2.4	Cox-Regressionsmodell	43
2.2.2.5	Subgruppenanalysen	43
2.2.2.6	Zensierung/ Umgang mit fehlenden Daten	44
2.2.3	Limitation.....	45
2.3	Erstellung der Datenbank.....	45
2.3.1	Struktur der Datenbank	45
2.3.2	Generierung neuer Variablen	45
2.3.2.1	Berechnungen demographischer Daten	45
2.3.2.2	Berechnungen zur Abbildung des Wundheilungsverlaufs.....	45
2.3.3	Daten für die geplante Subgruppenbildung	46
2.3.3.1	Begleitmedikamente.....	47
2.3.3.2	Vorerkrankungen.....	48
2.3.3.3	Nebendiagnosen.....	50

2.3.4	Auswahlkriterien der Subgruppen.....	52
2.3.4.1	Rationale der Subgruppen-Auswahl.....	53
2.3.4.2	Ausnahmen in der Subgruppenauswahl und Begründung.....	57
3	Ergebnisteil.....	58
3.1	Studienpopulation	58
3.2	Ergebnisse der standardisierten Studienwunde (SGDS)	60
3.2.1	50 % Reepithelialisierungsgrad	60
3.2.2	75 % Reepithelialisierungsgrad	62
3.2.3	100 % Reepithelialisierungsgrad	64
3.3	Ergebnisse der sekundären Studienwunden	67
3.3.1	SDW	67
3.3.1.1	50 % Reepithelialisierungsgrad	67
3.3.1.2	75 % Reepithelialisierungsgrad	68
3.3.1.3	100 % Reepithelialisierungsgrad	69
3.3.2	TDW.....	71
3.3.2.1	50 % Reepithelialisierungsgrad	71
3.3.2.2	75 % Reepithelialisierungsgrad	72
3.3.2.3	100 % Reepithelialisierungsgrad	74
3.4	Subgruppenanalysen	75
3.4.1	Einführung.....	76
3.4.2	Insulin	76
3.4.3	Nichtsteroidale Antirheumatika.....	79
3.4.4	Vasopressoren.....	82
3.4.5	Antibiotika	86
3.4.5.1	Piperacillin-Tazobactam	86
3.4.5.2	Chinolone.....	89
3.4.6	Sepsis	92
3.4.7	Arterielle Hypertonie.....	95
3.5	Subgruppenanalysen der Studienwunden SDW und TDW.....	98
3.5.1	SDW	98

3.5.2	TDW.....	101
4	Diskussion.....	104
4.1	Ereigniszeitanalysen in den Studiengruppen.....	104
4.1.1	Ergebnisse der untersuchten Wundareale.....	104
4.1.2	EPO bei Verbrennungen Grad 3	113
4.1.3	Risikoadjustierung.....	114
4.2	Subgruppenergebnisse.....	116
4.2.1	Insulin	116
4.2.2	Nichtsteroidale Antirheumatika.....	119
4.2.3	Vasopressoren und arterielle Hypertonie.....	120
4.2.4	Sepsis	123
4.2.5	Antibiotika	125
4.2.5.1	Piperacillin-Tazobactam	125
4.2.5.2	Chinolone.....	126
4.3	Stärken und Schwächen dieser Arbeit	127
4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	128
5	Literaturverzeichnis.....	130
6	Anhang.....	150
6.1	Abkürzungen.....	150
6.2	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	151
6.3	Ergänzende Tabelle zu Kapitel 1.3.5.....	154
7	Publikationen und Poster.....	159
8	Danksagung	160
9	Lebenslauf.....	161

1 Einleitung

Jedes Jahr versterben weltweit über 180.000 Menschen an den Folgen von Verbrennungen. Die Überlebenden haben nicht selten einen langen und schmerzhaften Leidensweg vor sich. Ihre Prognose und ihre spätere Lebensqualität sind stark vom Ausmaß und der Tiefe der Verbrennungen abhängig. Durch den Verlust der Haut als Schutzbarriere sind die Patienten stark gefährdet. Es kommt zur Manifestation der Verbrennungskrankheit mit Immunsuppression, Hypermetabolismus und möglichen Komplikationen wie einer Sepsis mit anschließendem Multiorganversagen. Aus diesem Grund ist ein frühzeitiger Wundverschluss der Brandwunden für die Rehabilitation der Patienten essentiell. Zur Deckung tiefer Verbrennungen werden bevorzugt autologe Spalthauttransplantate verwendet. Bei großflächigen Verbrennungen ist die intakte Haut für die Spalthautentnahmen jedoch limitiert. Dies führt zwangsläufig zu mehrmaliger Entnahme von Spalthaut aus derselben Spenderstelle (SGDS) am Körper des Patienten. In den letzten Jahrzehnten bestanden die therapeutischen Fortschritte der Verbrennungsmedizin unter anderem in einer frühen chirurgischen Intervention und der Entwicklung von Hautersatzpräparaten. Moderne Behandlungsansätze suchen nach Möglichkeiten die körpereigenen Regenerationskräfte zu verbessern, um eine schnellere Wundheilung zu erzielen. Der Einsatz von Wachstumsfaktoren und speziellen Wunddressings wird hierfür erprobt. Jedoch sind ihre Entwicklung und Anwendung teuer. Erythropoetin (EPO) ist ein körpereigenes Hormon, das die Bildung der Erythrozyten im Knochenmark stimuliert. Als rekombinant hergestelltes Therapeutikum wird es seit Jahren zur Behandlung anämischer und chronisch nierenkranker Patienten eingesetzt. In vielversprechenden experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass EPO als pleiotroper Wachstumsfaktor auch die Wundheilung verbessern und beschleunigen kann. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde die „EPO in Burns“-Studie an verschiedenen Verbrennungszentren in Deutschland über fünf Jahre durchgeführt. Ziel der Untersuchung war, eine schnellere Abheilung der Brandwunden unter der Therapie mit rekombinantem EPO bei den schwerbrandverletzten Patienten aufzuzeigen.

In dieser Arbeit wird die Fragestellung der „EPO in Burns“-Studie nach einer verbesserten Wundheilung unter EPO aufgegriffen und um Subgruppenanalysen ergänzt. Im Mittelpunkt steht der Vergleich verschiedener Wundheilungsgrade bezüglich der fortgeschrittenen Reepithelialisierung der Verbrennungswunden in den Behandlungsgruppen EPO vs. Placebo. Des Weiteren wurde nach möglichen Einflussfaktoren auf die Wundheilung aus den Kategorien Begleitmedikamente, Vorerkrankungen oder Nebendiagnosen gesucht.

Die Einleitung dieser Arbeit bietet einen Einblick in den Aufbau der Haut und den Ablauf der physiologischen Wundheilung, um dem Leser die komplexen Heilungsmechanismen des menschlichen Körpers nach einem Trauma näher zu bringen. Anschließend wird das

Krankheitsbild Verbrennung und die chirurgische Versorgung der Brandwunden beschrieben. Zuletzt wird EPO als körpereigenes Hormon und pleiotroper Wachstumsfaktor vorgestellt. Schwerpunkte des Unterkapitels sind die experimentellen Studien, die die Wirkung von EPO in der Wundheilung belegen. Im Material- und Methodenteil wird die „EPO in Burns“-Studie nach CONSORT-Kriterien beschrieben. Die gesammelten Daten der Studie waren Ausgangspunkt für die Erstellung einer neuen Datenbank sowie Grundlage für die Analysen in dieser Arbeit. Nachfolgend werden die verwendeten statistischen Methoden erklärt. Hier erfolgt auch die rationale und klinische Begründung der Auswahl der Subgruppen aus den drei Kategorien. Im Ergebnisteil folgt die Darstellung der berechneten Ergebnisse. Er ist in zwei Teile gegliedert. Im ersten Teil werden die verschiedenen Reepithelialisierungsgrade der untersuchten Wundareale (Studienwunden) in den zwei Behandlungsgruppen verglichen. Der zweite Teil führt die sieben Subgruppenanalysen auf. Die Diskussion der Resultate bildet den Abschluss dieser Arbeit. Sie verdeutlicht das komplexe Zusammenspiel der anti-inflammatorischen, anti-apoptotischen und zytoprotektiven Effekte von EPO in der Wundheilung und mit den in den Subgruppen analysierten Einflussfaktoren. Das Kapitel gliedert sich ebenfalls in die Diskussion der Hauptergebnisse und Subgruppenergebnisse.

1.1 Haut und Wundheilung

Die Haut ist das größte Organ des Menschen. Sie ist für die Aufrechterhaltung der Homöostase des Körpers verantwortlich (Körpertemperatur und Wasserhaushalt) und schützt den Organismus vor mechanischen, thermischen und chemisch-toxischen Schäden. Über die Haut erfolgt ein Großteil der Sinneswahrnehmungen und der immunologischen Überwachung des Körpers.

1.1.1 Aufbau der Haut

Makroskopisch wird die Haut in Leisten- und Felderhaut unterteilt. Leistenhaut wird an Hand- und Fußsohlen ausgebildet. Am Rest des Körpers befindet sich die Felderhaut; nur hier ist eine Behaarung möglich.

Mikroskopisch erfolgt die Einteilung der Haut in Epidermis (Oberhaut) und Dermis (Corium bzw. Lederhaut (vgl. Abbildung 1)). Die Epidermis besteht aus einem mehrschichtigen, verhornten Plattenepithel und wird von Keratinozyten in verschiedenen Differenzierungsstadien gebildet. Sie lässt sich in fünf Schichten gliedern. In der untersten Schicht, dem *Stratum basale*, liegen die epidermalen Stammzellen. Aus ihnen gehen die Epithelzellen der Haut, die Keratinozyten, hervor. Die Keratinozyten durchwandern die Schichten in unterschiedlichen Differenzierungsstufen. Der Basalschicht folgt das *Stratum spinosum* und *Stratum granulosum*. In der Leistenhaut existiert zusätzlich noch das *Stratum lucidum*. In der obersten Schicht, dem *Stratum corneum*, liegen die abgestorbenen Keratinozyten. Sie schilfern sich stetig an der Oberfläche der Epidermis ab. Weitere, meist

eingewanderte Zelltypen der Epidermis sind Melanozyten, Langerhans-Zellen, Merkel-Zellen sowie vereinzelt Lymphozyten. Die Versorgung der Epidermis-Zellen findet durch Diffusion der Nährstoffe aus der mit Blut versorgten Dermis statt.

Die Dermis besteht überwiegend aus Bindegewebe, welches sich aus Kollagen und elastischen Fasern zusammensetzt und von Fibroblasten gebildet wird. Die Dermis wird in das *Stratum papillare* und *Stratum reticulare* gegliedert. Das lockere *Stratum papillare* liegt der Basallamina an und beinhaltet zahlreiche Blutkapillaren und neuronale Zellen (Meissner-Tastkörperchen, freie Nervenendigungen). Über die Papillen ist es mit der Epidermis verzahnt. Das tieferliegende *Stratum reticulare* besteht aus derbfaserigem Bindegewebe. Es enthält Blut- und Lymphgefäße, sowie Zellen der Immunabwehr (Makrophagen, Lymphozyten, Mastzellen), Haarfollikel, Schweiß- und Talgdrüsen und die korpuskuläre Rezeptororgane (Ruffini-Körperchen, Vater-Pacini-Körperchen).

Unter der Dermis liegt die Subkutis. Sie besteht primär aus Fettgewebe mit eingebetteten Vater-Pacini-Tastkörperchen, oberflächlich verlaufenden Venen und Hautnerven.

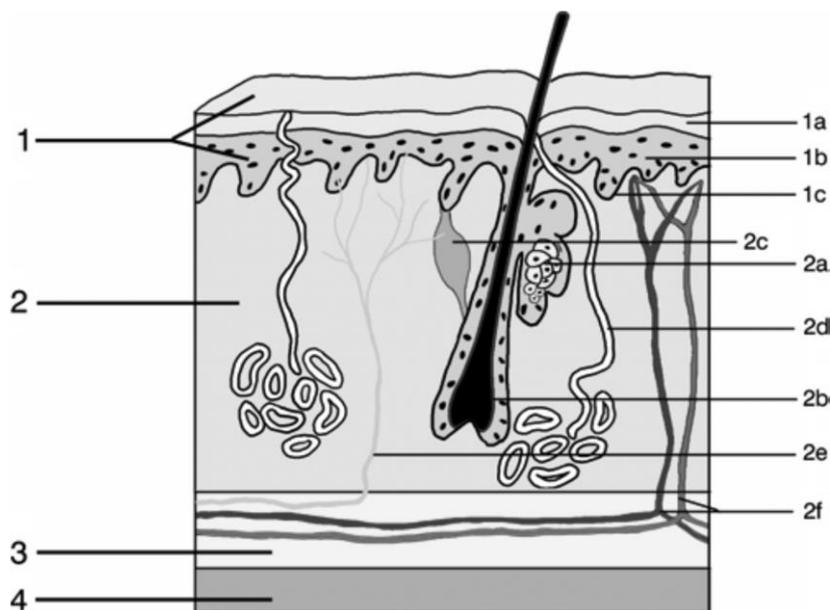


Abbildung 1: Anatomische Struktur der Haut

1) Epidermis: (1a) Stratum corneum, (1b) Stratum granulosum und spinosum, (1c) Stratum basale; 2) Dermis: (2a) Talgdrüse, (2b) Haarfollikel, (2c) Musculus arrector pili, (2d) Schweißdrüse, (2e) Nerv, (2f) Gefäßplexus; 3) Subkutanes Fettgewebe; 4) Muskulatur.

Abbildung entnommen aus (Machens et al., 2013)

1.1.2 Physiologie der Wundheilung

Die Heilung einer Wunde nach einem Trauma ist ein komplexer, dynamischer Prozess an dem die Interaktionen vieler Mediatoren und Signalmoleküle sowie Blut- und Parenchymzellen beteiligt sind (Singer & Clark, 1999). Der Wundheilungsprozess wird traditionell in drei Phasen unterteilt, die fließend ineinander übergehen, aber auch zeitgleich in der Wunde ablaufen können (vgl. Abbildung 2).

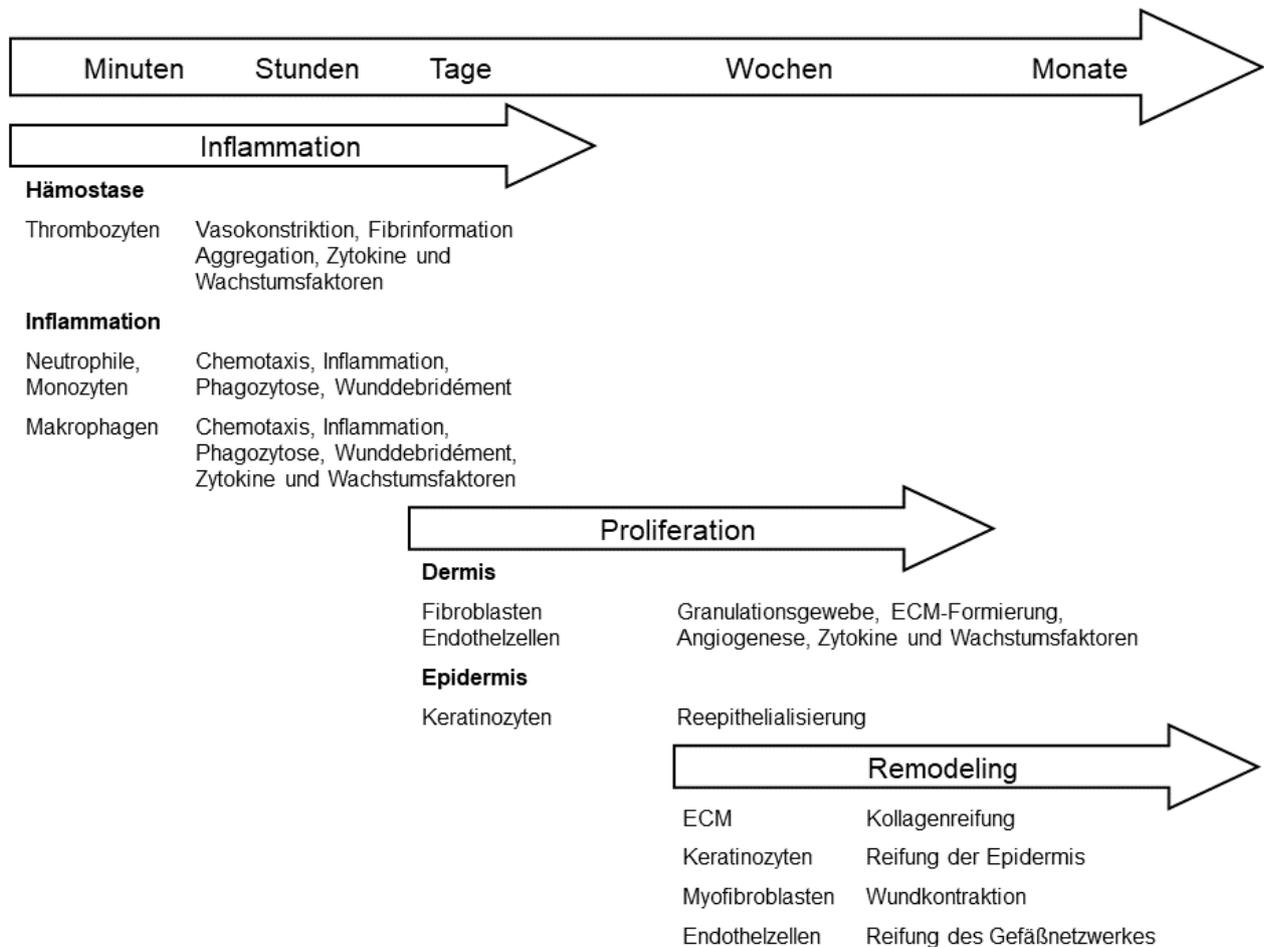


Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Wundheilungsphasen

Abbildung gestaltet auf Grundlage von (J. Li et al., 2007)

Koagulations- und Inflammationsphase:

Nach einer erlittenen Verletzung wird die Gerinnungskaskade zur Blutstillung aktiviert. Das koagulierte Blut bildet eine provisorische, extrazelluläre Matrix (ECM) für die Einwanderung wichtiger Zellen in das Wundbett (Singer & Clark, 1999). Die im Blutgerinnsel enthaltenen Thrombozyten sezernieren hierfür chemotaktische Faktoren, wie den *Platelet-derived Growth Factor* (PDGF) und *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β). Diese Faktoren locken Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Fibroblasten, Endothelzellen und glatte Muskelzellen an (Morton & Phillips, 2016). Durch die Migration der Entzündungszellen beginnt die inflammatorische Phase. Die neutrophilen Granulozyten sind für die Reinigung des Wundareals und die unspezifische Immunabwehr gegen Bakterien zuständig; sie phagozytieren infiltrierte Keime und Matrixreste (Singer & Clark, 1999). Ihre Anzahl in der Wunde ist in den ersten Tagen nach Trauma hoch und nimmt nach zwei bis fünf Tagen ab (Reinke & Sorg, 2012). Ist eine Wunde kontaminiert, und die Anwesenheit der Neutrophilen verlängert, so kann dies zu einer Verzögerung der Wundheilung und vermehrter Narbenbildung führen (J. Li et al., 2007). In der späten Inflammationsphase überwiegt die

Anzahl der eingewanderten Monozyten. Sie werden zu Wundmakrophagen und setzen das Wunddebridement fort. Wichtige Wachstumsfaktoren und Zytokine werden von ihnen gebildet, unter anderem der PDGF und TGF β , der Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α), der *Vascular Epithel Growth Factor* (VEGF) und der *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) sowie eine Reihe an Interleukinen (IL-1, IL-6) (Williams & Harding, 2003). Diese Signalmoleküle sind essentiell für die Bildung von neuem Gewebe; sie stimulieren die Kollagensynthese und initiieren die Angiogenese und den Reepithelialisierungsprozess (Werner & Grose, 2003). Makrophagen spielen daher eine wichtige Rolle im Übergang von der Inflammationsphase zu der Proliferationsphase.

Proliferationsphase und Reepithelialisierung:

In dieser Phase (meist drei bis zehn Tage nach Trauma) liegt das Hauptaugenmerk auf der Formation von Granulationsgewebe, der Ausbildung eines neuen Gefäßnetzwerkes und dem Verschluss der Wundoberfläche durch Reepithelialisierung (Reinke & Sorg, 2012).

Die *Bildung des Granulationsgewebes* und der neuen ECM beginnt meist vier Tage nach dem Trauma. Diese Phase ist durch eine hohe Anzahl an Fibroblasten, Makrophagen und Granulozyten im Gewebe geprägt. Die Wundmakrophagen stimulieren über Wachstumsfaktoren (*Fibroblast Growth Factors* (FGFs), PDGF, TGF- β) die Einwanderung der Fibroblasten in die Wunde (Singer & Clark, 1999). Diese sezernieren dort verschiedene Matrixkomponenten wie Prokollagen, Fibronectin, und Hyaluronsäure für die Formation der neuen, provisorischen ECM. Im Verlauf der nächsten Wochen wird die EMC organisiert. Das Prokollagen reift zu Kollagen aus, die Fibroblastenproliferation nimmt ab, und die Zellen differenzieren zu Myofibroblasten aus oder sterben apoptotisch ab (Reinke & Sorg, 2012).

Für die Versorgung des Granulationsgewebes ist die Bildung neuer Blutgefäße notwendig. Die *Angiogenese* ist ein komplexer Prozess, der durch die Ausschüttung von Wachstumsfaktoren wie VEGF, TGF- β und PDGF induziert wird (Singer & Clark, 1999). Die Wachstumsfaktoren binden an die Rezeptoren der Endothelzellen von vorhandenen Gefäßen und aktivieren eine intrazelluläre Signalkaskade. Durch das Signal proliferieren die Endothelzellen und wandern in die Wunde ein. Dort sezernieren sie weitere Mediatoren (z.B. Metalloproteinasen (MMPs)) für die Ausdifferenzierung zu neuen Gefäßen (Reinke & Sorg, 2012). Besonders der Wachstumsfaktor VEGF ist während der Bildung des Granulationsgewebes für die Angiogenese essenziell (Tag 4-7). VEGF wird überwiegend von aktivierten epidermalen Zellen sezerniert. Des Weiteren wird ein niedriger Sauerstoffpartialdruck im Gewebe als Reiz für die Angiogenese diskutiert (Singer & Clark, 1999).

Die *Reepithelialisierung* der Wunde beginnt durch Migration der Keratinozyten aus den intakten Wundrändern und Haarfollikeln in die Defektzone (Singer & Clark, 1999). Epidermale Stammzellen der Haarfollikel und Talgdrüsen werden als Reservoir für Keratinozyten im Heilungsprozess vermutet (J. Li et al., 2007). Bei diesem Prozess spielen die verschiedenen Signalmoleküle der oben genannten Entzündungszellen ebenfalls eine wichtige Rolle. Die Auflösung der hemidesmosomalen Verbindungen zwischen der Epidermis und Basalmembran erlaubt die Migration der Zellen (Singer & Clark, 1999) und führt zu einer gesteigerten Permeabilität ihrer Zellmembran für Ionen wie z.B. Calcium (Reinke & Sorg, 2012). Die Folge ist eine intrazelluläre Reorganisation der Tonofilamente in Richtung der Zellmigration. Die aktivierten Keratinozyten interagieren durch die Expression ihres Integrin-Rezeptors mit Proteinen der ECM (z.B. Fibronectin) (Singer & Clark, 1999) und wandern entlang eines chemotaktischen Gradienten, der durch freie Mediatoren wie IL-1 gebildet wird, in das Zentrum der Wunde ein und proliferieren dort. Die Proliferation wird durch Wachstumsfaktoren, wie den epidermalen Wachstumsfaktor (EGF), stimuliert (Reinke & Sorg, 2012). Die Reepithelialisierung ist der entscheidende Prozess für das Einheilen von Spalthaustransplantaten in Verbrennungswunden (Clark et al., 2000).

Reparative Phase und Remodeling:

Der Heilungsprozess geht von der Inflammationsphase über die Ausbildung des Granulationsgewebes und neuer Gefäße während der Proliferationsphase in die reparative Phase, auch Remodeling genannt, über. Diese Phase beginnt meist drei Wochen nach der Verletzung. Die Bildung von Granulationsgewebe wird durch die Apoptose der Zellen beendet. Es folgt die strukturelle Umorganisation der Matrix durch den Ersatz des Kollagen Typ-III zu stabilerem Kollagen Typ-I. Myofibroblasten kontrahieren die Wunde und verkleinern die Oberfläche der sich gebildeten Narbe. Der angiogenetische Prozess nimmt ab und weniger akute Signalmoleküle werden gebildet (Reinke & Sorg, 2012).

Die Gewebeverletzung bleibt nicht ohne Folgen. In den ersten drei Wochen entspricht die Reißfestigkeit des Wundgewebes nur 20 % der Reißfestigkeit normaler Haut. Sie korreliert mit der Quervernetzung der Kollagenbündel und erreicht maximal 70 % ihres Ausgangswerts (Singer & Clark, 1999). Subepidermale Anhangsgebilde wie Haarfollikel oder Schweißdrüsen können nicht neu gebildet werden. Außerdem zeigt die Epidermis eine geringere Konnektivität zur Dermis (Reinke & Sorg, 2012)

1.1.3 Akute und chronische Wunden

Bei gesunden Patienten heilen akute Verletzungen im Allgemeinen ohne Probleme. Sie durchlaufen die Phasen des Wundheilungsprozesses geregelt in einem gewissen zeitlichen Rahmen. Die benötigte Zeit für die Abheilung einer Wunde hängt von vielen Faktoren ab: das Patientenalter, das Ausmaß der Wunde und ihre Lokalisation (Morton & Phillips, 2016).

Weiterhin können die regelmäßige Einnahme bestimmter Medikamente (z.B. Glukokortikoide) und körpereigene, systemische Mediatoren nach größeren Verletzungen oder Infektionen den Wundheilungsprozess negativ beeinflussen und verzögern (Clark et al., 2000). Hierzu zählen die pro-inflammatorischen Zytokine wie TNF- α , IL-1 und IL-6. In geringer Menge tragen sie zur physiologischen Wundheilung bei. Bakterien, Endotoxine (Guo & DiPietro, 2010) oder ein größeres Trauma (Eming et al., 2014) führen jedoch zu erhöhten Zytokin-Leveln in der Wunde und verlängern die Inflammationsphase.

Wunden können auch durch spezifische Erkrankungen, wie Diabetes mellitus Typ II oder vaskuläre Erkrankungen, chronifizieren. Die Prävalenz chronischer Wunden steigt stetig an und verursacht immense Kosten für das Gesundheitssystem. Bekannte Beispiele hierfür sind venöse, arterielle oder diabetische (neuropathische) Ulcera (Robson et al., 2001). Auffallend ist in diesen Wunden ein Ungleichgewicht an anti-regenerativen Proteasen (z.B. MMPs) und pro-regenerativen Wachstumsfaktoren (VEGF, TGF- β , EGF), was zur chronischen Entzündung des Gewebes beiträgt (Machens, 2017).

Tabelle 1: Wundtypen

Akute Wunden	Chronische Wunden
Geregelter Ablauf der Wundheilungsphasen	Gestörter Ablauf der Wundheilungsphasen
Wenig proinflammatorische Zytokine	Viele proinflammatorische Zytokine
Wenige Proteasen und Sauerstoffradikale	Viele Proteasen und Sauerstoffradikale
Niedrige Anzahl an Bakterien	Hohe Anzahl an (resistenten) Bakterien
Funktionell intakte ECM	Funktionell gestörte ECM
Hohe mitogene Aktivität	Niedrige mitogene Aktivität

Tabelle erstellt auf Grundlagen von (Morton & Phillips, 2016)

1.1.4 Ausblick auf Therapiestrategien bei der Versorgung von Wunden

Das tiefere Verständnis des Ablaufs der physiologischen Wundheilung hat über die letzten Jahre zur Entwicklung moderner Therapieansätze für eine verbesserte Abheilung von Wunden beigetragen. Fortschritte sind bei der Herstellung von biologischem Gewebe durch die Kultivierung von (Stamm-)Zellen (*tissue engineering*) und in der Gentherapie zu verzeichnen. Künstlich hergestellte Haut erfüllt im besten Fall alle Funktionen der Dermis und Epidermis und enthält wichtige Zellen wie Keratinozyten und Fibroblasten. Epidermale Stammzellen oder mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark können den Heilungsprozess durch den Einsatz bei chronischen Wunden beschleunigen. Die Verwendung von Wachstumsfaktoren in Wunddressings zielt auf die Förderung der körpereigenen Regenerationskapazität und Stimulierung der Wundheilung ab. Zu nennende Protagonisten sind der PDGF, TGF- β und EGF. Es existieren zwar vielversprechende experimentelle Studien zu diesen Ansätzen, doch ist die Umsetzung im klinischen Alltag besonders durch legislative und ökonomische Gründe erschwert. Weitere, bisher ungelöste Probleme sind die Entwicklung stabiler epidermo-dermaler Junctionen zwischen den

rekonstruierten Schichten (Dermis und Epidermis), der Ersatz funktioneller Zellen und Hautanhangsgebilden sowie die Bereitstellung eines funktionierenden Gefäßnetzes in der Dermis (C. I. Gunter & Machens, 2012).¹

Die beschriebenen Probleme zeigen sich insbesondere in der Versorgung schwerer Verbrennungen. Der Verlust großer Hautflächen durch die Verbrennung, die bis auf das subkutane Fettgewebe oder noch tiefer reichen, kann nur durch Hauttransplantationen ersetzt werden. Der Heilungsprozess ist langwierig und zieht komplexe, chirurgische Behandlungen nach sich. Der erfolgreiche Einsatz progenerativer Therapeutika ist hier besonders wünschenswert

1.2 Verbrennungen

Verbrennungen sind thermische Gewebeschädigungen durch direkte Hitzeeinwirkung über 45° Grad Gewebetemperatur. Die Hautschädigungen erfolgen durch den Kontakt mit Flammen (Verbrennung) oder heißen Flüssigkeiten (Verbrühung). Weitere Formen sind Starkstromverletzungen, Verätzungen durch Chemikalien oder Kontaktverbrennungen (Spies & Vogt, 2007).

1.2.1 Inzidenz

In Deutschland erleiden jährlich etwa 20.000 Kinder und Erwachsene thermische Verletzungen. Circa 4.000 Patienten mit Verbrennungen benötigen eine stationäre Behandlung (Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin, 2017). Im Jahr 2014 erfolgte die Behandlung von 1953 Patienten in spezialisierten Verbrennungszentren aufgrund der Ausdehnung und Schwere der Verbrennung. Die meisten Unfälle ereigneten sich im Haushalt (65,4 %). Hauptunfallursache waren offene Flammen (44,9 %), gefolgt von Verbrühungen (25,9 %). Unter den Patienten waren 71,5 % männlich, 28,5 % weiblich; 59,5% der Patienten waren zwischen 20 und 59 Jahren. Die Mortalität lag bei 8,6 % (Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin, 2014).

1.2.2 Verbrennungstiefe und Oberflächenbestimmung

Die Einteilung der Verbrennungstiefe in drei Schweregrade (1-3) erfolgt anhand der betroffenen Hautschichten. Die exakte Beurteilung der Verbrennungstiefe ist Ausgangspunkt einer adäquaten und erfolgreichen Behandlung.

¹ Diese Übersichtsarbeit bietet einen ausführlicheren Ausblick auf die verschiedenen Therapiestrategien und aktuellen Forschungsergebnisse.

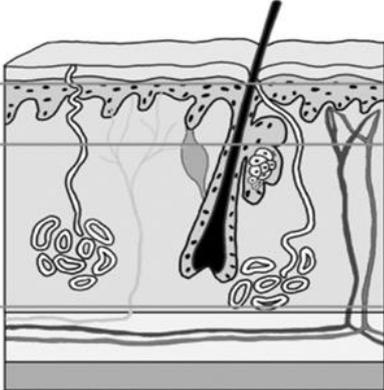
		Struktur	Aussehen	Schmerzen	Heilung
Grad 1		Epidermis	Rötung	vorhanden	Spontan in 5-10 Tagen
Grad 2a		Oberflächige Dermis	Rötung; oberflächliche Blasen	vorhanden	Spontan in 14-21 Tagen
Grad 2b		Tiefe Dermis	Rötung oder weiß; große Blasen	mäßig	Spontan in >21 Tagen
Grad 3		Subkutis	Rötung oder weiß	keine	Keine spontane Heilung

Abbildung 3: Verbrennungsgrade

Abbildung erstellt auf Grundlagen von (Machens et al., 2013)

Verbrennungen Grad 1:

Verbrennungen Grad 1 betreffen die oberste Epidermisschicht. Ein klinisches Beispiel ist der Sonnenbrand. Die Haut ist gerötet und schmerzt. Eine Linderung der moderaten Schmerzen durch kühlende Lotionen reicht meist aus. Die Abheilung erfolgt als *restitutio ad integrum* innerhalb von 5-10 Tagen (Machens et al., 2013).

Verbrennungen Grad 2a:

Die Einteilung der Verbrennungen Grad 2 erfolgt nochmals in oberflächliche (2a) und tiefe (2b) Verbrennungen. Verbrennungen Grad 2a betreffen die gesamte Epidermis und oberflächige Dermis; die Hautanhangsgebilde sind noch intakt. Die Haut ist stark gerötet und bildet Blasen. Der Patient empfindet starke Schmerzen. Bei Kindern können großflächige Verbrennungen oder Verbrühungen dieses Schweregrades bereits eine Schockreaktion hervorrufen (Stoss S., 2005). Die Rekapillarierungszeit der Wundfläche ist nicht verlängert; dies deutet auf eine unverletzte Gefäßversorgung der Dermis hin. Verbrennungen Grad 2a heilen innerhalb von 14-21 Tagen weitgehend ohne Narbenbildung ab (Machens et al., 2013).

Verbrennungen Grad 2b:

Verbrennungen Grad 2b reichen tief in die Dermis. Die Schmerzempfindung ist herabgesetzt, da die freien Nervenendigungen geschädigt sind. Die Hautanhangsgebilde sind ebenfalls größtenteils zerstört. Die Haut ist gerötet oder erscheint bereits weiß. Die Rekapillarierungszeit ist verlängert. Die Reepithelialisierung der Verbrennungswunde ist verlangsamt und benötigt über drei Wochen. Es kommt zur Narbenbildung. Oftmals besteht während der Wundheilung eine erhöhte Gefahr für schwere Infektionen (Stoss S., 2005).

Verbrennungen Grad 3:

Bei Verbrennungen Grad 3 sind alle Hautschichten bis zur Subkutis zerstört. Die Wunde ist dunkelrot oder blass weißlich. Der Patient empfindet keinen Schmerz mehr. Eine Reepithelialisierung und spontane Wundheilung findet nicht statt. Zur Deckung der Wunden sind sekundär rekonstruktive Verfahren obligat. Reicht die Verbrennung bis auf Faszien, Muskulatur oder Knochen, kann man auch von Verbrennungen Grad 4 sprechen (Stoss S., 2005).

Schädigungszonen nach Jackson:

Die Verbrennungswunde wird weiter in drei Schädigungszonen eingeteilt. Diese Einteilung geht auf *Jackson* aus dem Jahr 1953 zurück (Jackson, 1953). Sie ist bis heute gültig. Jackson definiert das Zentrum der Wunde als *Nekrosezone / Koagulationszone*; sie ist durch irreversiblen Gewebeuntergang gekennzeichnet. Angrenzend befindet sich die *Stasezone* mit eingeschränkter Gewebepfusion und Zellfunktion. Sie ist die kritische Zone, da es hier zu einer Ausbreitung der Ischämie und Gewebenekrose kommen kann. Man spricht von einer Abtiefung oder einem Nachbrennen der Verbrennungswunde. Die Ausschüttung von vasoaktiven Entzündungsmediatoren und Immunmodulatoren als Reaktionen des Körpers auf die Verbrennung fördert die Ödembildung und Gewebhypoxie. Die äußerste Zone wird als *Hyperämiezone* bezeichnet. Sie ist durch Vasodilatation gekennzeichnet. Meist regeneriert sich das hier befindliche Gewebe ohne Folgen (Ottomann & Hartmann, 2004).

Oberflächenbestimmung:

Eine erste Einschätzung des Ausmaßes der verbrannten Körperoberfläche (KOF) sollte bereits am Unfallort erfolgen, da sie für die Prognose und Therapie des Patienten ausschlaggebend ist. Als Hilfe können verschiedene Methoden herangezogen werden. Eine ungefähre Abschätzung ist mit der Handfläche des Patienten möglich, welche angenähert 1 % Prozent der Körperfläche entspricht. Genauer ist die Neunerregel nach Wallace, die den Körper in ein je Vielfaches von 9 %-Arealen unterteilt. Für die exaktere Einschätzung werden in der Klinik Tabellen und Diagramme herangezogen werden (z.B. Lund-Browder Tabelle) (vgl. Abbildung 4). Für Kinder sind proportionale Abweichungen zu beachten (Stoss S., 2005).

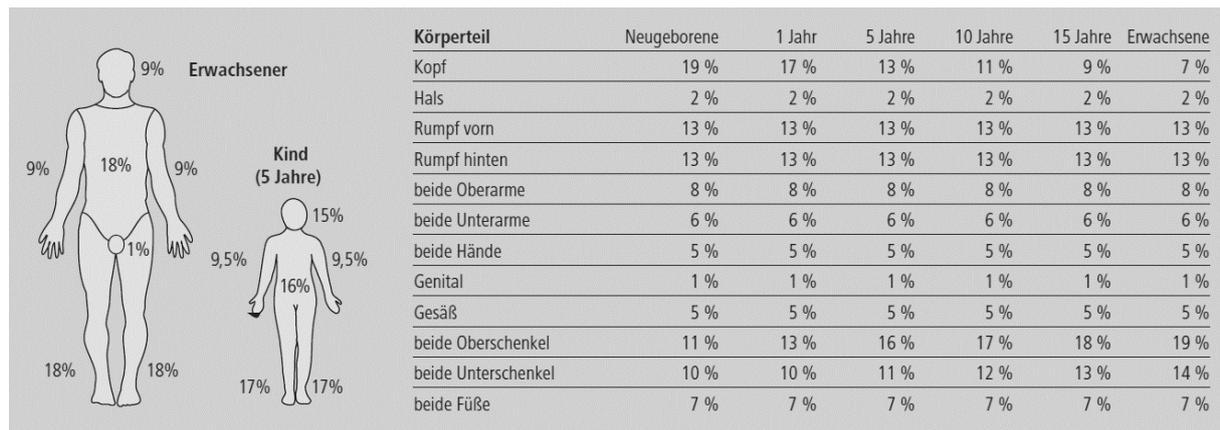


Abbildung 4: Bestimmung der Körperoberfläche nach Wallace und Lund-Browder

Abbildung entnommen aus (Stoss S., 2005)

1.2.3 Score-Systeme zur Prognosebewertung

Für die prognostische Einschätzung des verbrannten Patienten wird international der *Abbreviated Burn Severity Index (ABSI)* nach *Tobiasen et al.* benutzt (Tobiasen et al., 1982). Er beinhaltet das Geschlecht, das Alter, die KOF in Prozent, das Vorliegen eines Inhalationstraumas und dritt-gradiger Verbrennungen. Eine Punktsumme > 9 geht mit einer Überlebenswahrscheinlichkeit von maximal 50 % einher (vgl. Tabelle 2). Eine schnelle und einfache Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit ermöglicht auch der BAUX-Index. Hier werden nur die KOF und das Alter des Patienten addiert. Werte < 95 entsprechen einer Überlebenswahrscheinlichkeit von mehr als 50 %, ab einer Summe > 100 liegt die Überlebenswahrscheinlichkeit < 10 %. Risikofaktoren, wie z.B. ein Inhalationstrauma, werden nicht berücksichtigt. *Hörbrand und Mitarbeiter* konnten in ihrer Arbeit über die Anpassung bestehender Prognose-Scores zeigen, dass das Lebensalter und das Ausmaß der verbrannten Körperoberfläche die entscheidenden Kriterien für die Prognose des Überlebens eines schwerbrandverletzten Patienten sind (Horbrand et al., 2003). Somit eignet sich der BAUX-Index für die erste Einschätzung.

Tabelle 2: ABSI-Score

Variable	Patientencharakteristik	Punkte
Geschlecht	weiblich	1
	männlich	0
Alter in Jahren	0-20	1
	21-40	2
	41-60	3
	61-80	4
	81-100	5
Inhalationstrauma		1
Verbrennungen Grad 3		1
Verbrannte Körperoberfläche in Prozent (KOF %)	1-10	1
	11-20	2
	21-30	3
	31-40	4
	41-50	5
	51-60	6
	61-70	7
	71-80	8
	81-90	9
	91-100	10
Summe	Gefährdung	Überlebenswahrscheinlichkeit (%)
2-3	niedrige	≥99
4-5	mäßige	98
6-7	mäßig-ernste	80-90
8-9	ernste	50-70
10-11	starke	20-40
12-13	maximale	≤10

Tabelle gestaltet auf Grundlage von (Tobiasen et al., 1982)

Während der stationären Betreuung ermöglicht der *Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA)* eine Einschätzung des aktuellen Organstatus des Patienten. Bei täglicher Bestimmung können der Verlauf und die Rehabilitation des Patienten somit einfach objektiviert werden. Steigt der Ausgangswert um zwei Punkte an, ist von einer neuen Organdysfunktion auszugehen (vgl. Tabelle 3) (Jones et al., 2009).

Tabelle 3: The Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA)

Organ	Parameter	Punkte				
		0	1	2	3	4
Lunge	PaO ₂ /FIO ₂ (mmHg)	Spontanatmung	<400	<300	<200 Beatmung	<100 Beatmung
Niere	Kreatinin (mg/dL)	Norm	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9 Oligurie	>5,0 Anurie
Leber	Bilirubin (mg/dL)	Norm	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	>12,0
Kreislauf	Hypotension (MAP) ±Katecholamine	Norm, keine Katecholamine	MAP**<70	Dopamin ≤5 o. Dobutamin	Dopamin >5 o. NA ≤0,1	Dopamin >15 o. NA >0,1
Blutbild	Thrombozyten (10 ³ /mm ³)	Norm	<150	<100	<50	<20
ZNS	GCS***	15	13-14	10-12	6-9	<6

*(Gabe vasoaktiver Medikamente für min. 1 Stunde (Dopamin und Noradrenalin (NA) µg/kg/min)

** MAP: mittlere arterielle Druck; *** GCS: Glasgow Coma Scale

Tabelle gestaltet auf Grundlage von (Jones et al., 2009)

1.2.4 Verbrennungskrankheit

Großflächige Verbrennungen (>20 % KOF) führen zu einer Reihe an Komplikationen, die als Verbrennungskrankheit zusammengefasst werden. Der Patient durchläuft verschiedene Phasen bis zur Rehabilitation (Trupkovic & Giessler, 2008).

Durch den Verlust der Haut verlieren die Patienten in den ersten Stunden große Mengen an Flüssigkeit und entwickeln eine Hypovolämie mit möglichem Volumenmangelschock. Während dieser Schockphase weitet sich die lokale Entzündungsreaktion in den Verbrennungswunden durch die Ausschüttung von Mediatoren wie Zytokine (Interleukine und TNF-α), Leukotriene, Histamin und Sauerstoffradikale auf den ganzen Organismus aus. Die Mediatoren lösen eine Störung der Kapillarpermeabilität (*capillary leak*) mit Austritt von Flüssigkeit und Proteinen ins Gewebe aus. Es kommt zur Entwicklung generalisierter Weichteilödeme. Durch diese Flüssigkeitsverlagerung nimmt die Hypovolämie weiter zu. Erstes therapeutisches Ziel ist, das intravasale Volumen wieder herzustellen, um eine ausreichende Gewebepfusion zu gewährleisten und eine fortschreitende Gewebeischämie durch den steigenden Druck und die Hypoxie zu verhindern (Gauglitz et al., 2009a; Ottomann & Hartmann, 2004). Die Ödemphase spielt sich in den ersten 48-72 Stunden nach Trauma ab. Sie geht in eine Rückresorptionsphase über (Trupkovic & Giessler, 2008).

Die komplexe Kette an pathophysiologischen und immunologischen Veränderungen im Organismus kann durch die übermäßige Ausschüttung der Mediatoren zur sogenannten *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) führen. Eine SIRS liegt als unspezifische, systemische Entzündungsreaktion auf das thermische Trauma definitionsgemäß vor, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien erfüllt sind (Spies & Vogt, 2007). Dies ist bei schwerbrandverletzten Patienten meistens der Fall:

- Körpertemperatur: $\leq 36^{\circ}\text{C}$ oder $\geq 38^{\circ}\text{C}$
- Herzfrequenz: $\geq 90/\text{min}$
- Atemfrequenz: $\geq 20/\text{min}$ (oder Hypokapnie: $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$)
- Leukozytenanzahl: $> 12\,000/\mu\text{L}$ oder $< 4000/\mu\text{L}$ oder $> 10\%$ unreife neutrophile Granulozyten im Differentialblutbild

Der hohe Zellschaden bei Schwerbrandverletzten spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Verbrennungskrankheit. Es kommt zu einem Teufelskreislauf, dessen Auswirkungen alle Organsysteme und -funktionen des Körpers betreffen. Dies beinhaltet ein akutes Nieren-, Leber- oder Herzkreislaufversagen, ein intrabdominelles Kompartmentsyndrom mit Darmischämien bis hin zum Tod. Die frühzeitige Wundversorgung in Form einer Nekrektomie ist essentiell für das Überleben der Patienten, da die Entfernung der Verbrennungsnekrosen die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine reduziert (Gauglitz et al., 2009a; Ottomann & Hartmann, 2004).

Eine weitere Erscheinung der Verbrennungskrankheit nach ausgedehnten Verbrennungen ist die Suppression der zellulären und humoralen Immunabwehr des Patienten. Durch die Immuninsuffizienz können sich Infektionen schnell systemisch ausbreiten und dadurch den Patienten durch die Entstehung einer Sepsis stark gefährden.² Die großen Wundflächen sind ideale Eintrittspforten für pathogene Keime. Nicht selten sind schwerbrandverletzten Patienten aufgrund eines Inhalationstraumas beatmet. Durch die Inhalation toxischer Rauchgasbestandteile wird das Atemwegsepithel geschädigt; dies führt zu einer entzündlichen Atemwegsobstruktion. Resultierende Atelektasenbildung und Sekretstau begünstigen die Entstehung einer Pneumonie bis hin zum respiratorischen Versagen. Daneben spielen Infektionen durch liegende Katheter oder Translokationen von Keimen aus dem Gastrointestinaltrakt eine Rolle für die Entwicklung des septischen Krankheitsbildes. Das Vorliegen einer Hypotension oder große Blutverluste durch multiple Operationen können dies weiter verschlimmern und zum Multiorganversagen (MOV) führen. In dieser Phase der Inflammation nach Verbrennungstrauma ist das MOV bis heute die häufigste Todesursache bei schwerbrandverletzten Patienten (Spies & Vogt, 2007; Trupkovic & Giessler, 2008).

² Eine Sepsis ist durch das Vorliegen einer SIRS mit gleichzeitigem Anstieg des SOFA-Scores um ≥ 2 Punkte vom Ausgangswert und der Vermutung einer systemischen Infektion definiert.

Die Verbrennungskrankheit verändert auch den Stoffwechsel des Patienten. Das Trauma führt zu einem stark erhöhten Energieverbrauch, einem vermehrten Sauerstoffkonsum, einer gesteigerten Proteolyse, Lipolyse und Glykogenolyse. Man spricht von einer hypermetabolischen Reaktion. Der Patient verliert an Muskelmasse, die Wundheilung ist verlangsamt, die Immunreaktion verzögert. Therapeutische Ansätze sind den Katabolismus modulierende Medikamente wie Insulin und Wachstumshormone. Der Hypermetabolismus besteht noch bis zu 24 Monate nach dem Verbrennungstrauma weiter (Branski, Herndon, et al., 2009).

Die Rehabilitationsphase des Schwerbrandverletzten ist von der adäquaten Versorgung am Unfallort, frühzeitigen operativen Maßnahmen und einer konsequenten Nachbehandlung abhängig.

1.2.5 Primärversorgung

Die Erstversorgung des Schwerbrandverletzten am Unfallort richtet sich nach dem Algorithmus der Notfallmedizin (ABC-Schema). Bei der Rettung durch Ersthelfer ist der Eigenschutz zu beachten. Sobald der Patient aus der Gefahrenzone geborgen und eine unmittelbare vitale Bedrohung ausgeschlossen ist, erfolgt die Evaluation der Verletzungen. Hierbei sind freie Atemwege Voraussetzung für das weitere Vorgehen. Liegt ein schweres Inhalationstrauma vor, ist eine Intubation indiziert, ansonsten ist die Gabe von Sauerstoff ausreichend. Für die Stabilisierung des Kreislaufs ist eine frühzeitige Infusionstherapie entscheidend, da bei Verbrennungen von mehr als 15 % KOF (8 % KOF bei Kindern) mit einem hypovolämischen Schock zu rechnen ist. Die Infusionsmenge richtet sich nach der *Parkland-Formel*. In den ersten 24 Stunden nach Trauma benötigt der Patient in der Regel 4ml Ringer-Laktat-Lösung pro Kilogramm Körpergewicht multipliziert mit der KOF in Prozent. Für das Abschätzen des Verbrennungsausmaßes und der Verbrennungstiefen wird der Patient entkleidet. Die richtige Beurteilung ist entscheidend für die anschließende Versorgung. Auf Begleitverletzungen wie ein Schädel-Hirn-Trauma, Frakturen oder Luxationen und Wärmeverlust ist dabei zu achten. Vor Transport sollte eine adäquate Schmerztherapie eingeleitet und die Verbrennungswunden mit sterilen Tüchern abgedeckt werden (Malzer, 2009; Trupkovic & Giessler, 2008).

Die *American Burn Association* empfiehlt die Behandlung von Verbrennungsoptionen in spezialisierten Verbrennungszentren bei Vorliegen von (American Burn Association, 2006):

- einem Inhalationstrauma
- Verbrennungen Grad 2 > 10 % KOF
- Verbrennungen Grad 3 jeder Altersgruppe
- Beteiligung von Gesicht, Händen, Füßen, Genitalien, Perineum oder großen Gelenken

- Einfluss von Strom, Blitz oder Verbrennungen mit chemischen Substanzen
- präexistente medizinische Probleme

1.2.6 Stationäre Behandlung

Im Verbrennungszentrum erfolgt bei schweren Verbrennungen die intensivmedizinische Therapie und komplexe Wundversorgung der Patienten.

1.2.6.1 Medizinische Versorgung

Etwa 10 % der Verbrennungspatienten müssen intensivmedizinisch behandelt werden. Hierfür stehen multidisziplinäre Teams zur Verfügung. Besonderheiten der Behandlung Schwerbrandverletzter werden im Folgenden kurz dargestellt und im Kapitel 2.3.4 ausführlicher diskutiert.

Die verschiedenen Phasen der Verbrennungskrankheit erfordern eine stetige Anpassung der medizinischen Versorgung und verabreichten Medikamente. Zur Kreislaufstabilisierung und Schockbehandlung kann neben der Volumentherapie der Einsatz von Vasopressoren notwendig sein. Auf eine adäquate Schmerztherapie ist zu achten, da die Zerstörung kutaner Nervenfasern früh zu einem neuropathischen Schmerz führen kann. Eine Medikation mit Pregabalin und trizyklischen Antidepressiva kann den Opioidbedarf drastisch senken. Durch die eingeschränkte Immunkompetenz zeigen die Patienten eine hohe Sepsisinzidenz, die frühzeitig erkannt und entsprechend mit gezielten Antibiotika behandelt werden muss. Der auftretende Hypermetabolismus erfordert eine ausgewogene Ernährungstherapie, die früh enteral erfolgen sollte und gegebenenfalls durch die Gabe von Medikamenten unterstützt werden kann. Zusätzlich sind die zahlreichen chirurgischen Eingriffe eine große Belastung für den Patienten, die jedoch für das Überleben und die spätere Lebensqualität entscheidend sind. Hier ist eine vorausschauende Substitution zellulärer Blutbestandteile durch Transfusionen wichtig (Giessler et al., 2009).

1.2.6.2 Versorgung der Verbrennungswunden

Für die Versorgung der Verbrennungen stehen konservative und chirurgische Maßnahmen zur Verfügung. Noch im Schockraum werden nach ausreichender Analgesie die Wunden mit desinfizierender Seifenlösung gereinigt und Brandblasen abgetragen. Der Schockraum ist beheizt, um den Wärmeverlust des Patienten zu minimieren. Bei zirkulären Verbrennungen Grad 2b und 3 der Extremitäten, des Thorax oder Abdomens kann eine *Escharotomie*, d.h. ein Entlastungsschnitt im Dermisniveau, notwendig sein, um eine ausreichende Gewebepfusion bzw. Atemexkursion zu gewährleisten (Kloeters, Germann, & Megerle, 2009).

Das Debridement der Verbrennungswunden erfolgt idealerweise in den ersten 24-48 Stunden nach Ankunft im Verbrennungszentrum. Die Nekrektomie wird entweder tangential oder epifaszial durchgeführt. Beim tangentialen Vorgehen wird die nekrotische Haut

schichtweise abgetragen bis die Wundoberfläche wieder durchblutet ist. Hierbei kann es zu größeren Blutverlusten kommen, doch ergibt sich ein guter Transplantationswundgrund auf intakten Dermisanteilen. Die epifasziale Nekrektomie entfernt alle Hautschichten bis auf die gesunde Muskelfaszie. Dieses Vorgehen wird aus kosmetischen Gründen jedoch zunehmend verlassen (Spies & Vogt, 2007).

Ein innovatives Konzept bei kleineren Verbrennungswunden ist die enzymatische Entfernung der Nekrosen (z.B. Bormelain).

Nach dem Debridement benötigen die Brandwunden je nach Verbrennungstiefe einen temporären oder definitiven Wundverschluss. Die Entwicklung biosynthetischer Membrane hat die konservative Behandlung von oberflächigen Verbrennungen in den zurückliegenden Jahren revolutioniert. Als temporärer Hautersatz ist Suprathel[®] zu nennen, eine Folie aus Laktidtrimethylenkarbonat, die nach Debridement auf die Wunde aufgebracht wird und von selbst abfällt, nachdem die Reepithelialisierung der Wunde unterhalb abgeschlossen ist. Weitere temporäre Produkte sind Biobrane[®], ein mit Schweinekollagen-Typ-1 beschichtetes Nylonnetz, oder Epigard[®], ein Polyurethanschaum mit einer Membran als Oberseite, welches bei notwendiger Hauttransplantation angewendet wird. Nach Entstehung einer Neodermis werden diese wieder entfernt. Des Weiteren werden Salben mit Silberionen (Flammazine[®]) oder Jod-Tinkturen (Betaisodona[®]) zur Behandlung der Wunden benutzt, die zytotoxisch auf Keime wirken und vor Wundinfektionen schützen. Regelmäßige Verbandswechsel und Wundkontrollen sind obligat; sie richten sich nach der Lokalsituation und dem verwendeten Produkt (Kloeters, Germann, & Behr, 2009).

Temporäre Wundauflagen werden auch zur Konditionierung tiefer Verbrennungen verwendet, die anschließend einen definitiven Wundverschluss durch eine autologe Gewebetransplantation benötigen. Die Transplantation autologer Haut beginnt meist ab Tag 2 nach Trauma. Gründe sind der eingeschränkte Gesundheitszustand des Patienten oder mögliche Infektionen der Wunden. Zur Konditionierung wird auch allogene oder xenogene Spenderhaut verwendet. Ein Allotransplantat wirkt stimulierend auf die Wundheilung und kann bis zu 14 Tagen auf den Wunden verbleiben, ist aber wegen Spendermangels und aufwendiger Untersuchungen zum Ausschluss von infektiösen Erkrankungen sehr teuer. Xenotransplantate wirken ebenfalls wundheilungsstimulierend. Sie werden in der Regel nach drei bis sechs Tagen entfernt. Aus Kostengründen werden diese biologischen Materialien zunehmend von den synthetischen Wundauflagen ersetzt und für spezielle Indikationen zurückgehalten (Hartmann & Ottomann, 2009).

Der Goldstandard für den definitiven Wundverschluss tiefer dermaler und dritt-gradiger Brandwunden ist die autologe Spalthauttransplantation, da diese Wunden im Regelfall nur von den intakten Wundrändern abheilen können. Aus einem unverbrannten Hautareal werden die intakte Epidermis und Dermisanteile mit einem Dermatome abgetragen. Man

spricht dabei von einem Spalthauttransplantat. Je nach Ausmaß der Verbrennung stehen gegebenenfalls nur wenige Spenderareale zur Verfügung, aber viele Wundareale müssen gedeckt werden. Das Spalthauttransplantat kann mit einem Meshdermatom in ein Gittertransplantat aufgearbeitet werden, von dessen Hautinseln die Reepithelialisierung erfolgt. Eine Flächenvergrößerung von 1:1,5 bis 1:9 ist möglich, resultiert aber mit zunehmender Meshgröße in einem schlechteren kosmetischen Ergebnis. Die Netzstruktur bleibt sichtbar und es kommt zur Ausbildung von Narben und Kontrakturen. Für Gesicht und Hände wird daher ein 1:1-Verhältnis bevorzugt. Das Spalthauttransplantat wird mit Metallklammern oder Nahtmaterial auf der Wunde befestigt und mit Fettgazen und einem saugenden Wundverband verschlossen. Eine Ruhigstellung des transplantierten Areals ist für die Einheilung der Haut zu gewährleisten. Die erste Wundkontrolle erfolgt meist ab Tag 5. Die blutgestillte Spenderstelle wird mit Fettgaze und trockenen Kompressen verbunden und heilt spontan ab. Anschließend kann sie erneut zur Hautentnahme verwendet werden, was bei großflächigen Verbrennungen notwendig sein kann. Reichen die intakten Hautareale nicht aus, so stehen auch Dermisersatzpräparate wie Integra® und Matriderm® oder Kulturhaut zur Verfügung. Beanspruchte Körperregionen benötigen oft Vollhauttransplantate aus Epidermis und Dermis, die - wenn möglich - auch in der Akutversorgung oder sonst in späteren rekonstruktiven chirurgischen Interventionen transplantiert werden (Hartmann & Ottomann, 2009).

1.2.6.3 Rehabilitation und Nachsorge

Der Akutbehandlung folgt die Rehabilitation der Patienten. Sie beinhaltet die Wiederherstellung eingeschränkter Körperfunktionen, Aufbau von Kraft und Ausdauer, eine psychotherapeutische Betreuung und besonders, mit Blick auf die kommunikative und ästhetische Bedeutung, die konsequente Narbennachbehandlung. Hierfür stehen multimodale Maßnahmen zur Verfügung. In den ersten acht bis 24 Monaten wird der Narbenreifungsprozess durch das ganztägige (24h) Tragen von individuell angepasster Kompressionskleidung und speziellen Narbenmassagen moduliert. Die Kompressionsbehandlung verringert die Ausbildung hypertropher Narben. Plastisch-chirurgische Interventionen finden währenddessen und anschließend statt, um die funktionellen und ästhetischen Ergebnisse zu optimieren. Hierfür ist eine enge Kooperation zwischen den Verbrennungszentren und den Rehabilitationskliniken notwendig, mit dem Ziel die Lebensqualität der Patienten zu verbessern (Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin, 2017).

Viele der medizinischen Probleme nach schweren Verbrennungen ergeben sich aus der eingeschränkten Wundheilung der tiefen dermalen Schichten. Die supprimierte körpereigene Regenerationsfähigkeit und das veränderte biologische Verhalten im Gewebe resultieren in

der Ausbildung von großflächigen, insuffizienten Narben. Neue Behandlungsstrategien versuchen durch den Einsatz von Zytokinen und Wachstumsfaktoren den Heilungsprozess einer Wunde von Beginn an zu optimieren.

1.3 Erythropoetin

EPO ist ein körpereigenes Glykoprotein-Hormon. Es stimuliert die Ausdifferenzierung der Erythrozyten im Knochenmark und hemmt die Apoptose ihrer Vorläuferzellen. Hauptproduktionsort von EPO ist die Niere. Dort wird es abhängig vom Sauerstoffpartialdruck von den Fibroblasten im Nierenparenchym gebildet. Ein Mangel an EPO führt zur einer hyporegenerativen, normozytären und normochromen Anämie (W. Jelkmann, 2013a).

Die Existenz eines die Erythropoese stimulierenden Hormons wurde bereits Anfang des 20. Jahrhunderts postuliert (Carnot & Deflandre, 1906). Der Nachweis des Hormons gelang aber erst 50 Jahre später (Erslev, 1953) (reviewed in: W. Jelkmann, 2007). Mit der Isolation und Identifizierung der zugrundeliegenden Struktur durch *Miyake et al.* (Miyake et al., 1977) begann das Forschungsfeld um EPO zu wachsen. In den 80er Jahren wurde EPO das erste Mal rekombinant hergestellt (Jacobs et al., 1985; Lee-Huang, 1984). Seither ist es aus der klinischen Praxis nicht mehr wegzudenken. Rekombinantes EPO findet überwiegend Einsatz in der Anämie-Behandlung chronisch nierenkranker und dialysepflichtiger Patienten. Es kann bei Krebspatienten mit myelosuppressiver Chemotherapie, bei Patienten vor Eigenblutspende oder elektiven Operationen angewendet werden (W. Jelkmann, 2013b). Negative Berühmtheit erlangte es als Dopingmittel im Leistungssport.

Um die Wende zum 21. Jahrhundert wurden die ersten Studien zur nicht-hämatopoetischen Wirkung von EPO veröffentlicht (Bany-Mohammed et al., 1996; M. Fatouros et al., 1999). Seine zytoprotektive Wirkung konnte seitdem in diversen Arbeiten an verschiedenen Organsystemen und Zellen gezeigt werden, insbesondere an der Haut. Durch seine anti-inflammatorischen und anti-apoptischen Effekte wird EPO eine vielversprechende Rolle in der Heilung und Wiederherstellung (*restitutio ad integrum*) von Gewebe zugesprochen.

Im Folgenden werden die physiologischen Grundlagen von EPO beschrieben. Anschließend werden die verschiedenen Forschungsgebiete vorgestellt. Der Hauptteil des Unterkapitels stellt die experimentellen und klinischen Befunde der Wirkung von EPO in der Wundheilung dar.

1.3.1 Struktur und Bildung von EPO und seinem Rezeptor

Humanes EPO ist ein Glycoprotein mit einer molekularen Masse von 30,4 kDa und wird zu den Klasse-I-Zytokinen gezählt. Seine Peptidkette besteht aus 165 Aminosäuren und ist für die Bindung an den EPO-Rezeptor (EPOR) verantwortlich. Die vier Kohlehydratseitenketten sind für seine Stabilität und Wirkung notwendig (vgl. Tabelle 4) (W. Jelkmann, 2013b). Rekombinante (rh) EPO-Präparate sind entweder identisch zum endogenen Hormon (z. B. Epoetin alfa und beta) oder besitzen zusätzliche Glykane, die die Halbwertszeit in vivo verlängern (z. B. Darbepoetin) (W. Jelkmann, 2011).

Neben der Bildung im Nierenparenchym wird EPO auch in geringen Mengen in Leber (Hauptort der fetalen EPO-Produktion), Milz, Lunge und Gehirn gebildet. Die endogene EPO-Synthese beginnt ab Hämoglobin(Hb)-Werten unter 125g/L oder wird durch O₂-Mangel stimuliert. Unter hypoxischen Bedingungen kann die Konzentration von endogenem EPO auf bis zu 10.000 IU/L steigen (Norm: 15 IU/L). Die Regulation erfolgt durch den Hypoxie induzierbaren Transkriptionsfaktor 2 (HIF-2), der an das Enhancer-Element des EPO-Gens auf Chromosom 7 bindet. HIF-2 und HIF-1, eine Isoform, sind Heterodimere mit einer O₂-labilen α -Untereinheit, die nur in hypoxischen Zellen aktiv ist und in Anwesenheit von Sauerstoff abgebaut wird. Es existieren auch inhibitorische Transkriptionsfaktoren (GATA-2, NF- κ B), die die EPO-Produktion hemmen (W. Jelkmann, 2011).

Pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF- α aktivieren GATA-2 und NF- κ B. Dieser Mechanismus wird als Ursache für die Unterdrückung der EPO-Expression bei entzündlichen und malignen Erkrankungen gesehen (W. Jelkmann, 1998).

Der transmembranäre EPOR wird auf den erythrozytären Vorläuferzellen exprimiert. Er wird als Homodimer (EPOR)₂ beschrieben. Nach Bindung von EPO an seinen Rezeptor folgt die Autophosphorylation der zytosolischen Janus Kinasen 2 (JAK2). Die ausgelösten Signalkaskaden katalysieren die Differenzierung und Proliferation der Zielzellen und schützen sie vor dem programmierten Zelltod (Apoptose) (W. Jelkmann, 2011).

Die sogenannten *Colony-Forming Units-Erythroids* (CFU-Es) sprechen am besten auf erhöhte Serum-EPO-Level an. Nach drei bis vier Tagen kann ein signifikanter Anstieg der Retikulozyten im Blut verzeichnet werden. Durch die Gabe von rhEPO zu therapeutischen Zwecken ist eine Steigerungen des Hb-Werts bis zu ~1,5 g /L/Tag möglich (I. Jelkmann & Jelkmann, 2013).

Tabelle 4: Steckbrief EPO und EPO-Rezeptor

EPO	
DNA	Chromosom 7q11-p22; 5 Exons kodieren ein Prohormon von 193 Aminosäuren (4 Introns)
mRNA	Nieren (peritubuläre Fibroblasten), Leber (Hepatozyten, Ito-Zellen), Milz, Lunge, Gehirn, Haut
Protein	Glykoprotein (30kDa, 2 Bisulfatbrücken) 60 % Protein: 165 Aminosäuren -> Rezeptorbindung 40 % Kohlehydrat: 3 N- und 1 O-verankerte Seitenkette -> in vivo Stabilität, Pharmakokinetik
EPO-Rezeptor	
DNA	Chromosom 19p13
mRNA	Erythrozytenvorläufer, in geringem Ausmaß in anderen Organen (u.a. Gefäße und Haut)
Protein	Glykoprotein (60 kDa), funktionell eine Homodimer (EPOR) ₂ , (ggf. Existenz eines EPO-Heterorezeptors)

Tabelle erstellt auf Grundlagen von (W. Jelkmann, 2011)

1.3.2 Nebenwirkungen der Therapie mit EPO

Seit drei Jahrzehnten wird rekombinantes EPO in der Behandlung chronisch nierenkranker und anämischer Patienten eingesetzt und sein Nebenwirkungsprofil untersucht. Am häufigsten wird ein Anstieg des arteriellen Blutdrucks mit Entwicklung einer arteriellen Hypertonie beobachtet. Dies wird unter anderem durch den Anstieg der Erythrozytenmasse und Blutviskosität erklärt (Krapf & Hulter, 2009). Bei Patienten mit schlecht eingestellter arterieller Hypertonie ist eine EPO-Therapie daher nicht zu empfehlen. Das Risiko thromboembolischer Vorfälle ist unter EPO ebenfalls erhöht (Taylor et al., 1992). Dies wird ebenfalls auf die ansteigenden Hb- und Hämatokrit(Hkt)-Werte zurückgeführt. Eine weitere These ist die indirekte Stimulierung einer Intimahyperplasie der Gefäße via den Tyrosinkinase-Rezeptor (Ortega & Contreras, 2009). Eine antithrombotische Therapie wird daher bei der Verwendung von EPO bei schwerkranken Patienten als sinnvoll erachtet (Corwin et al., 2007). Onkologische Patienten nehmen eine gesonderte Stellung ein. Bei Patienten mit Brustkrebs kam es zu einer signifikant höheren Rate an thromboembolischen Ereignissen unter der Therapie mit EPO (Aapro et al., 2008; Leyland-Jones et al., 2016). Paraneoplastische Wechselwirkungen mit EPO sind nicht auszuschließen. Kontrovers diskutiert wird auch eine mögliche Stimulation des Tumorstwachstums bei Krebspatienten (W. Jelkmann, 2013b). Daher ist bei dieser Patientengruppe eine besonders sorgfältige Anamneseerhebung durchzuführen und das Risiko-Nutzen-Verhältnis abzuwägen. Des Weiteren kann es in seltenen Fällen nach einer Behandlung mit EPO zur Bildung spezifischer Autoantikörpern gegen EPO im Organismus kommen (Rossert, 2005).

1.3.3 Nicht-hämatopoetische Wirkungen von EPO

Durch moderne Nachweismethoden konnte gezeigt werden, dass der EPOR nicht nur von Erythrozytenvorläuferzellen exprimiert wird. Eine Vielzahl an experimentellen Studien wies den EPOR in nicht-hämatopoetischen Geweben nach und demonstrierte die zytoprotektive und anti-inflammatorische Wirkung von EPO in den verschiedenen Organsystemen.

In der Fetalperiode findet sich EPOR über den ganzen Organismus verteilt (Juul et al., 1998). Seine Expression konnte in der Placenta (Sawyer et al., 1989), im Darm (Serenio et al., 2006) und im Pankreas (Fenjves et al., 2003) gezeigt werden.

In vitro wurde EPOR-mRNA in humanen endothelialen Zellkulturen nachgewiesen (Anagnostou et al., 1994). Durch die Bindung an seinen Rezeptor stimuliert EPO die Proliferation und Migration von Endothelzellen (Ribatti et al., 1999) und verbessert die Angiogenese (Carlini et al., 1995). EPO mobilisiert zudem endotheliale Progenitorzellen aus dem Knochenmark und trägt so zur Stimulation der Neovaskularisation bei (Bahlmann et al., 2004).

Im zentralen Nervensystem wurde EPOR-mRNA in Neuronen und Gliazellen nachgewiesen (Y. Li et al., 1996; Sugawa et al., 2002). Die Gabe von exogenem EPO schützte die Neuronen im Tiermodell vor traumatischen Gewebeschäden und einem durch Ischämie induzierten Zelltod (M. L. Brines et al., 2000; Sakanaka et al., 1998). EPO besitzt eine starke anti-inflammatorische Aktivität im Gehirn durch die Reduktion der neuronalen Apoptose und die Modulation proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α (Villa et al., 2003). Bei Tierversuchen mit experimenteller Neuritis (Mausberg et al., 2011) und Encephalomyelitis (Agnello et al., 2002) wirkte EPO entzündungshemmend.

Der EPOR wird auch im Herz exprimiert (Tramontano et al., 2003). Die kardioprotektive Wirkung von EPO demonstrierten verschiedene Arbeitsgruppen an Tiermodellen mit induziertem Infarkt und anschließender Reperfusion des Gewebes (Calvillo et al., 2003; Lipsic et al., 2004; van der Meer et al., 2005). EPO verkleinerte die Infarktgröße, verbesserte die kardiale Funktion und wirkte anti-apoptotisch. Eine Reduktion pro-inflammatorischer Zytokine wurde ebenfalls beobachtet (X. Liu et al., 2006).

Die Expression des EPOR wird maßgeblich durch ein Trauma, Verletzungen oder metabolischen Stress initiiert (Machens et al., 2013). In einer experimentellen Studie mit induzierter Kolitis an Mäusen verbesserte EPO das Krankheitsbild (Nairz et al., 2011). Die Arbeitsgruppe von *Corwin et al.* stellte in einer großen, klinischen Studie bei einer Subgruppe von Patienten mit Trauma eine Reduktion der Mortalität nach Gabe von EPO fest. Die Autoren führten dies auf die organoprotektive Wirkung von EPO zurück (Corwin et al., 2007). Die nicht-hämatopoetischen Effekte schreiben manche Forschungsgruppen der Existenz eines zweiten Rezeptors für EPO zu. Dieser Heterorezeptor besitzt eine β -Untereinheit (β cR), die an der Signaltransduktion des Granulozyten und Makrophagen stimulierenden

Faktors (GM-CSF) und anderer Klasse-1-Zytokine beteiligt ist (M. Brines et al., 2004). Diesem Heterorezeptor wird eine geringere Affinität für EPO als dem (EPOR)₂ zugesprochen, folglich sind höhere Konzentrationen von EPO zur Gewebeprotektion notwendig (M. Brines & Cerami, 2008). Dieses Konzept wird in der Literatur jedoch kontrovers diskutiert, da es den verwendeten Antikörpern an Spezifität für den Nachweis des EPOR fehlt (Elliott et al., 2006) bzw. der Nachweis des EPOR in nicht-hämatopoetischen Gewebe allgemein in Frage gestellt wird (Sinclair et al., 2010).

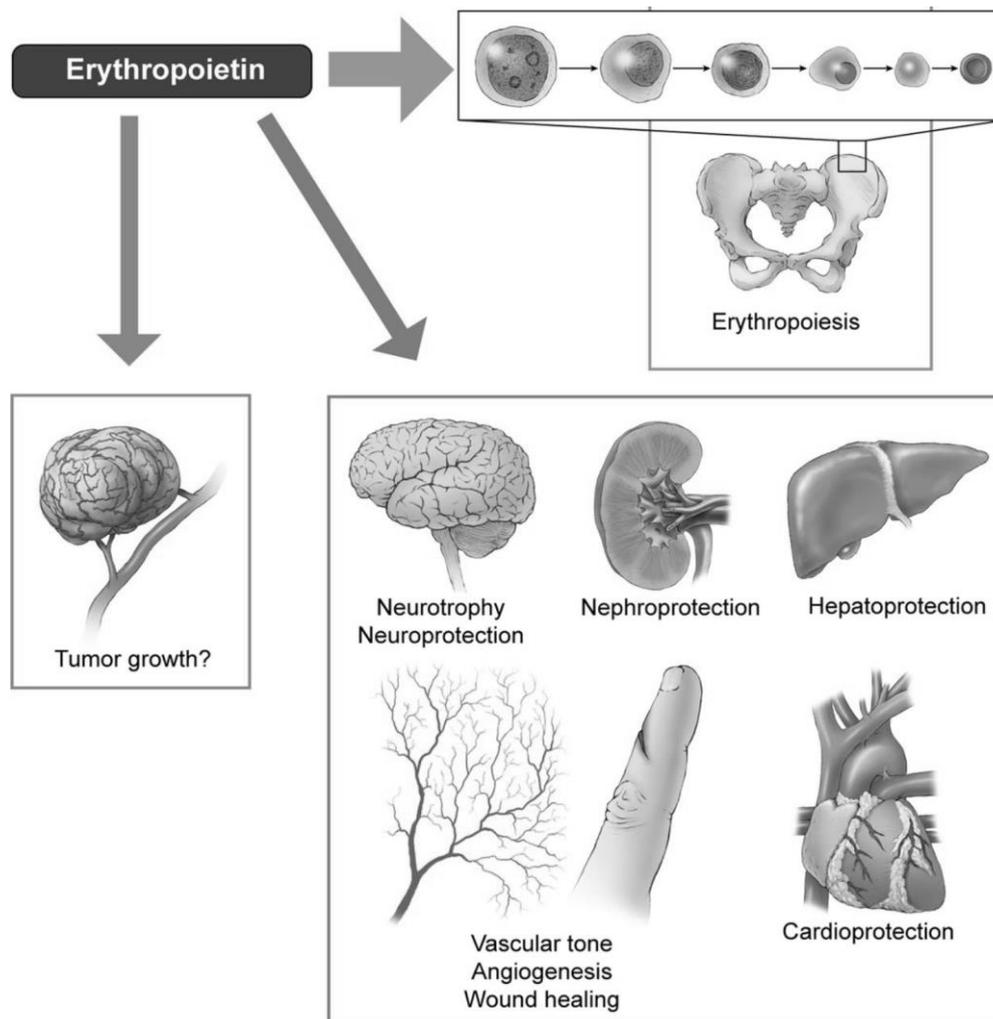


Abbildung 5: Pleiotrope Wirkung von EPO

Illustriert von Kenneth X. Probst. Abbildung entnommen aus (W. Jelkmann, 2010)

Es existiert noch eine Vielzahl an Studien über die pleiotropen Effekte von EPO (vgl. Abbildung 5). Eine detailliertere Darstellung der zytoprotektive Wirkung von EPO bieten hierfür die Übersichtsarbeiten von *Arcasoy et al.*, *Brines & Cerami* sowie *Zhang et al.* (Arcasoy, 2008; M. Brines & Cerami, 2008; Y. Y. Zhang et al., 2014). Alle Ergebnisse lassen darauf schließen, dass EPO als Wachstumshormon und Differenzierungsfaktor in den unterschiedlichsten Geweben wirken kann und somit ein vielversprechendes Therapeutikum darstellt.

Die vielversprechenden, experimentellen Ergebnisse in humanen Studien zu wiederholen ist bisher jedoch nicht gelungen. In einer Pilotstudie der Arbeitsgruppe von *Ehrenreich et al.* zeigten Patienten mit ischämischem Schlaganfall, die EPO erhielten, ein verbessertes Outcome (Ehrenreich et al., 2002). In der größer angelegten Folgestudie konnten die Resultate nicht mehr regeneriert werden (Ehrenreich et al., 2009). Dies gilt auch für Studien, die die kardioprotektive Wirkung von EPO beim Menschen untersuchten (Najjar et al., 2011; Ott et al., 2010). Die Publikationen von *Solling et al.* und *Lund et al.* nehmen detailliert Stellung zu den Ergebnissen der nicht-hämatopoetischen Wirkung von EPO bei humanen Studien (Lund et al., 2014; Solling, 2012). Im Kapitel 4.1.1 wird dieser Punkt noch ausführlicher diskutiert.

1.3.4 Signalwege von EPO

EPO initiiert nach Bindung an seine Rezeptoren eine Vielzahl von Signalwegen. Die Aktivierung führt zur Translation und Synthese anti-apoptotischer und anti-inflammatorischer Signalmoleküle. Drei der folgenden Signalkaskaden werden im Näheren beschrieben, da ihnen durch die Bildung dieser Signalmoleküle (Enzyme, Transkriptionsfaktoren) eine wichtige Rolle für die zytoprotektive Wirkung von EPO zugesprochen wird (vgl. Abbildung 6) (Nekoui & Blaise, 2017):

1. Über die Aktivierung der intrazellulären JAK2 werden die Signalmoleküle STATs (*signal transducers and activators of transcription*) aktiviert und führen nach Translokation in den Zellkern zur Bildung verschiedener Proteine, Zytokine und Transkriptionsfaktoren, so auch Bcl-2 und Bcl-XL (Bcl: *B-cell lymphoma*; XL: *extra large*). Proteine der Bcl-Familie sind an der Regulation der Zellapoptose beteiligt. EPO reguliert über die Expression dieser Proteine das Zellüberleben (Chong et al., 2002; W. Jelkmann et al., 2008). Der JAK2-STAT5-Bcl-2-Signalweg ist einer der wichtigsten anti-apoptotischen Mechanismen von EPO für den Schutz erythroider Vorläuferzellen (Gregoli & Bondurant, 1997; Silva et al., 1996). Via STAT3 Aktivierung vermittelt EPO seine protektive Wirkung im zentralen Nervensystem (Zhao et al., 2011) und Herz (Parsa et al., 2003). Weiter schwächt es via STAT3 die inflammatorische Antwort durch eine Reduktion der Makrophageninfiltration in weißem Fettgewebe ab (Alnaeeli et al., 2014).

2. Die Aktivierung des Phosphoinositid-3-Kinase (PI-3K)/Akt (Proteinkinase B) Signalwegs mit anschließender Inhibierung von GSK-3 β spielt eine signifikante Rolle in der Regulation der Apoptose verschiedener Zelllinien (F. Q. Li et al., 2004). Über die Inhibierung von GSK-3 β wird die Mobilisation und Migration von Stammzellen in Wunden für eine verbesserte Heilung angenommen (Wu et al., 2011). EPO schützt durch die inhibierend wirkende Phosphorylierung von GSK-3 β Kardiomyozyten vor stressinduzierter Apoptose (Ohuri et al., 2008; Tramontano et al., 2003). Der Aktivierung von Akt durch EPO folgt die Phosphorylierung von eNOS und eine vermehrte Bildung von NO, was wiederum die Mikrozirkulation im Gewebe verbessert (M. Brines & Cerami, 2008; Coldewey et al., 2013). Der PI3K/Akt-Signalweg wird auch als verantwortlich für die Bildung des Wachstumsfaktors VEGF durch dermale Endothelzellen und Fibroblasten diskutiert (Hamed et al., 2011). Via PI3K/Akt wird die Cytochrom-C vermittelte Bildung von Caspase 9, ein pro-apoptotisches Enzym, verhindert. Die anschließende Apoptose induzierende Signalkaskade wird somit inhibiert (Mullonkal & Toledo-Pereyra, 2007).
3. Die anti-inflammatorische Wirkung von EPO wird unter anderem auch durch die Inhibierung des NF- κ B-Systems erklärt. Der Transkriptionsfaktor NF- κ B ist für die Bildung pro-inflammatorischer Zytokine wie TNF- α , und IL-6 verantwortlich und zählt zu den Hauptregulatoren der inflammatorischen Antwort des Organismus. Durch die Inhibierung von NF- κ B wirkt EPO kardioprotektiv (X. Liu et al., 2006) und nephroprotektiv (Nairz et al., 2011; Souza et al., 2012). Umgekehrt wird vermutet, dass NF- κ B für die Inhibierung der EPO-Gen-Expression in entzündlichen Erkrankungen verantwortlich ist (La Ferla et al., 2002). Wichtig ist die Anmerkung, dass EPO im zentralen Nervensystem via NF- κ B-Aktivierung eine neuroprotektive Wirkung entfaltet (Digicaylioglu & Lipton, 2001; Lee et al., 2004). Folglich kann NF- κ B durch die Induktion anti-apoptotischer Gene auch als zytoprotektiver Transkriptionsfaktor wirken und spielt eine Rolle für die Expression von EPO während hypoxischer Zellzustände (Maiese et al., 2008). Eine weitere Verbindung zwischen der Induktion zytoprotektiver Signale via EPOR und NF- κ B-Aktivität besteht durch das Protein Bcl-XL, welches direkt von NF- κ B aktiviert werden kann (Bittorf et al., 2001).

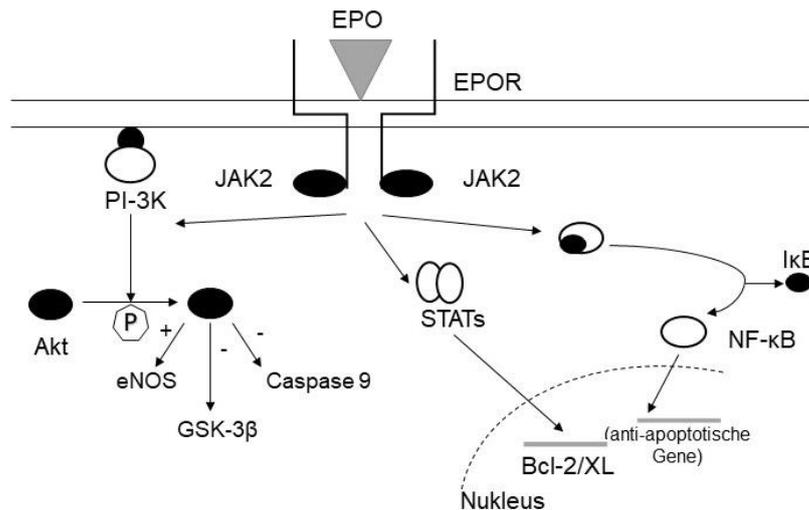


Abbildung 6: Signalwege von EPO

Abbildung gestaltet auf Grundlage von (Walden et al., 2010)

Die beschriebenen Signalkaskaden wurden besonders im Nervensystem, Herz und zum Teil in der Niere erforscht. Die Studienergebnisse deuten auf unterschiedliche Wirkmechanismen in den Zielzellen der verschiedenen Organsysteme hin (M. Brines & Cerami, 2008). Die beschriebenen Signalwege sind auch weitaus komplexer als hier vereinfacht dargestellt. Es wurden Detailausschnitte gewählt, um einen groben Überblick über die vielfältigen Modulationswege von EPO zu geben. Ihre ausführliche Beschreibung überschreitet den Rahmen dieser Arbeit. Alleine für NF-κB sind über 150 Zielgene identifiziert (Bittorf et al., 2001). Ferner sind noch weitere katalysierte Signalwege via EPOR bekannt (u.a. Ras->Raf->MAP-Kinase Signalweg) (W. Jelkmann et al., 2008).

1.3.5 EPO in der Wundheilung³

Der Ablauf der physiologischen Wundheilung ist wie in Kapitel 1.1.2 beschrieben ein komplexes Zusammenspiel aus sich überschneidenden molekularen, humoralen und zellulären Prozessen. Die Wirkung von EPO in der Wundheilung ist durch die Modulation dieser Prozesse geprägt. Anhand tierexperimenteller Studien wurden die zugrundeliegenden Mechanismen der Wirkung von EPO auf die Wundheilung untersucht. Schnitt-, Verbrennungs- und Verbrühungswunden, sowie Lappenplastiken mit und ohne induzierter Gewebeschämie dienen als Modelle für die Untersuchung der Wundheilung unter physiologischen und pathologischen Rahmenbedingungen. Da nicht auf jede Studie im Detail eingegangen werden kann, werden nur die wichtigsten Arbeiten im Folgenden

³ Als Grundlage dieses Kapitels wurden die Übersichtsarbeiten von *Sorg et al.* (Sorg et al., 2013; Sorg et al., 2010) und *Günter et al.* (C. I. Gunter, Rezaeian, et al., 2013) verwendet.

besprochen. Eine ergänzende Tabelle zu diesem Unterkapitel im Anhang listet diese und weitere Studien im Überblick auf.

In einer der ersten Arbeiten zum Thema „EPO in der Wundheilung“ wurden Darmanastomosen in Wistar-Ratten untersucht. Die Tiere erhielten über sieben Tage post-operativ EPO (500 IU/kg KG s.c.) oder ein Placebo (NaCl), bzw. den Wachstumsfaktor GM-CSF oder EPO und GM-CSF. Die Autoren beobachteten eine erhöhte Wundzugfestigkeit der Anastomosen, eine verbesserte Neoangiogenese und folglich eine effizientere Oxygenierung des Gewebes unter der EPO-Therapie. Als ursächlich wurde eine erhöhte Erythrozytenmasse, die direkte Wirkung von EPO als Wachstumsfaktor durch die Bindung an die Rezeptoren auf den Endothelzellen der Ratten sowie eine verbesserte Proliferation der Fibroblasten und Kollagenbildung diskutiert. Des Weiteren zeigte EPO einen anabolen Effekt (M. S. Fatouros et al., 1999).

Die Arbeitsgruppe von *Buemi et al.* untersuchte an einer experimentellen Lappenplastik (kaudal gestielter Hautlappen) in Ratten die gewebe-protective Wirkung von EPO bei ischämischen Schäden der Haut. EPO (300 IU/kg KG) wurde sieben Tage post-operativ s.c. verabreicht; Histologien wurden eine Stunde (1h), 24h, und 7 Tage nach Lappenhebung entnommen. Durch die Anwendung eines Videomikroskops wurden die Architektur und Zirkulation der Mikrogefäße im Lappen und umgebenden Gewebe untersucht. Des Weiteren wurden nekrotische Areale ausgemessen und in den Gruppen verglichen. Die Gabe von EPO führte zu einer signifikant kleineren Nekrosezone, einer verbesserten Revaskularisierung und gesteigerten Fibroblastenproliferation im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die inflammatorische Phase war durch eine moderatere Neutrophileninvasion und geringere Myeloperoxidasenbildung geprägt und zeigte somit sowohl im frühen als auch im späten Wundheilungsprozess ein besseres Ergebnis für die EPO-Gruppe (Buemi et al., 2002).

Haroon und Mitarbeiter demonstrierten an einem Tiermodell mit fibringefüllten Kammern im Subkutangewebe von Ratten die positive Wirkung von EPO. In der provisorischen Fibrinmatrix steigerte EPO dosisabhängig die Bildung von Granulationsgewebe. Dies wurde auf die Stimulation der Proliferation und Migration von Endothelzellen zurückgeführt. Die Expression von EPOR auf Makrophagen wurde ebenfalls nachgewiesen. Eine erhöhte Synthese von induzierbarer Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) und Stickstoffmonoxid (NO) wurde als Folgereaktion angenommen (Haroon et al., 2003). Viele Zellen, die in den Reparaturprozess von Wunden einbezogen sind, wie Makrophagen, Keratinozyten, Endothelzellen und Fibroblasten, produzieren NO entweder durch iNOS oder die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS). Effekte von NO im Gewebe sind u.a. eine anti-mikrobielle Wirkung, eine Vasodilatation und Induktion einer vaskulären Permeabilität, welche besonders in der inflammatorischen Phase der Wundheilung eine wichtige Rolle

spielen. Weiter wirkt sich dies positiv auf die Bildung von Kollagen, die Reepithelialisierung und die Wundkontraktion im Heilungsprozess aus (Schwentker & Billiar, 2003). Zudem konnte gezeigt werden, dass EPO die Hochregulation der iNOS unabhängig von der Präsenz inflammatorischer Zellen wie Makrophagen im Granulationsgewebe vermitteln kann (Haroon et al., 2003).

In einer weiteren Studie, die Schnittwunden und ischämische Lappenplastiken an Ratten untersuchte, ging die systemische Gabe von EPO (400 IU/kg KG) über zwölf Tage mit einer erhöhten Expression von VEGF (Maximum an Tag 3 und 5) einher. Dieser pro-angiogenetische Effekt führte zu einer höheren Dichte von Kapillaren im Gewebe und zu einem höheren Kollagengehalt in den Schnittwunden (Buemi et al., 2004). VEGF zählt zu den wichtigsten Wachstumsfaktoren im Wundheilungsprozess. Die Bildung neuer Gefäße sorgt für die nötige Oxygenierung, die Nährstoffversorgung im sich regenerierenden Gewebe und nimmt eine zentrale Rolle bei der Bildung von Granulationsgewebe ein (Johnson & Wilgus, 2014). In dermalen Schnittwunden diabetischer Mäuse erzielte die systemische Applikation von EPO (400 IU/kg KG) über 12 Tage eine gesteigerte Neubildung von Gefäßen durch die erhöhte Expression von VEGF und CD 31 (Maximum an Tag 3 und 6), ein Marker für vaskuläre und endotheliale Zellen. Es resultierte eine verbesserte Wundreißfestigkeit am zwölften Beobachtungstag (Galeano et al., 2004). Ebenso erzielte die topische Anwendung von EPO in einem Vollschnitt-Wundmodell an Ratten eine signifikante Verkürzung der Abheilungsdauer. Eine vermehrte VEGF-Expression und erhöhte Hydroxyprolin-Werte wurden aufgezeigt. Die anti-apoptotische Wirkung von EPO konnte anhand vermehrter Bildung des anti-apoptotischen Proteins Bcl-x₂ nachgewiesen werden (Hamed et al., 2010). In einer weiteren Studie dieser Arbeitsgruppe zeigte sich die anti-inflammatorische Wirkung des topisch angewendeten EPO durch Modulation und Reduktion pro-inflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- α und einer verminderten Apoptoserate im Wundbett (Hamed et al., 2011).

Galeano et al. berichteten als erste Arbeitsgruppe in einem experimentellen Verbrennungsmodell an Mäusen über die Wirksamkeit von EPO bei thermischen Verletzungen. Die Gabe von EPO (400 IU/kg KG) erzielte über 14 Tage eine schnellere und verbesserte Reepithelialisierung der Verbrennungswunden. Ein höherer Gehalt an VEGF und eine vermehrte Expression von iNOS und eNOS führten zu einer vermehrten epithelialen Proliferation und Gefäßneubildung und folglich zu einer rascheren Reifung der extrazellulären Matrix (Galeano et al., 2006). In einem weiteren Verbrennungsmodell konnte mit Hilfe einer bilderbasierten quantitativen Bestimmung neugebildeter Gefäße (< 500 μ m) eine signifikant verbesserte Vaskularisierung des verbrannten Gewebes unter EPO-Therapie (via einer speziellen subkutanen Pumpe) gezeigt werden. Unter topischer Applikation von EPO wurde eine vermehrte Expression der (Stammzell-)Marker CD 31, CD 90 und CD 71

nachgewiesen, welche im Wundheilungsprozess, insbesondere an der Bildung neuer Haut und Haarfollikel, beteiligt sind (Giri et al., 2015).⁴ *Bader et al.* untersuchten Verbrennungswunden an Mäusen mit dem Schwerpunkt, die mögliche Co-Expression des EPO-Heterorezeptors im geschädigten Gewebe nachzuweisen. Die Tiere erhielten EPO (400 IU/kg KG s.c.) über sieben bzw. 14 Tage. Bereits nach einer Woche zeigte sich bei den mit EPO behandelten Tieren ein signifikant besserer Wundverschluss. Der Nachweis der RNA-Expression des EPO-Heterorezeptors gelang semiquantitativ und war unabhängig von der Behandlung mit EPO. Die Autoren schlussfolgerten aus den Ergebnissen, dass dermale Stammzellen eine gewisse Bereitschaft besitzen, durch Expression des Rezeptors auf ein Trauma zu reagieren (Bader et al., 2012).

Harder und Kollegen untersuchten die Wirkung von EPO in zwei verschiedenen Dosierungen (500/5000 IU/kg KG) an einem muskulokutanen Lappenmodell mit 50 % Teilnekrose durch induzierte Ischämie. Die Gabe vor Induktion der Ischämie (24h) und über weitere drei Tage nach Lappenhebung führte zu einer signifikanten Nekrosereduktion in der niedrigdosierten EPO-Gruppe. Der Effekt von EPO war insbesondere auf die Verbesserung der Mikrozirkulation im Kapillarbett und damit der Gewebeversorgung zurückzuführen. Des Weiteren wurde eine signifikant herabgesetzte Leukozyten-Endothel-Interaktion und Zellapoptose im ischämischen Gewebe beobachtet, was für eine Reduktion der inflammatorischen Reaktion auf die induzierte Ischämie sprach. Dies spielte für das Lappenüberleben jedoch nicht die entscheidende Rolle (Harder et al., 2009).

An einem weiteren Lappenmodell in Mäusen demonstrierten *Contaldo et al.* die Wirkung von EPO auf die Mikrozirkulation im muskulokutanen Gewebe, welches über drei Stunden ischämisch war und anschließend reperfundiert wurde. Die Reperfusion von ischämischem Gewebe führt zu einer gesteigerten Hyperämie gefolgt von einer Konstriktion der Arteriolen. Durch die Vorbehandlung mit EPO konnte die Kapillarperfusion erhalten bleiben. Die Hyperpermeabilität und Entzündungsreaktion, welche durch eine verminderte Leukozyten-Endothel-Interaktion gekennzeichnet war, fiel gemäßiger aus. Die Autoren beschrieben eine vermehrte EPOR-Expression im ischämischen Gewebe und eine gesteigerte NO-Synthese via eNOS, sowie eine EPO-induzierte Angiogenese in der späten post-ischämischen Phase als zugrundeliegende Mechanismen (Contaldo et al., 2007). Die NO-vermittelte Gewebeprotektion durch die EPO-Administration wurde anschließend in einem Insellappen an Hamstern bestätigt. EPO wurde entweder alleine verabreicht oder in Kombination mit einem unspezifischen NO-Blocker (L-NAME: L-Nitro-L-Arginin Methyl Ester). Die signifikant verbesserte Lappenperfusion unter EPO konnte durch die Ko-Administration von L-NAME aufgehoben werden. Die Autoren formulierten abschließend die

⁴ Marker für: Endothel- und Blutzellen (CD 31), Proliferation (CD 71), Mobilisation von Stammzellen (CD 90, Nestin) (Giri et al., 2015).

Hypothese einer vielversprechenden Anwendung von EPO bei schwerkranken Patienten mit endothelialer Dysfunktion und hypoxischem Gewebeschaden durch den protektiven Effekt der EPO induzierten NO-Synthese (Contaldo et al., 2009). Dieselbe Arbeitsgruppe demonstrierte weiter die Modulation einer durch das pro-inflammatorische Zytokin TNF- α hervorgerufenen mikrovaskulären Entzündung durch die Gabe von EPO. Der beobachtete gewebeprotective Effekt konnte in eNOS-Knockout-Mäusen (eNOS^{-/-}) nicht nachgewiesen werden; das ließ die Autoren einen direkten Zusammenhang der anti-inflammatorischen Wirkung von EPO und der Induktion von eNOS vermuten (Contaldo et al., 2011).

In einer *in-vitro* Studie wurde die Wirkung von EPO und die Expression von EPOR an humanen Haarfollikeln untersucht (Bodo et al., 2007). Für die Regeneration von Haut sind die vertikale Migration und Differenzierung von Stammzellen, deren Ursprung Haarfollikel sind, unverzichtbar (Sorg et al., 2010). Die Arbeitsgruppe zeigte, dass die Keratinozyten der äußeren Haarwurzeln die Fähigkeit besitzen EPO zu bilden. Unter hypoxischen Bedingungen kam es dort auch zu einer vermehrten EPOR-Transkription. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass EPO innerhalb der Haarfollikel zellprotektiv gegen die Applikation von einem die Apoptose induzierenden Chemotherapeutikum wirkte (Bodo et al., 2007). *Bader et al.* entwickelten ein *in vitro* Modell, in welchem die Rolle der pro-inflammatorischen Zytokine IL-6, IL-1 β und TNF- α an humanen mesenchymalen Stammzellen und ihre Modulation durch EPO untersucht wurde. Die Stammzellen wurden unter hypoxischen Bedingungen kultiviert. EPO hemmte die Proliferation der Stammzellen in Abwesenheit der Zytokine und stimulierte sie in Anwesenheit von IL-6 und TNF- α . Dies stellt eine Form der endogenen Stammzellaktivierung im Falle eines Gewebetraumas dar und zeigt die enge Abstimmung zwischen der EPO-Wirkung und der posttraumatischen Situation. In derselben Publikation findet sich der Bericht von drei humanen Einzelstudien. EPO wurde hierbei in Form eines Hydrogels (3000 IU EPO/ 20g Hydrogel) auf eine Spalthautentnahmestelle, auf einen Dekubitus und ein vaskuläres Ulcus appliziert. EPO reduzierte die Abheilungszeit der Spalthautentnahmestelle von zehn auf sieben Tage und führte in den chronische Wunden zu einer verbesserten Formation von Granulationsgewebe (Bader et al., 2011).

Humane Studien, die die Wirkung von EPO auf die Wundheilung untersuchen, sind rar. Im Jahr 2004 publizierten *Keast und Fraser* eine retrospektive Fallstudie über die Behandlung von vier anämischen und paraplegischen Patienten mit chronischen Druckulcera (Stadium IV), die EPO systemisch (75 IU/kg KG s.c. 3x pro Woche für sechs Wochen) erhielten. Neben einer Verbesserung der Anämie, der Abwehrkräfte und der Lebensqualität der Patienten konnte eine deutliche Größenreduktion der Ulcera verzeichnet werden (Keast & Fraser, 2004). *Ferri et al.* zeigten in einer prospektiven Studie an 14 Sklerodermiepatienten mit Hautulcera, dass diese innerhalb von sechs Monaten unter systemischer EPO-Therapie (150 IU/kg KG über acht Wochen s.c.) verbessert abheilten (Ferri et al., 2007). In einer

randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie aus dem Jahr 2016 wurde EPO (30 IU/kg KG 1x Woche) über zwölf Wochen Patienten mit diabetischen Fußulcera gegeben. Das niedrigdosierte EPO förderte die vollständige Abheilung der Ulcera (EPO: 26.7% vs. Placebo: 14.3%). Als möglicher Mechanismus wurde die Mobilisation endothelialer Vorläuferzellen diskutiert, welche in diabetischen Ulcera die Wundheilung durch eine gesteigerte Angiogenese stimulieren (Chatzikyrkou et al., 2016).

Die Ergebnisse der beschriebenen Studien zusammengefasst kann EPO den Wundheilungsprozess während aller Heilungsphasen positiv beeinflussen (vgl. Abbildung 7).

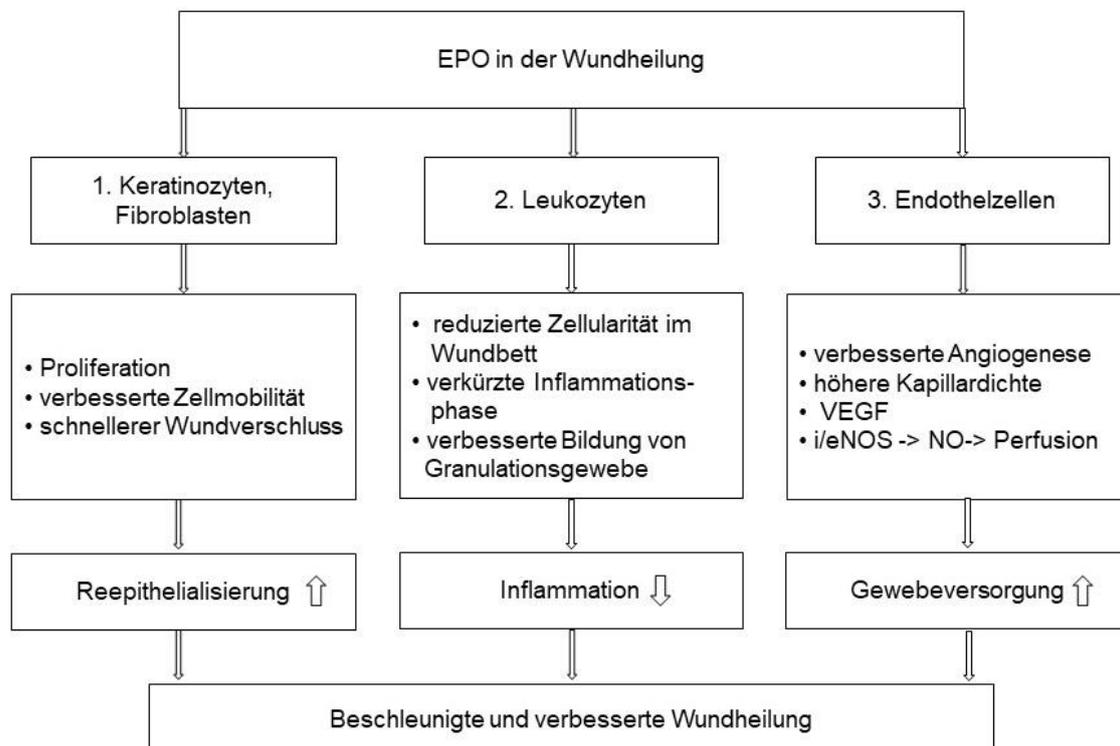


Abbildung 7: Wirkung von EPO in der Wundheilung

Abbildung gestaltet auf Grundlage von (Sorg et al., 2013)

- EPO moduliert die initiale Inflammation im Gewebe durch eine geminderte Leukozyten-Endothel-Interaktion, eine Reduktion apoptotischer Zellen im Wundbett und eine reduzierte Bildung pro-inflammatorischer Zytokine wie IL-6 und TNF- α .
- EPO fördert die Reepithelialisierung durch die Stimulierung der Migration und Proliferation von Keratinozyten und Fibroblasten; dies führt zu einem schnelleren Wundverschluss. Ferner sind diese Zellen und dermale Stammzellen durch die Expression des EPOR direktes Ziel der EPO-Therapie.

- EPO stimuliert die Expression von VEGF und aktiviert endotheliale Stammzellen. Dies führt zu einer verstärkten Neovaskularisierung und Angiogenese und folglich verbesserten Oxygenierung und Nährstoffversorgung des geschädigten Gewebes. Weiter hält es die Mikrozirkulation in ischämischem Gewebe durch die Induktion von iNOS und eNOS und daraus resultierender NO-vermittelter Vasodilatation aufrecht.
- Als mögliche zugrundeliegende Mechanismen werden die respektiven Signalwege diskutiert (vgl. Kapitel 1.3.4).

Tabelle 5 gibt einen Überblick der Wachstumsfaktoren, mit welchen EPO während des Heilungsprozesses interagiert.

Tabelle 5: Wachstumsfaktoren und EPO-Wirkung

Wachstumsfaktor	Wirkung	Zielgewebe/-zellen	EPO-Wirkung auf den Faktor
Tumornekrose Faktor α (TNF- α)	vermittelt „primary-injury-response“	ubiquitär	Antagonist
IL-2, -6, -8 (Interleukin)	pro-inflammatorische Zytokine	ubiquitär	Hemmung
γ -Interferon	pro-inflammatorisches Zytokin	ubiquitär	Hemmung
MIP 1 u. 2 (Makrophagen inflammatorisches Protein)	pro-inflammatorisches Protein	ubiquitär	Hemmung
Myeloperoxidase	Invasionsmarker für Makrophagen	ubiquitär	Hemmung
IL-1 β (Interleukin)	pro-inflammatorisches Zytokin	ubiquitär	Hemmung
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	Angiogenese	Gefäße	Stimulierung
eNOS (endothelial Nitric Oxidase)	Rekrutierung von endotheliale Progenitorzellen	Endothel/-zellen	Stimuliert Freisetzung
BDNF (Brain Derives Neurototic Factor)	vermittelt neuronale Plastizität	Neurone im ZNS	Stimuliert Freisetzung
Thrombopoietin	Reifung von \rightarrow	Megakariozyten zu Thrombozyten	Synergist
EGF (Endothelial Growth Factor)	Angiogenese	Endothel	Stimulierung
iNOS (inducible Nitric Oxidase)	Gefässdilatation, Entspannung der Glattenmuskulatur	Gefäße	Stimulierung
BCL-XI	anti-apoptotisch	ubiquitär	Stimulierung
IGF-I (Insulin like Growth Factor I)	anti-apoptotisch Zellproliferation	ubiquitär	Stimulierung
Caspase – 3/9	Apoptose	ubiquitär	Hemmung
BCL-2 (B-cell lymphoma 2)	anti-apoptotisch Proliferation	ubiquitär	Stimulierung
Heat Shock Protein 70	intrazelluläre Prozesse Protein Faltung und Transport	ubiquitär	Stimulierung

Tabelle entnommen und angepasst aus (C. I. Gunter, Rezaeian, et al., 2013)

1.4 Fragestellungen dieser Arbeit

In der vorliegenden Arbeit werden basierend auf den erhobenen Daten der „EPO in Burns“-Studie zwei Fragestellungen untersucht.

1.4.1 Ziel der Ereigniszeitanalysen in den Studiengruppen

Im ersten Teil der *post hoc* Analysen wird das Auftreten verschiedener Wundheilungsstufen (Reepithelisierungsgrade) unter der Therapie mit EPO vs. Placebo verglichen. Fragestellung ist, mit welcher Wahrscheinlichkeit erreichen die Patienten der zwei Studiengruppen den untersuchten Reepithelisierungsgrad während der Beobachtungszeit? Untersucht wird, ob die EPO-Gruppe im Wundheilungsverlauf einen zeitlichen Vorteil aufweist. Des Weiteren wird der Therapieeffekt von EPO hinsichtlich der Wundheilung berechnet. Dabei sind auch alters-, geschlechts- und krankheitsspezifische Unterschiede von Interesse.

Die Analysen sind eine Ergänzung der Auswertungen der „EPO in Burns“-Studie, deren primärer Endpunkt die Zeitdauer bis zur vollständigen Reepithelisierung eines untersuchten Wundareals, der SGDS, war.

Um den Wundheilungsverlauf in Abhängigkeit definierter Faktoren während des Beobachtungszeitraums der Studie zu untersuchen, wird im zweiten Teil der Analysen der Therapievergleich in neu gebildeten, *post hoc* definierten Subgruppen erhoben.

1.4.2 Definition Subgruppe

Eine Subgruppe ist die Bezeichnung einer Zusammenfassung von Patienten mit einem Merkmal (z.B. Geschlecht), das in Merkmalsausprägungen eingeteilt werden kann (z.B. männlich/ weiblich). Die verschiedenen Ausprägungen werden in der Statistik als Schichten bezeichnet. Die klassische Subgruppenanalyse in einer klinischen Studie ist die Evaluation des Therapieeffekts in den Schichten der gewählten Subgruppe. Es gibt etablierte Subgruppenanalysen nach Merkmalen wie Geschlecht oder Alter. Weitere Merkmale, auch Subgruppen definierende Variablen genannt, können frei gewählt werden (Moyé, 2003, pp. 267-268).

Ergebnisse von Subgruppenanalysen helfen Patientengruppen zu identifizieren, die einen therapeutischen Nutzen oder Nachteil einer Therapie haben (Gemeinsamer Bundesausschuss, 2016, p. 17). Der Haupteffekt einer Therapie kann sich durch den Einfluss prognostischer Faktoren bzw. Variablen in bestimmten Subgruppen der Patienten unterscheiden, da klinisch relevante Unterschiede eines Therapieeffekts in einer Studienpopulation auftreten können. Folglich kann eine Subgruppe von Patienten besonders von der Therapie profitieren, eine andere Subgruppe trotz positivem Haupteffekt des getesteten Medikaments einen Nachteil durch die Therapie haben. Bei der Auswertung klinischer Studien werden *a-priori*-Subgruppenanalysen und *post-hoc*-Subgruppenanalysen

unterschieden. *A-priori*-Subgruppen sind bereits bei Planung der Studie bestimmt worden; im Idealfall werden sie bei der Fallzahlplanung der Studie berücksichtigt. Ihre Ergebnisse sind confirmatorisch. *Post hoc* gebildete Subgruppen werden erst nach Sichtung der Daten definiert („datengetrieben“). Ergebnisse dieser Subgruppenanalysen sind rein explorativ und wirken Hypothesen generierend (Janatzek, 2004, pp. 6-7, 17).

1.4.3 Ziel der Subgruppenanalysen

Zielsetzung der vorliegenden Subgruppenanalysen ist, aus den Kategorien Begleitmedikamente, Vorerkrankungen und Nebendiagnosen, die während der Studienteilnahme bei Patienten gestellt wurden, Variablen (Erkrankungen, Medikamente) auszuwählen, um ihren Einfluss auf den Therapieeffekt von EPO im Wundheilungsverlauf zu untersuchen. Die Auswahl der subgruppenbildenden Variablen erfolgte nach Sichtung der Daten der Originaldatenbank. Die Subgruppen sind folglich *post hoc* definiert. Die Benennung und Begründung der gewählten Variablen aus den drei Kategorien wird im Kapitel 2.3.4 der Arbeit dargestellt.

2 Material und Methoden

Dieses Kapitel gibt einen Überblick über den Ursprung und die Verarbeitung der in dieser Arbeit verwendeten Daten. Alle Angaben und Messwerte wurden in der „EPO in Burns“-Studie erhoben. Gemäß den CONSORT-Leitlinien zur Berichterstattung randomisierter Studien wird im Folgenden eine kurze Zusammenfassung des Studiendesigns gegeben. Anschließend werden die verwendeten statistischen Methoden dargestellt. Darauf wird die Erstellung der verwendeten Excel-Datei aus der Original-Datenbank erläutert. Abschließend wird die Subgruppenauswahl begründet.

2.1 Die „EPO in Burns“-Studie

Die folgenden Angaben stammen aus dem Studienartikel und -protokoll (C. I. Gunter, Bader, et al., 2013; Machens, 2011) sowie dem statistischen Analyseplan der „EPO in Burns“-Studie (Hapfelmeier, 2014). Für eine detaillierte Darstellung der „EPO in Burns“-Studie sind diese Quellen heranzuziehen, da im Folgenden nur auf relevante Punkte für die vorliegende Arbeit eingegangen wird.

Die „EPO in Burns“-Studie wurde an spezialisierten Verbrennungszentren in Deutschland unter dem Patronat der Deutschen Arbeitsgesellschaft für Verbrennungsmedizin (DAV) durchgeführt. Sie entsprach den weltweit anerkannten Standards der „Guten Klinischen

Praxis⁵ in Übereinstimmung mit den ethischen Prinzipien der medizinischen Forschung und der *Declaration of Helsinki* und des Heidelberger Verfahrens nach Brückner für nicht einwilligungsfähige Patienten (Brückner et al., 2010). Die Genehmigung einer unabhängigen Ethikkommission lag vor.⁶ Die Studie wurde durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung von Juni 2007 bis Juni 2014 gefördert. Leiter der klinischen Prüfung war Prof. Dr. Hans-Günther Machens, die stellvertretende Leiterin der klinischen Prüfung und klinische Koordinatorin war Frau Dr. med. Dr. med. univ. Christina Irene Günter. Die Patientenrekrutierung erfolgte multizentrisch an 13 mitwirkenden Verbrennungszentren.

2.1.1 Zielsetzung und Hypothese der „EPO in Burns“-Studie

Die Zielsetzung der klinischen Studie war der Nachweis einer schnelleren Wundheilung durch den zytoprotektiven Effekt und der pro-regenerativen Wirkung von systemisch applizierten und niedrig dosierten, rekombinanten Erythropoietin (EPO) beim thermisch verletzten adulten Patienten. Unter konventioneller Therapie benötigt eine Spalthautentnahmestelle durchschnittlich 10 bis 15 Tage bis zur vollständigen Reepithelialisierung mit Abweichung von ± 6 Tagen, je nach Gesundheitszustand des Patienten (Cohen, 2000; Dornseifer, Fichter, et al., 2009). Die Hypothese der „EPO in Burns“-Studie war, dass die Zeit bis zur vollständigen Reepithelialisierung einer standardisierten Spalthautentnahmestelle (*skin graft donor side: SGDS*) am seitlichen Oberschenkel der Patienten unter der Therapie mit EPO verkürzt werden kann. Eine mögliche Reduktion von Morbidität und Mortalität durch die Gabe von EPO wurde ebenfalls untersucht.

2.1.2 Studiendesign

Die „EPO in Burns“-Studie war eine prospektive, Placebo-kontrollierte, randomisierte, doppelt-verblindete Phase II-Studie. Geplant war der Einschluss von 150 Patienten mit Verbrühungs- und Verbrennungswunden. Eine zentrale Randomisierung teilte die Patienten in den Behandlungsarm EPO oder Placebo ein.

2.1.3 Patientenpopulation

Patienten zwischen dem 18. und 75. Lebensjahr mit Verbrennungen zweiten (2b) oder dritten Grades sowie entsprechenden Verbrühungen wurden auf Einschluss in die Studie geprüft. Voraussetzung für die Aufnahme war eine betroffene KOF von mindestens 5 % bis maximal 60 % der Körperoberfläche. Patienten unter 40 Jahren durften auch eine Verletzungsfläche von mehr 60 % KOF aufweisen. Insgesamt sollten nicht mehr als 40 Patienten mit einer

⁵ ICH-E6-GCP; 1. Mai 1996 - *International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, Good Clinical Practice*

⁶ Universität Lübeck, Ratzeburger Allee 160, Gebäude 21, 23562 Lübeck, Deutschland

KOF < 10 % in die Studie eingeschlossen werden. Weiterhin war die Notwendigkeit einer Nekrektomie mit anschließender Spalthautentnahme und Transplantation obligat.

Eine Einwilligungserklärung der Patienten musste schriftlich vor Studieneinschluss vorliegen oder konnte durch das Heidelberger Verfahren bei nicht einwilligungsfähigen Patienten vollzogen werden. Bei Frauen war eine sichere Kontrazeption Voraussetzung für die Studienteilnahme.

Die Ausschlusskriterien sind im Folgenden aufgelistet:

- Zugang in Verbrennungszentrum später als 24 Stunden nach Verletzung
- Hämatologische Erkrankung (chronische Anämie, Lymphom, Leukämie, angeborene Gerinnungsstörung)
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Geschätzte Überlebenschance kürzer als eine Woche (Prognose nach ABSI-Score Punktzahl >12) bei Patienten über 40 Jahren
- Verbrannte Körperoberfläche von mehr als 60 % bei Patienten älter als 40 Jahre (Patienten unter dem 40. Lebensjahr dürfen sowohl mit einem ABSI >12 als auch KOF >60% eingeschlossen werden)
- Körpergewicht <50 kg oder >110 kg
- Beidseits seitlich verbrannte Oberschenkel
- Immunsuppressive Therapie, Chemotherapie oder Bestrahlung in den letzten zwölf Monaten
- Bekannte Unverträglichkeit oder Auftreten einer Hypertension bei der verwendeten Studienmedikation
- Einnahme von der Studienmedikation verwandten Substanzen in den vergangenen zwölf Monaten vor Einschluss in die Studie
- Klinisch relevante kardiovaskuläre, hepatische, endokrine oder systemische Erkrankungen (genauere Definition siehe Studienprotokoll)
- Wahrscheinlichkeit der notwendigen Einnahme von Medikamenten, die im Studienprotokoll verboten sind
- Epilepsie oder Erkrankung des epileptischen Formenkreises
- Phenylketonurie
- HIV oder AIDS
- Fehlende Einwilligungserklärung
- Unfähigkeit des Patienten die Studienprotokollauflagen zu erfüllen, z.B. unkooperative Haltung, Ablehnung der Follow-up Phase, etc.
- Patient ist ein Mitarbeiter oder durch andere Aufgaben in die Studie oder die Durchführung des Studienprotokolls involviert

2.1.4 Intervention

Jeder in die Studie eingeschlossene Patient wurde entsprechend klinischer Routine und den Zentren spezifischen Standards behandelt. Dies beinhaltete eine ausreichende Analgosedierung, falls notwendig die Beatmung des Patienten und gegebenenfalls eine Escharotomie.

2.1.4.1 Studienmedikation

Die Gabe der Studienmedikation erfolgte zusätzlich zur Behandlung der Verbrennungen. Jeder eingeschlossene Patient erhielt entweder 150 IU EPO⁷ s.c. pro Kilogramm Körpergewicht (kg/KG) oder ein Placebo⁸ s.c., vorzugsweise abdominal injiziert. Die Applikation wurde spätestens 48 Stunden nach Einschluss der Patienten begonnen und jeden zweiten Tag für eine Dauer von 21 Tagen fortgeführt. Datum und Uhrzeit der Applikation wurden dokumentiert. Während der 21 Tage der Gaben der Studienmedikation erhielt jeder Patient ein Antikoagulans (vorzugsweise Heparin i.v.). Die Gabe des Antikoagulans wurde anschließend für mindestens eine Woche fortgeführt. Die Dosierung wurde dem Körpergewicht angepasst und mittels PTT-Messungen kontrolliert.

2.1.4.2 Definition der untersuchten Wundareale

Die Untersuchung des Effekts von EPO auf die Wundheilung wurde anhand einer standardisierten Spalthautentnahmestelle (SGDS) (8x8 cm, 0,3 mm Dicke, Meshgraft: Verhältnis 1:1,5) durchgeführt. Am zweiten Tag nach Einschluss in die Studie wurde am seitlichen Oberschenkel der Patienten die SGDS zur Deckung einer passenden Verbrennungswunde von Grad 3 entnommen.

Neben der Entnahmestelle (SGDS) wurden zwei weitere Wundareale als zu beobachtende Wunden während der Studie (sogenannte Studienwunden) festgelegt: eine ausgewählte Verbrennung Grad 2b (SDW) und eine Verbrennungswunde Grad 3 mit Spalthauttransplantat (TDW). Diese drei ausgewählten Wundareale wurden nach den Angaben des Studienprotokolls mit einem speziellen Wunddressing und einer Polyurethan-Folie versorgt. Verbandswechsel und Wundkontrolle erfolgten innerhalb festgelegter Zeiträume. Der Wundheilungsprozess wurde nach einem strikten Schema dokumentiert. Die weitere Wundversorgung verlief nach dem vorgegebenen Standard des entsprechenden Studienzentrums. Dies konnte weitere Spalthauttransplantationen oder andere Hautersatzverfahren umfassen.

⁷ NeoRecomon Multidose 50,000 IU, Roche, Grenzach-Wylen, Germany

⁸ NaCl 8,24g, Benzylalkohol 3,67g, Benzalkoniumchlorid 0,58g, aqua ad injectionem ad 1000 ml

2.1.5 Durchführung und Dokumentation

Der Einschluss der Patienten in die Studie erfolgte durch ausgebildete Prüfarzte. Für die Entscheidung zur Aufnahme in die Studie wurde eine ausführliche Anamnese bei jedem potentiellen Patienten erhoben. Initial wurde auf der Intensivstation das Verbrennungsausmaß sowie die Verbrennungstiefe beurteilt (KOF; Grad der Verbrennungen). Gewicht und Größe wurden gemessen, eine erste Blutbildkontrolle und eine Dokumentation der Organfunktion anhand des SOFA-Scores durchgeführt. Erfolgte ein Studieneinschluss, so begann ab diesem Zeitpunkt das Behandlungsschema nach Studienprotokoll (vgl. Abbildung 8).

Zum Zeitpunkt der Aufnahme bestehende Erkrankungen (Vorerkrankungen) wurden dokumentiert. Während der Studie neu auftretende Erkrankungen (Nebendiagnosen) wurden ebenfalls dokumentiert. Des Weiteren wurde jedes Medikament (Begleitmedikamente), das ein Patient bei Studieneinschluss bereits nahm oder während der Studie zusätzlich zur Studienmedikation erhielt, im Prüfbogen aufgeführt.

2.1.6 Endpunkte der „EPO in Burns“-Studie

Der primäre Endpunkt der „EPO in Burns“-Studie war die Zeit bis zur vollständigen (100 %) Reepithelialisierung der SGDS. Die Zeit wurde in Tagen angegeben. Die Zeitmessung begann an Tag 01, welcher als Tag der ersten Gabe der Studienmedikation (EPO oder Placebo) definiert war.

Die sekundären Endpunkte der „EPO in Burns“-Studie umfassten unter anderem den Vergleich der Zeit bis zur vollständigen Reepithelialisierung der zwei nicht standardisierten Studienwunden (SDW und TDW) in den zwei Behandlungsgruppen. Für weitere sekundäre Endpunkte siehe (C. I. Gunter, Bader, et al., 2013).

2.1.7 Wunddokumentation

Die Wunddokumentation der Studienwunden (SGDS, SDW und TDW) erfolgte mithilfe einer Prozentskala in den Prüfbögen (CRF) (vgl. Abbildung 9). Die Prüfarzte dokumentierten jeden zweiten Tag ab der ersten Gabe der Studienmedikation (Tag 01) bzw. ab dem ersten Verbandswechsel der SGDS den Fortschritt der Reepithelialisierung der Studienwunden in Prozentangaben. Die Dokumentation endete am Tag 16. Für die statistischen Analysen ergab sich eine Ordinalskala.

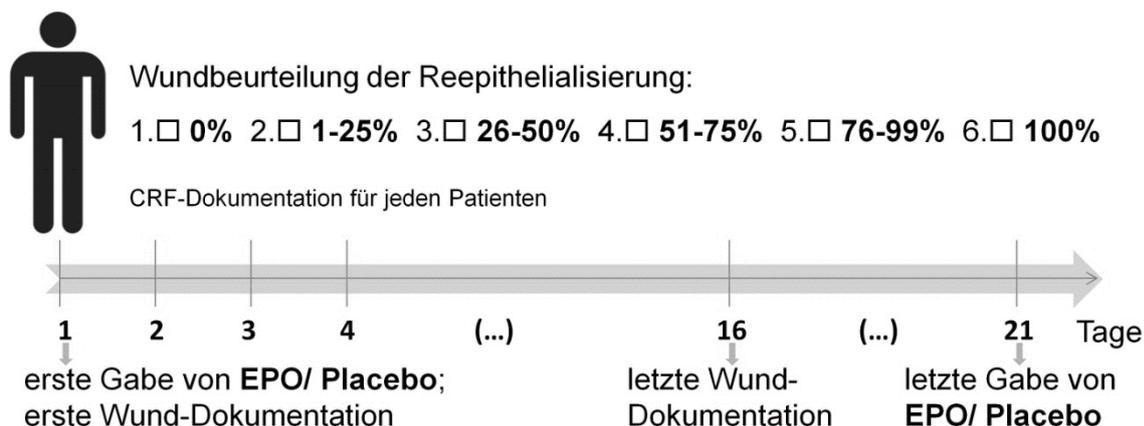


Abbildung 9: Wunddokumentation entsprechend der Abfrage in den Prüfbögen (CRF)

2.2 Statistischer Analyseplan

Die in dieser Arbeit verwendeten statistischen Methoden unterscheiden sich von den statistischen Methoden, die im Studienprotokoll und im statistischen Analyseplan der „EPO in Burns“-Studie festgelegt wurden.

Zum Verständnis und zur Abgrenzung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit von der Studiauswertung der „EPO in Burns“-Studie wird kurz auf die statistischen Methoden der „EPO in Burns“-Studie eingegangen.

2.2.1 Statistische Methoden der „EPO in Burns“-Studie

Der primäre Endpunkt der „EPO in Burns“-Studie war der Vergleich der benötigten Zeit in Tagen (abhängige Variable) bis zur vollständigen Reepithelialisierung (100 %) der SGDS in den zwei Behandlungsarmen EPO vs. Placebo (unabhängige Variable). Die Reepithelialisierung lag in Form ordinalskalierter Daten vor (s.o.). Als Vergleichstest wurde der zweiseitige van-Elteren Test bzw. Mann-Whitney-U Test verwendet. Erreichte ein Patient bis zum Ende der Beobachtungszeit (Tag 21) keine vollständige Reepithelialisierung der SGDS, so griff die Regelung des *worst-case scenario*, d.h. für die fehlenden Werte des primären Endpunkts wurden Ersatzwerte in den Analysen verwendet. Patienten der Placebo-Gruppe, die keine vollständige Reepithelialisierung erreichten, wurde Tag 16 als

Endpunkt eingetragen, d.h. diese Patienten erreichten die vollständige Reepithelialisierung an Tag 16 in der Auswertung. Für Patienten der EPO-Gruppe wurde Tag 31 als Endpunkt festgesetzt. Bei jedem statistischen Test wurde eine zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % als Signifikanzniveau angenommen und in der Fallzahlplanung berücksichtigt. Die Fallzahl der „EPO in Burns“-Studie wurde auf 150 Patienten festgelegt. Die Fallzahlberechnung basierte darauf, dass mit 49 Patienten pro Behandlungsarm im Mittel ein Unterschied von vier Tagen in der Wundheilung zwischen den zwei Behandlungsgruppen bei einer Power von 90 % erreicht werden kann (Standardabweichung ± 6 Tage, zweiseitiges 5 % Signifikanzniveau). Die Fallzahl wurde von 98 auf 150 Patienten unter Berücksichtigung von *drop outs* erweitert.

2.2.2 Statistische Methoden in der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Methoden der Ereigniszeitanalyse, die Sterbetafel und die Cox-Regression, verwendet. Ereigniszeitanalysen untersuchen mit welcher Wahrscheinlichkeit bestimmte Ereignisse im zeitlichen Verlauf auftreten oder nicht (Bühl, 2014, p. 815).

Im vorliegenden Fall wurde untersucht mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Patient aus der EPO- bzw. Placebo-Gruppe die vollständige Reepithelialisierung der drei Studienwunden (SGDS, SDW, TDW) innerhalb des Beobachtungszeitraums von 21 Tagen erreichte. Neben der vollständigen (100 %) interessierten auch frühere Stadien der Reepithelialisierung. Der Wundheilungsverlauf wurde hierfür in drei Reepithelialisierungsgrade eingeteilt (siehe Kapitel 2.2.2.2).

Ein deskriptiver Überblick der Charakteristika der Studienpopulation wurde ebenfalls erstellt. Für die Analysen dieser Arbeit lag eine eigens erstellte Datenbank in Excel vor. Alle Analysen wurden in der *Intention-to-treat* (ITT) Studienpopulation durchgeführt (*available-case*-Auswertung). Das ITT-Analyse-Set umfasste die erhobenen Daten aller randomisierten Patienten, die einem Behandlungsarm zugeteilt worden waren und mindestens eine Gabe der Studienmedikation erhalten hatten.

Alle statistischen Tests wurden mit SPSS (Version 22, IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) durchgeführt.

2.2.2.1 Deskriptive Statistik

Demographische Merkmale wie Alter und Geschlechterverteilung der Studienpopulation wurden durch Angaben des Mittelwerts (MW), der Standardabweichung des Mittelwerts (SD) oder Maximum (Max), Minimum (Min) und Median (MD) beschrieben. Weitere Charakteristika waren der ABSI-Score und der Anteil der verbrannten Körperoberfläche in Prozent (KOF) der Patienten. Qualitative Daten wurden durch absolute and relative Häufigkeiten angegeben.

2.2.2.2 Reepithelialisierungsgrade

Die Einteilung der Reepithelialisierung der Studienwunden in sogenannte „Grade“ orientierte sich an der Prozentskala in den Prüfbögen (CRFs) (vgl. Abbildung 9). Es wurden drei Reepithelialisierungsgrade definiert:

1. 50 % Reepithelialisierungsgrad (dokumentiert mit Zahl 4)
2. 75 % Reepithelialisierungsgrad (dokumentiert mit Zahl 5)
3. 100 % Reepithelialisierungsgrad (dokumentiert mit Zahl 6)

Durch diese Einteilung war eine Einschätzung des Wundheilungsverlaufs in den Behandlungsarmen möglich.

2.2.2.3 Sterbetafel

Sterbetafeln berechnen die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Ereignis bis zu einem bestimmten Zeitpunkt eintritt.⁹ Das in dieser Arbeit untersuchte Ereignis war das Eintreten des jeweiligen Reepithelialisierungsgrads. Die sich daraus ergebende Fragestellung lautete: Mit welcher Wahrscheinlichkeit wurde jeder der drei Reepithelialisierungsgrade über den Beobachtungszeitraum in den zwei Behandlungsarmen erreicht? Das Ergebnis war eine bedingte (zeitabhängige) Ereigniswahrscheinlichkeit für das Erreichen des Reepithelialisierungsgrads unter der Therapie mit EPO oder Placebo. Die Darstellung erfolgte als Funktion der Zeit mit den Ereigniszeitkurven der zwei Behandlungsarme. Aus den Kurven kann die Reepithelialisierungsrate zu bestimmten Zeitpunkten der Patienten in den zwei Behandlungsarmen abgelesen werden. Die mediane Reepithelialisierungszeit, d.h. die Zeit in Tagen bis die Hälfte der Patienten den untersuchten Reepithelialisierungsgrad erreichte, ist ebenfalls ersichtlich. Sie wurde auch eigens berechnet.

Die mediane Reepithelialisierungszeit erlaubt eine Aussage, welche Behandlungsgruppe den entsprechenden Grad früher erreichte. Der gewählte Beobachtungszeitraum umfasste die Dauer der Studienmedikationsgabe, folglich 21 Tage. Die Beobachtungsintervalle wurden auf zwei Tage festgelegt, da die Abfrage der Reepithelialisierung nicht kontinuierlich, sondern jeden zweiten Tag erfolgt war. Für den paarweisen Vergleich der Reepithelialisierungswahrscheinlichkeiten in den Behandlungsarmen wurde der Wilcoxon-Gehan-Test verwendet. Das Signifikanzniveau lag bei 5 %.

Die Sterbetafeln wurden als Methode gewählt, da zum einen der zeitliche Verlauf der Reepithelialisierung in den zwei Behandlungsarmen mittels einer Ereigniszeitfunktion abgebildet werden konnte. Zum anderen konnten auch diejenigen Patienten in den Analysen berücksichtigt werden, bei denen die vollständige Reepithelialisierung der Studienwunden bis zum Ende des Beobachtungszeitraums nicht eingetreten war. Dies waren in der

⁹ Als Grundlage der Methodenbeschreibung wurde der Aufsatz von (Ziegler et al., 2007b) verwendet.

„EPO in Burns“-Studie verhältnismäßig viele Patienten. Die fehlenden Werte dieser Patientenfälle mussten nicht nach den Vorgaben des *worst-case scenario* ersetzt werden, sondern konnten auf Tag 21 in beiden Behandlungsarmen festgelegt werden (s.u.).

2.2.2.4 Cox-Regressionsmodell

Das Cox-Regressionsmodell berechnet den Effekt mehrerer Einflussgrößen (Kovariaten) auf eine Zielvariable, in diesem Fall die Reepithelialisierungszeit. Im ersten Teil der Analysen wurde das Ausmaß des Therapieeffekts von EPO hinsichtlich der Reepithelialisierung der drei Studienwunden untersucht. Das Ergebnis ist das Hazard Ratio. Das Hazard Ratio ist die Schätzung des Verhältnisses der Hazardrate der Verum-Gruppe (EPO) vs. Kontrollgruppe (Placebo). Die Hazardrate ist wiederum die Wahrscheinlichkeit, dass, falls das untersuchte Ereignis noch nicht eingetreten ist, es im nächsten Beobachtungsintervall eintreten wird, dividiert durch die Länge des Intervalls. Das Hazard Ratio wird in dieser Arbeit als eine Schätzung des Therapieeffekts von EPO bzw. als Chance interpretiert.¹⁰ Ein Hazard Ratio >1 steht für einen positiven Therapieeffekt. Es sagt aus, dass die Chance für das Erreichen des untersuchten Reepithelialisierungsgrads für Patienten, die EPO erhielten, größer war als für Patienten, die das Placebo erhielten. Daraus folgt, dass die Patienten der EPO-Gruppe eine höhere Chance hatten während der Beobachtungszeit schneller zu heilen.¹¹ Ein Hazard Ratio <1 steht für einen negativen Therapieeffekt. Es sagt aus, dass Patienten, die EPO erhielten, eine geringere Chance auf Erreichen des untersuchten Reepithelialisierungsgrads hatten, als Patienten, die das Placebo erhielten. Bei einem Hazard Ratio gleich (=) 1 besteht kein Unterschied in der Therapie mit EPO im Vergleich zu dem Placebo. Für jeden Reepithelialisierungsgrad der SGDS wurde das Hazard Ratio nach dem Alter (kontinuierlich), Geschlecht (Referenz: männlich) und ABSI \geq 7 adjustiert. Die Analysen der SDW und TDW wurden ohne Risikoadjustierung durchgeführt. Als Signifikanztest diente die Wald-Statistik.

2.2.2.5 Subgruppenanalysen

Um die Frage zu klären, ob Erkrankungen der Patienten oder zusätzliche Medikamente einen Einfluss auf die Wundheilung hatten, wurden die Subgruppenanalysen durchgeführt. Mittels des Cox-Regressionsmodells wurde der Therapieeffekt von EPO in den Behandlungsarmen getrennt nach Subgruppenstatus berechnet. Zudem wurde der Interaktionseffekt zwischen dem Therapieeffekt (EPO) und der subgruppendefinierenden

¹⁰ In den Aufsätzen von (Katz & Hauck, 1993; Spruance et al., 2004; Ziegler et al., 2007a) ist die Methode ausführlich beschrieben. Bei Ereigniszeitanalysen wird das Hazard Ratio oft als Risiko bezeichnet, da es sich hier um ein positives Ereignis handelt, kann man von einer Chance sprechen. Des Weiteren ist in diesen Artikeln von Überleben statt Reepithelialisierung als Ereignis die Rede.

¹¹ Hieraus ist keine Aussage um wie viel schneller ableitbar; diese Aussage kann anhand der Angabe der medianen Reepithelialisierungszeit getroffen werden.

Variable (z.B. Insulin) für jeden Reepithelialisierungsgrad bestimmt. Das Cox-Regressionsmodell beinhaltete für diese Analyse die Behandlungsgruppe, die Subgruppe und einen Produktterm aus Behandlungsgruppe und Subgruppe als Kovariable. Ausgabe war das Hazard Ratio des Therapieeffekts in der Subgruppenschicht mit Status 0, sowie das Hazard Ratio des Produktterms. Der Produktterm ist als Angabe zu werten, um welchen Faktor sich der Therapieeffekt in den Subgruppenschichten unterscheidet. In einer weiteren Rechnung wurde der Therapieeffekt der Subgruppenschicht mit Status 1 berechnet. Die subgruppenbildenden Variablen wurden als Ereignisvoraussagen bezüglich der Reepithelialisierung der SGDS zusätzlich univariat untersucht. Als Signifikanztest diente auch hier die Wald-Statistik.

Für die graphische Darstellung der Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit sowie für die Berechnung der medianen Reepithelialisierungszeit wurde ebenfalls die Methode der Sterbetafel für jede Subgruppe angewendet. Der Vergleich der Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit wurde paarweise durchgeführt. Als Signifikanztest wurde der Wilcoxon-Gehen-Test verwendet.

Die Anforderungen an die Subgruppenanalysen wurden durch den Test auf Interaktion erfüllt. Die Strukturgleichheit einer randomisierten Studie war in jeder Subgruppe gegeben. Die Anzahl der Subgruppen wurde, um multiples Testen zu vermeiden, auf sieben beschränkt. Eine Korrektur des vorgegebenen Signifikanzniveaus wurde nicht durchgeführt. Es wurde darauf geachtet, dass die subgruppenbildende Variable nicht von der Studienmedikation beeinflusst war. Bei der Interpretation der Ergebnisse war der beobachtete Haupteffekt der Studie richtungsweisend.

2.2.2.6 Zensierung/ Umgang mit fehlenden Daten

Patienten, die den untersuchten Reepithelialisierungsgrad bis zum Ende der Beobachtungszeit¹² nicht erreicht hatten, wurden in den Analysen als „zensierte“ Fälle behandelt. Man spricht in solchen Fällen von rechts-zensierten Daten (Schumacher & Schulgen, 2008, p. 73). Die Zensierung erfolgte durch die Zuordnung einer Status-Variable mit der Ausprägung 0.¹³ Der gewählte Zeitpunkt der Zensierung war für Patienten beider Behandlungsarme das Ende des Beobachtungszeitraums (Tag 21). Patienten, bei denen keine Dokumentation der untersuchten Studienwunde vorlag, gingen nicht in die Auswertung ein.

¹² Innerhalb der 21 Tage, mit Dokumentation bis Tag 16.

¹³ Patienten, die den untersuchten Reepithelialisierungsgrad nicht erreichten, erhielten folglich die Status-Variable 0, Patienten mit erreichtem Ereignis die Status-Variable 1.

2.2.3 Limitation

Die Auswahl der verwendeten statistischen Methoden für diese Arbeit erfolgte nach Abschluss der Studie. Die Subgruppen dieser Arbeit wurden *post hoc* definiert und nicht in der Fallzahlplanung der Studie (Powerberechnung) berücksichtigt. Eine Aussage über die Signifikanz der Ergebnisse der Ereigniszeit- und Subgruppenanalysen ist somit nicht möglich. Das 95 %-Konfidenzintervall jeder Analyse wurde aufgeführt; auf die Darstellung des p-Werts wurde wegen geringerer Aussagekraft als das 95 %-Konfidenzintervall bei den Subgruppenanalysen verzichtet.

2.3 Erstellung der Datenbank

Alle verwendeten Daten dieser Arbeit stammen aus der „EPO in Burns“-Studie. Für den Datensatz wurde eine Datenbank in Excel mit verschiedenen Arbeitsmappen angelegt. Die Arbeitsmappen wurden für die Analysen in SPSS übertragen.

Die Daten waren bei Übergabe entblindet und anonymisiert. Eine Angabe der Meta-Daten und Codierung der Variablen wurde ebenfalls übergeben.

2.3.1 Struktur der Datenbank

Die Datenbank in Excel mit Arbeitsmappen wurde im Querformat angelegt.

Einige Daten (demographische Merkmale: Alter, Geschlecht, Größe, etc.) konnten aus der Original-Datenbank kopiert werden. Viele Angaben der Originaldatenbank waren jedoch im Long-Format gehalten (mehrere Zeilen pro Patienten). Diese Struktur war für die geplanten Analysen in SPSS nicht verwendbar. Eine Übertragung der Daten in das Querformat erfolgte per Hand aus der Originaldatenbank in die neue Excel-Datei.

2.3.2 Generierung neuer Variablen

Die geplanten statistischen Analysen erforderten die Berechnung neuer Variablen aus den vorhandenen Daten (integrierte Daten).

2.3.2.1 Berechnungen demographischer Daten

Die meisten demographischen Daten wie Alter, Gewicht und Größe wurden als Zahlen mit der entsprechenden Einheit übernommen. Manche Merkmalsausprägungen wurden weiter in Gruppen kategorisiert. So wurde zum Beispiel aus der Variablen „Alter“ eine Variable mit dichotomer Ausprägung „Alter über 60 Jahre“ ($\text{Alter} > 60$) „ja“ oder „nein“ erstellt. Die Kodierung für die Ausprägung „ja / nein“ war für jedes Merkmal „1 / 0“. Excel bietet eine Reihe von Formeln für die Berechnung neuer Variablen aus vorhandenen Werten.

2.3.2.2 Berechnungen zur Abbildung des Wundheilungsverlaufs

Für die Berechnungen der Ereigniszeitanalysen mussten aus den Angaben zur Reepithelialisierung der Studienwunden neue Variablen generiert werden. Die Dokumentation des Wundheilungsverlaufs ist in Abbildung 9 dargestellt.

In der Original-Datenbank war der Reepithelialisierungsfortschritt mit entsprechender Prozentangabe an den Abfragetagen 01, 02, 04, 06, 08, 10, 12, 14 und 16 als Zahl von 1 bis 6 codiert (1= '0 %', 2= '1-25 %', 3= '26-50 %', 4= '51-75 %', 5= '76-99 %', 6= '100 %'). War die SGDS eines Patienten an Tag 6 zu 58 % reepithelialisiert, so war an Tag 6 der Wert 4 dokumentiert.

Für jeden Patienten wurden diese Angaben in die neue Datenbank im Querformat übertragen. Anschließend wurde der maximal erreichte Reepithelialisierungsgrad (*MAX*) mit der Formel $MAX(Tag01:Tag16)$ und der Tag des maximal erreichten Reepithelialisierungsgrads (*Tag_Max*) mit der Formel $WENN(Tag01=MAX;1;WENN(Tag02=MAX;1;...))$ berechnet.

Für jeden der drei Reepithelialisierungsgrade war es wichtig zu wissen, an welchem Tag er erreicht wurde. Mit der Formel $WENN(Tag01>3;1;WENN(Tag02>3;2;WENN(...)))$ wurde der Tag berechnet an dem eine Reepithelialisierung über 50 % erreicht wurden. Für den 75 % und 100 % Reepithelialisierungsgrad wurde die Zahl 3 in der Formel durch Zahl 4 bzw. Zahl 5 ersetzt.¹⁴ Ein Beispiel der Arbeitsmappe ist in Abbildung 10 zu sehen. Patient 01-005 erreichte eine Reepithelialisierung über 50 % an Tag 10.

Patienten-ID	...	Tag 8	Tag 10	Tag 12	...	Tag 16	Max	Tag_Max	Tag 50%	Tag 75%	Tag 100%
...
01-005	...	3	4	4	...	5	5	14	10	16	21
01-006	...	3	4	5	...	6	6	16	10	12	16
01-007	...	4	5	5	...	6	6	16	8	12	16
...

Abbildung 10: Beispiel einer erstellten Arbeitsmappe Generierung der Status-Variable

Für die Zensierung der Fälle, die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad nicht erreichten, wurde die Status-Variable mit der Formel $Wenn(MAX>3;1;0)$ ¹⁵ für den 50 % Reepithelialisierungsgrad berechnet. Die Zahl 3 wurde durch die Zahl 4 bzw. 5 für den 75 % bzw. 100 % Reepithelialisierungsgrad ersetzt.

2.3.3 Daten für die geplante Subgruppenbildung

Die Erstellung der Arbeitsmappen *Begleitmedikamente*, *Vorerkrankungen* und *Nebendiagnosen* in der neu angelegten Excel-Datei wird im Folgenden kurz erläutert.

¹⁴ Die Reepithelialisierung war entsprechend codiert 3= '26-50%', 4= '51-75%', 5= '76-99%'.

¹⁵ Formel $Wenn(MAX>4;1;0)$ für den >75% Reepithelialisierungsgrad und Formel $Wenn(MAX>5;1;0)$ für den 100% Reepithelialisierungsgrad.

2.3.3.1 Begleitmedikamente

Medikamente, die ein Patient während des Studienverlaufs erhielt, waren dokumentiert und in der Originaldatenbank aufgeführt. Diese gelisteten Medikamente wurden für jeden Patienten sortiert und einer Wirkstoffklasse zugeordnet (z.B. Propofol zu Narkotika).

In der neuen Datenbank wurden drei Spalten für jede Wirkstoffklasse angelegt: Name der Wirkstoffklasse, Anzahl der Medikamente und Name des Medikaments. Jeder Patient erhielt für die Wirkstoffklasse den Variablenwert 1, falls er ein Medikament dieser Klasse erhalten hatte, oder den Variablenwert 0, falls er kein Medikament dieser Klasse erhalten hatte. In der zweiten Spalte wurde die Anzahl der Medikamente, die ein Patient aus einer Wirkstoffklasse erhalten hatte, festgehalten. In der dritten Spalte wurde der Wirkstoffname eines jeden Medikaments aufgeführt. Falls der Markenname statt des Wirkstoffnamens gelistet war, wurde der Wirkstoffname in die neue Datenbank übernommen (vgl. Abbildung 11).

ID	Narkotika	Anzahl	Name
01-002	0	0	
01-003	1	1	Propofol
01-004	0	0	
01-005	1	1	Propofol
01-006	0	0	
01-007	1	1	Propofol
01-008	1	2	Ketamin, Propofol

Abbildung 11: Beispiel Arbeitsmappe Begleitmedikamente

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick aller Medikamentenklassen und Medikamente, die Patienten während der Studie erhielten. Die Anzahl gibt die Patienten an, die mindestens ein Medikament der gelisteten Medikamentenklasse erhielten. Auf die Aufzählung von Nahrungsergänzungsmitteln wurde verzichtet.

Tabelle 6: Liste aller Begleitmedikamente

Medikamentenklassen	Anzahl	Medikamentennamen
Antidepressiva:	17	Amitriptylin, Citalopram, Escitalopram, Mirtazapin, Venlafaxin, Trimipramin
Antikonvulsiva:	10	Phenytoin, Pregabalin (Lyrika)(9), Primidon
Benzodiazepine:	62	Brotimazol, Clorazepam, Diazepam, Flunitrazepam, Lorazepam, Lormetazepam, Midazolam, Nitrazepam, Oxazepam, Zolpidem, Zopiklon
Muskelrelaxanzien:	10	Pancuronium, Rocuronium
Narkotika:	52	Etomidat, Isofluran, Ketamin, Propofol
Neuroleptika:	18	Haloperidol (Sedierung), Olanzapin, Promethazin, Quetiapin, Risperidon
NSARs:	70	Dexketoprofen, Diclofenac, Etoricoxibum, Ibuprofen, Metamizol, Paracetamol
Opioid (WHO Stufe 1+2):	56	Dihydrocodin, Pethidin, Piritramid, Tilidin, Tramadol,
Opioid (WHO Stufe 3+4):	73	Buprenorphin, Fentanyl, Morphin, Oxycodon, Remifentanil, Sufentanil, Tapentadol

Medikamentenklassen	Anzahl	Medikamentennamen
Diuretika:	46	Furosemid, HCT, Spironolakton, Triamteren, Torasemid
Vasopressoren:	43	Adrenalin, Dobutamin, Dopamin, Noradrenalin
Sympathomimetika	18	Salbutamol
Weitere Herz-Kreislauf Medikamente:	55	Acetylsalicylsäure, Amiodaron, Amlidipin, Clonidin (Schmerz), Atropin, Bisoprolol, Digitoxin, Enalapril, Metoprolol, Nifedipin, Olmesartan, Ramipril, Simvastatin, Sotalol, Telmisartan, Theophyllin, Urapidil, Verapamil,
Insulin	36	
Glukokortikoide**	14	Beclometason dipropionat, Budesonid, Hydrocortison, Prednisolon
Antibiotika		
Carbapeneme:	23	Doripenem(1x), Imipenem, Meropenem
Cephalosporine:	34	Cefazolin, Cefuroxim, Ceftazidim, Cefotaxim, Ceftriaxon, Cefepim,
Chinolone:	22	Ciprofloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin
Glykopeptide:	10	Vancomycin
Penicilline:	45	Ampicillin, Flucloxacillin, Penicillin, Piperacillin/Tazobac/Combactam
Weitere Antibiotika:	20	Amikacin+Gentamicin, Clindamycin, Daptomycin, Erythromycin, Fosfomycin, Linezolid, Metronidazol, Mupirocin, Polymyxin*Colomycin, Tigecyclin
Antimykotika:	11	Caspofungin, Clotrimazol, Fluconazol, Nystatin, Voriconazol
Virostatika:	3	Aciclovir

* Indikation: Diabetes mellitus II, Hyperglykämie, Stoffwechsellgleichung

** Applikationsform.: lokal, systemisch; Indikation: Sepsis, Infektionen

Jeder Studienteilnehmer erhielt während der Applikation der Studienmedikation eine adäquate Thromboseprophylaxe mit Heparin oder einem vergleichbaren Medikament.

2.3.3.2 Vorerkrankungen

Vorerkrankungen waren von 39 Patienten in der Original-Datenbank dokumentiert.

Für die Vorerkrankungen wurde eine Liste nach dem ICD-10 Klassifikations-Schema erstellt.

Tabelle 7: Liste der Vorerkrankungen nach ICD-10

Klassifikation	Erkrankung	Anzahl	Bemerkung
1. Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten		2	
	Hepatitis B	1	
	Herpes Zoster Neuralgie	1	
2. Neubildungen		2	
	Bronchialkarzinom	1	
	Mundbodenkarzinom	1	
3. Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe		1	
	chronischer Eisenmangel	1	

Klassifikation	Erkrankung	Anzahl	Bemerkung
4. Endokrine, Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten		16	
	Diabetes mellitus Typ 2	6	
	Hypercholesterinämie	3	
	Hyperthyreose	1	
	Hyperurikämie	2	
	Hypothyreose	2	
	Hypourikämie	1	
	ideopathische unkonjugierte Hyperbilirubinämie (V.a. Gilbert-Meulengracht-Syndrom)	1	
5. Psychische und Verhaltensstörungen		18	
	Alkoholabusus	4	
	Delirium	1	fremdaggressiv
	Depressive Störungen	3	
	Nikotinabusus	4	
	Oligophrenie	1	
	Psychose	3	1x paranoide, 1x halluzinatorische Form
	Schizophrenie	1	
	Zwangsneurose	1	
6. Krankheiten des Nervensystems		4	
	Epilepsie (symptomatisch)	2	
	Interkostalneuralgie	1	
	Morbus Parkinson	1	
7. Krankheiten des Auges und der Augenanhangsgebilde		3	
	Blepharochalasis	1	
	Katarakt	1	
	Konjunktivitis	1	
8. Krankheiten des Ohres und des Warzenfortsatzes		1	
	Schwerhörigkeit (Hypakusis)	1	
9. Krankheiten des Kreislaufsystems		27	
	Angina pectoris (instabil)	1	
	Arterielle Hypertonie	18	
	Herzrhythmusstörungen	3	1x Vorhofflimmern, 1x Tachyarrhythmia absoluta
	Kardiomyopathie (V.a. Brugada-Syndrom)	1	
	Koronare Herzerkrankung	2	1x Z.n. Herzinfarkt
	Thrombose (Unterschenkel)	1	Als Z.n. dokumentiert
	Zerebraler Infarkt	1	Schlaganfall
10. Krankheiten des Atmungssystems		8	
	Asthma bronchiale	2	
	Atopische Asthma	1	
	COPD	3	
	Nicht-atopisches Asthma	1	
	Reinke Ödem	1	
11. Krankheiten des Verdauungssystems		1	
	Ulcus duodeni	1	

Klassifikation	Erkrankung	Anzahl	Bemerkung
12. Krankheiten der Haut und der Unterhaut		1	
	Psoriasis vulgaris	1	
13. Krankheiten des Muskel-Skelett-Systems und des Bindegewebes		3	
	Bandscheibenprolaps	1	
	Polymyalgia rheumatica	1	
	Rheuma	1	
14. Krankheiten des Urogenitalsystems		1	
	Prostatahyperplasie	1	
15. Verletzungen, Vergiftungen und bestimmte andere Folgen äußerer Ursachen		14	
	Beckenfraktur (Z.n.)	1	
	Fraktur des Calcaneus	2	alle Frakturen in 5 Patienten, 3 Patienten mit multiplen Frakturen
	Fraktur des Humerus	1	
	Fraktur Metatarsale 5	1	
	Fraktur Unterschenkel und Sprunggelenk	3	
	Hirnödem ohne Einklemmung	1	
	Lungenkontusion	1	
	Rotatorenmanschettenruptur	1	Z.n. Schulteroperation
	Stumpfes Bauchtrauma	1	Dünndarmgangrän
	Traumatisches Kompartmentsyndrom (rechter Unterschenkel)	1	
	Zerebrale Kontusionsblutung	1	
16. Faktoren, die den Gesundheitszustand beeinflussen und zur Inanspruchnahme des Gesundheitswesens führen		6	
	Künstliche Herzklappe	2	2x Aortenklappe
	Lungenlobektomie	1	
	Nephrektomie	1	
	Penicillin Allergie	1	
	Z.n. Unterschenkelamputation	1	
Summe	Vorerkrankungen	108	bei 39 Patienten

Für jeden Patienten wurde die entsprechende Vorerkrankung mit der Variable 1 für das Vorliegen der Erkrankung oder mit der Variable 0 für die Verneinung der Erkrankung kodiert.

2.3.3.3 Nebendiagnosen

Neu aufgetretene Nebendiagnosen waren von 66 Patienten in der Original-Datenbank dokumentiert (vgl. Tabelle 8).

Tabelle 8: Nebendiagnosen nach ICD-10/ ergriffene Maßnahmen

Klassifikation	Erkrankung	Anzahl
1. Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten		33
	E.coli Infektion	1
	Harnwegsinfekt	1
	Mikrobielle Besiedelung	2
	MRSA	4
	Mycosis	1
	Parotitis	1
	Sepsis	11
	septischer Schock	4
	Pneumonie	8
2. Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe		49
	Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT)	1
	Leukopenie	3
	Leukozytose	13
	Retikulozytose	5
	Thrombozytopenie	1
	Thrombozytose	26
3. Endokrine, Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten		10
	Gallenwegsobstruktion	1
	Hypalbuminämie	1
	Hyperbilirubinämie	4
	Hypervitaminose	3
	Hypokaliämie	1
4. Psychische und Verhaltensstörungen		2
	Depression	1
	Schlafstörung	1
5. Krankheiten des Nervensystems		1
	Zerebrovaskulärer Vorfall	1
6. Krankheiten des Kreislaufsystems		3
	Myokardinfarkt	1
	Thrombose	2
7. Krankheiten des Atmungssystems		8
	ARDS	5
	Asphyxie	1
	Pleuraerguss	1
	resp. Insuffizienz	1
8. Krankheiten des Verdauungssystems		1
	Erbrechen	1
9. Krankheiten der Haut und der Unterhaut		5
	Exanthem	2
	Hitzewallung	1
	Pruritus	2
10. Krankheiten des Muskel-Skelett-Systems und des Bindegewebes		1
	Kompartment-Syndrom	1

Klassifikation	Erkrankung	Anzahl
11. Krankheiten des Urogenitalsystems		3
	Niereninsuffizienz	1
	Nierenversagen akut	2
12. Chirurgische Maßnahmen		1
	Amputation (Fuß)	1
13. Weitere Erkrankungen und administrative Nebenwirkungen		18
	Fieber	12
	Injektionshämatom	1
	Nekrose	1
	SIRS	2
	Transfusionsreaktion (Schock)	1
	Wundheilungsstörung	1
14. Untersuchungen/ Blutparameterveränderungen		63
	Alkalische Phosphatase Erhöhung (AP) ↑	5
	Cholinesterase Erniedrigung (CHE) ↓	3
	Cholinesterasen Erhöhung (CHE) ↑	3
	C-reaktives Protein-Erhöhung (CRP) ↑	12
	Creatinkinase-Erhöhung (CK) ↑	4
	Eisen Erniedrigung ↓	4
	Eisen Erhöhung ↑	2
	Ferritin Erniedrigung ↓	1
	Ferritin Erhöhung ↑	4
	Hämatokrit Abfall (Hkt) ↓	2
	Hämoglobin Abfall (Hb) ↓	1
	Harnstoff Erhöhung ↑	2
	Kreatinin-Erhöhung ↑	2
	Partielle Thromboplastinzeit Anstieg (PTT) ↑	1
	Quick Erniedrigung ↓	1
	Transaminasenanstieg (GOT/ GPT) ↑	5
	Transferrin Erniedrigung ↓	2
	Vitamin B12 Erniedrigung ↓	1
	γ-Glutamyl-Transferase-Erhöhung (γGT) ↑	8
Summe	Nebendiagnosen	198 bei 66 Patienten

Trat eine Nebendiagnose, wie z.B. gewisse Blutbildveränderungen, mehrfach bei demselben Patienten während der Beobachtungszeit auf, so wurde sie nur einfach gezählt. Die Kodierung für das Vorliegen einer Nebendiagnose entsprach der Variablen-Kodierung für Vorerkrankungen (ja=1 / nein=0).

2.3.4 Auswahlkriterien der Subgruppen

Die Auswahl der geeigneten Subgruppen für die Subgruppenanalysen wurde aus den drei Kategorien Begleitmedikamente, Vorerkrankungen oder Nebendiagnosen getroffen. Die Vorerkrankungen der Patienten waren anamnestisch erfragt worden. Die Patienten waren an

diesen Erkrankungen vor Einschluss in die Studie erkrankt. Die Nebendiagnosen wurden während des Studienverlaufs gestellt.

Die Kriterien der Auswahl orientierte sich an einer ausreichenden Patientenzahl in den Subgruppen (mindestens 15 Patienten), gleicher Verteilung in den Behandlungsarmen und literaturgestützten Anhaltspunkten, dass das Medikament oder die Erkrankung die Wundheilung potentiell beeinflussen könnte. Ausgeschlossen wurden Medikamente und Erkrankungen mit zu geringer Patientenzahl und unausgeglichener Verteilung in den Behandlungsarmen.

2.3.4.1 Rationale der Subgruppen-Auswahl

Folgende Subgruppen wurden für die geplanten Analysen aus den drei Kategorien ausgewählt:

Tabelle 9: Liste der ausgewählten Subgruppen

Subgruppen, n (%)	Gesamt (n = 84)
Insulin	36 (43%)
NSARs >1	41 (49%)
Vasopressoren	43 (51%)
Piperacillin	40 (48%)
Chinolone	22 (26%)
Sepsis	11 (13%)
arterielle Hypertonie	18 (21%)

Bei den ausgewählten Begleitmedikamenten wurden die Applikationsform und die Dauer der Gabe nicht berücksichtigt, da diese Angaben nicht aus den vorliegenden CRF-Daten ersichtlich waren. Jeder Patient, der das gelistete Medikament mindestens einmal eingenommen hatte, wurde der Subgruppe mit dem Status 1 zugeordnet.

Aus der Kategorie Nebendiagnosen wurde nur das Ereignis „Sepsis“ ausgewählt. Bei allen anderen Nebendiagnosen waren die Patientenzahlen zu klein oder kein Zusammenhang zum Wundheilungsprozess herstellbar.

Aus den Vorerkrankungen wurde nur die Diagnose „Arterielle Hypertonie“ ausgewählt. Das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie war vor Studienbeginn in der Anamnese erhoben worden. Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 waren von großem Interesse für die Untersuchungen dieser Studie. In die Studie wurden jedoch nur sechs Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 eingeschlossen.¹⁶ Die Subgruppe musste daher verworfen werden.

Eine auf Argumente aus Literatur und medizinischer Plausibilität gestützte Begründung ist im Folgenden für jede ausgewählte Subgruppe aufgeführt.

¹⁶ Fünf der sechs Patienten erhielten EPO.

2.3.4.1.1 Insulin

Insulin ist ein körpereigenes Peptidhormon und Wachstumsfaktor. Es wird therapeutisch überwiegend zur Regulierung der Blutglukose eingesetzt (Hrynyk & Neufeld, 2014). Im schwerbrandverletzten Patienten führt die Verbrennungskrankheit zu einer hypermetabolischen Antwort auf das Verbrennungstrauma. Es kommt zu einem gesteigerten Sauerstoff- und Energieverbrauch; Herz- und Atemfrequenz steigen an, Glykogen-, Fett- und Proteinkatabolismus nehmen zu und der Grundumsatz ist um 100 % bis 150 % gesteigert (Giessler et al., 2009). Pathophysiologisch folgt das Phänomen eines stress-induzierten Diabetes mit zunehmenden Insulinresistenz und Hyperglykämie. Die Gabe anabolisch wirkender Hormone wie Insulin ist ein wichtiger pharmakologischer Ansatzpunkt, den Hypermetabolismus, insbesondere die Hyperglykämie im schwerbrandverletzten Patienten zu modulieren (Gauglitz et al., 2008). So zeigten die Arbeitsgruppen von *Jeschke et al.* und *van den Berghe et al.*, dass der Einsatz von Insulin zu einer reduzierten Morbidität und Mortalität in schwerkranken und schwerbrandverletzten Patienten führte (Jeschke et al., 2010; van den Berghe et al., 2001).

Die Wirkung von Insulin auf die Wundheilung ist ebenfalls Forschungsgegenstand vieler Studien, die von vielversprechenden Ergebnissen berichten (Oryan & Alemzadeh, 2017). Eine verbesserte Reepithelialisierung von Verbrennungswunden konnte in experimentellen (Azevedo et al., 2015) und humanen Studien nachgewiesen werden (Pierre et al., 1998). Die erforschten Mechanismen der Insulinwirkung auf molekularer Ebene weisen auf Parallelen zur Wirkung von EPO in der Wundheilung hin. Zu nennen sind die indirekte Aktivierung von eNOS und eine gesteigerte NO-Produktion, eine verbesserte Angiogenese (Lima et al., 2012), die Inhibierung proinflammatorischer Zytokine (Jeschke et al., 2007) und eine Modulation der Makrophageninfiltration (X. Chen et al., 2012).

Insulin wurde wegen seiner in der Literatur beschriebenen positiven Wirkung im schwerbrandverletzten Patienten und im Wundheilungsprozess für die Subgruppenanalyse ausgewählt. Fragestellung der Subgruppenanalyse war, ob Patienten, die während der Beobachtungszeit EPO erhielten, von der Therapie mit Insulin zusätzlich profitierten. Die Gabe von Insulin erfolgte unabhängig von der Studienmedikation nach Zentrum-internen Leitlinien. Indikation war - insofern dokumentiert - die Regulierung der hypermetabolischen Antwort. In den Analysen wurde der Effekt von EPO getrennt nach Patienten mit und ohne Insulin-Therapie berechnet und mittels eines Interaktions-Tests verglichen.

2.3.4.1.2 Nichtsteroidale Antirheumatika

Nichtsteroidale Antirheumatika (NSARs) bilden die Basis des WHO-Stufenschemas der Schmerztherapie, gefolgt von niedrig- und hochpotenten Opioiden. Verbrennungen erzeugen starke Schmerzen, deren Intensität von der Tiefe der Verbrennung abhängig ist. Der gezielte Einsatz von nichtsteroidalen Antirheumatika (NSARs) kann den Opioidbedarf reduzieren und

opioidbedingte Nebenwirkungen vermindern (Girtler & Gustorff, 2011; Marret et al., 2005). In ihrer Wirkung auf die Wundheilung sind NSARs jedoch umstritten (Guo & DiPietro, 2010; Stadelmann et al., 1998). Diskutiert werden ein reduzierter Kollagenmetabolismus und ein höheres Risiko für Thrombosen (Klein, 2012), eine Abnahme der Fibroblastenzahl im Granulationsgewebe (Krischak et al., 2007), sowie eine Verzögerung der Reepithelialisierung und Angiogenese durch die Inhibierung der Cyclooxygenase-2 (COX₂) (Futagami et al., 2002).

Um einen möglichen Einfluss auf die Wundheilung im schwerbrandverletzten Patienten zu untersuchen, wurden NSARs in die Subgruppenanalysen eingeschlossen. Fast jeder Patient erhielt während des Beobachtungszeitraums mindestens ein NSAR. Die Subgruppe wurde daher in Patienten eingeteilt, die kein bzw. ein NSAR (NSARs≤1) erhielten oder zwei bzw. mehr als zwei NSARs (NSARs>1). Es wurde nicht unterschieden, welcher Wirkstoff (Ibuprofen, Indometazin, Diclofenac etc.) gegeben wurde.

2.3.4.1.3 Vasopressoren

Vasopressoren sind im schwerverbrannten Patienten zur hämodynamischen Stabilisierung indiziert (Giessler et al., 2009). Der vasopressorische Effekt dieser Substanzen auf die Gefäße ist in der Verbrennungswunde unklar. Eine Zunahme der Nekrosezone in der Verbrennungswunde wird durch die Vasokonstriktion und damit verschlechterter Perfusion des Gewebes angenommen. Dies wurde in einem Verbrennungsmodell bei Hasen bestätigt (Knabl et al., 1999). Tierexperimentelle Ergebnisse der Wirkung von EPO weisen auf NO vermittelte vasodilatatorische Effekte in der Wundheilung hin (Haroon et al., 2003; Rezaeian et al., 2010). Auch konnte eine Reduktion des Nachbrennens in dosisabhängiger Gabe in Verbrennungswunden gezeigt werden (Tobalem et al., 2013).

Fragestellung bei dieser Subgruppenanalyse war zum einen, ob Patienten, die Vasopressoren erhielten, durch die Gabe von EPO einen besseren Wundheilungsverlauf zeigten. Des Weiteren führte in der Studie von *Corwin et al.* die Therapie mit EPO zu einer reduzierten Morbidität und Mortalität bei schwerkranken Patienten (Corwin et al., 2007). Ferner wird EPO eine kreislaufstabilisierende Wirkung zugesprochen (Walden et al., 2010). So war zum anderen von Interesse, ob Patienten, die EPO erhielten, weniger vasokonstriktive Substanzen benötigten.

2.3.4.1.4 Antibiotika

Eine Infektion der Verbrennungswunde zählt zu den größten Komplikationen im schwerverbrannten Patienten. Durch Infektionen kann es zu einer Verzögerung der Wundheilung und vermehrter Narbenbildung kommen. Prävention und Behandlung einer bakteriellen Infektion ist die Gabe von Antibiotika (Barajas-Nava et al., 2013). Die Gabe eines Antibiotikums während des Behandlungszeitraums lässt einen reduzierten

Gesundheitszustand des Patienten und damit eine mögliche Beeinträchtigung der Wundheilung vermuten. Als Vertreter aus der Vielzahl der angewendeten Antibiotika wurden „Piperacillin“ und die Gruppe der „Chinolone“ näher untersucht. Begründung:

- a) Piperacillin-(Tazobactam/Combactam) ist die Kombinationen eines starken β -lactam Antibiotikums und eines β -Lactamase Inhibitors (Verhältnis 8:1). Es zeigt ein breites Wirkungsspektrum im gram-positiven und gram-negativen Bereich. Die empirische Behandlung von Infektionen auf der Intensivstation und im schwerverbrannten Patienten hat sich bewährt (Felton et al., 2014; Jeon et al., 2014). Insbesondere bei Verdacht auf eine Infektion mit *P. aeruginosa* der Verbrennungswunde wird Piperacillin bevorzugt verwendet (Branski, Al-Mousawi, et al., 2009). Piperacillin ist ein sehr häufig und breit angewendetes Antibiotikum (im Jahr 2013/2014 mit 9,3 % das am zweithäufigsten verwendete Antibiotikum in deutschen Krankenhäusern (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2016)). Aufgrund dieser häufigen Anwendung war es von Interesse, ob die Wundheilung in den Subgruppenschichten unterschiedlich verlief.
- b) Chinolone wurden für die Subgruppenanalyse ausgewählt, da neben ihrer antimikrobiellen Aktivität ein breites Spektrum an immunmodulatorischen Effekten in Tierexperimenten und klinischen Studien beschrieben ist. Dieser Effekt wird auf einen möglichen Synergismus mit der Topoisomerase-II-Hemmung durch die Chinolone zurückgeführt (Dalhoff & Shalit, 2003). Bei topischer Gabe in Schnittwunden an Schweinen wurde Ciprofloxacin als die Wundheilung unterstützend beschrieben (Roy et al., 2015). In dieser Subgruppenanalyse interessierte, ob der Wundheilungsverlauf von Patienten, die EPO und ein Antibiotikum aus der Reihe der Chinolone erhielten, im Vergleich zu Patienten, die nur Chinolone oder keine Chinolone erhielten, begünstigt war.

2.3.4.1.5 Sepsis

Eine Sepsis ist eine lebensbedrohliche Organdysfunktion infolge der systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) des Körpers als Antwort auf eine generalisierte Infektion. Schwerverbrannte Patienten haben ein hohes Risiko Infektionen und in der Folge eine Sepsis zu entwickeln (Greenhalgh et al., 2007). Eine Sepsis geht meist von Infektionen der Verbrennungswunde oder der Lunge aus. Das geschwächte Immunsystem des schwerbrandverletzten Patienten trägt des Weiteren zu einer erhöhten Infektionsanfälligkeit bei (Gauglitz et al., 2009b).

EPO besitzt eine zytoprotektive und anti-inflammatorische Wirkung auf den Organismus (M. Brines & Cerami, 2008; W. Jelkmann & Wagner, 2004). *Corwin et al.* zeigen, dass EPO mit einer verringerten Morbidität und Mortalität im schwerkranken Patienten assoziiert ist

(Corwin et al., 2007). *Walden et al.* diskutieren die erfolgversprechende Rolle von EPO in Patienten mit Sepsis. Durch seine vasokonstriktorisches, anti-apoptotischen und immunmodulatorischen Eigenschaften könnte es von Vorteil im septischen Patienten sein (Walden et al., 2010). Doch es fehlen klare Anwendungsleitlinien (Dosierung etc.) für den Einsatz von EPO und die Erythropoese stimulierenden Medikamenten (ESAs) im schwer kranken Patienten. Ihr Einsatz ist daher abzuwägen und benötigt weiterhin positive Bestätigung in klinischen Studien (I. Jelkmann & Jelkmann, 2013).

Das unerwünschte Ereignis *Sepsis* wurde als Subgruppe in die Analysen aufgenommen, um einen möglichen Vorteil für Patienten unter EPO-Therapie zu untersuchen. Fragestellung war, ob unter EPO-Therapie weniger Patienten eine Sepsis entwickelten, und ob die Wundheilung der Patienten mit EPO günstiger als in den anderen Subgruppenschichten verlief.

2.3.4.1.6 Arterielle Hypertonie

Der Wundheilungsverlauf der Patienten mit arterieller Hypertonie in der Anamnese war von Interesse in dieser Arbeit, weil eine arterielle Hypertonie einen Risikofaktor für eine Minderperfusion des Gewebes und damit erweiterter Gewebehypoxie darstellen kann. Dies kann den Wundheilungsprozess verzögern (Biondo-Simoes Mde et al., 2006; Huang & Ogawa, 2014). EPO wird in der Literatur im Zusammenhang mit der Entwicklung eines erhöhten Blutdrucks diskutiert. Die meisten Resultate stammen aus frühen Untersuchungen an Patienten mit renaler Anämie (Eschbach et al., 1987; Lebel et al., 1998; Raine, 1988). Eine Verschlechterung eines vorbestehenden arteriellen Hypertonus unter EPO-Therapie ist ebenfalls möglich (W. Jelkmann & Elliott, 2013; Maschio, 1995). In die „EPO in Burns“-Studie wurden daher nur Patienten mit gut eingestellter arterieller Hypertonie (systolisch RR <140 mmHg) eingeschlossen. Wundheilung benötigt eine gute Gewebeversorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen. Der Effekt von EPO wurde in dieser Subgruppe untersucht, da EPO trotz der beschriebenen Nebenwirkung im Tiermodell die Wundheilung durch eine gesteigerte Gewebepfusion verbesserte (Buemi et al., 2002; Rezaeian et al., 2008). Fragestellung war, ob eher dieser positive Effekt, oder der mögliche negative Einfluss durch die Verstärkung einer arteriellen Hypertonie überwog.

2.3.4.2 Ausnahmen in der Subgruppenauswahl und Begründung

Eine Ausnahme wurde für die Subgruppe aus der Kategorie *Nebendiagnosen* gemacht. Das Krankheitsbild Sepsis wies keine ausreichende Patientenzahl auf (11 Patienten). In der Literatur gab es jedoch genügend aufgeführte Argumente für den Nutzen von Erythropoietin im schwerkranken Patienten, so dass diese Subgruppe in dieser Arbeit von großem Interesse war.

Die unausgeglichene Patientenzahl in den Behandlungsarmen der Subgruppe *NSARs*>1 bildete eine weitere, zweite Ausnahme. Der Nachweis eines potenziellen Effekts auf die Wundheilung stand im Vordergrund. Deshalb wurden die Analysen trotz ungleicher Patientenzahlen in den Subgruppenschichten durchgeführt.

3 Ergebnisteil

3.1 Studienpopulation

Von Januar 2009 bis November 2012 wurde die Patientenrekrutierung in den o.g. Verbrennungszentren durchgeführt. Die Follow-up-Phase endete im Juli 2013. Studienabschluss war der 6. Juni 2014. 3292 Patienten wurden während der Rekrutierungsphase gescreent; 116 Patienten wurden in die Studie eingeschlossen und den Behandlungsarmen randomisiert zugeteilt. Auf Grund von Protokollverletzungen mussten 32 Patienten von den Endpunktanalysen ausgeschlossen werden. Das *Intention-to-treat* (ITT) Kollektiv umfasste 84 Patienten; von diesen erhielten 45 (54 %) Patienten EPO, 39 (46 %) Patienten Placebo. Alle statistischen Analysen dieser Arbeit beziehen sich auf die ITT-Population der EPO-in-Burns Studie. Eine Übersicht ist in Abbildung 12 gegeben. Für weitere Informationen siehe auch *Günter et al.* (C. I. Gunter et al., 2018).

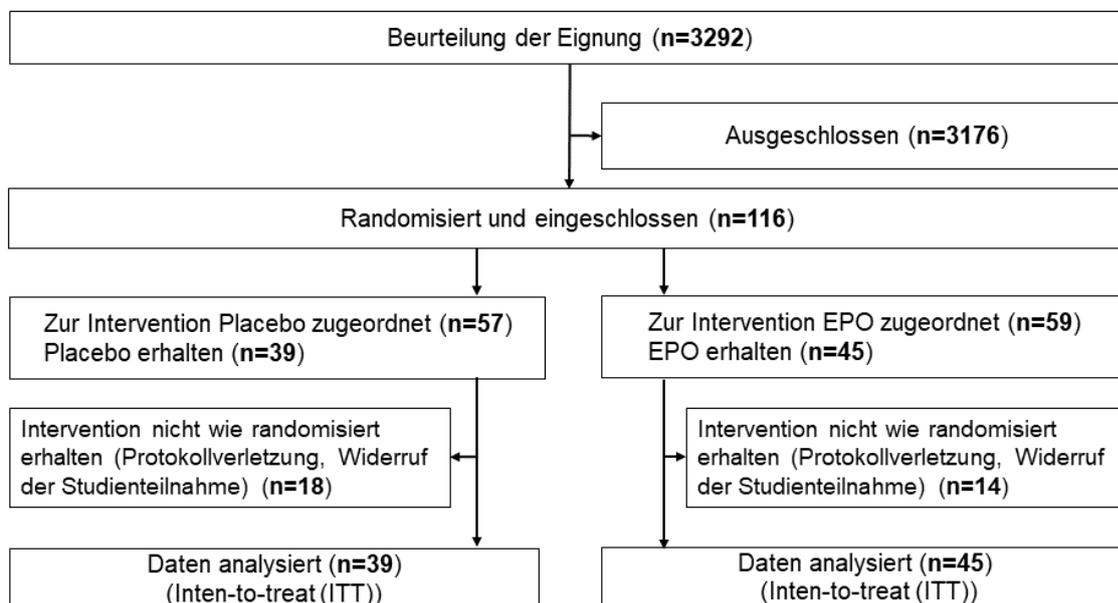


Abbildung 12: Flussdiagramm EPO-in-Burns Studie

In Tabelle 10 findet sich ein Überblick der demographischen und charakteristischen Merkmale der Studienpopulation.

Tabelle 10: Demographie und Basischarakteristika

	EPO (n= 45)	Placebo (n= 39)	Gesamt (n= 84)
Alter (Jahre), $\bar{x} \pm SD$	48,0 \pm 2,5	46,6 \pm 2,4	47,3 \pm 1,7
Alter \geq 60 Jahre., <i>n</i> (%)	8 (18%)	10 (26%)	18 (21%)
Geschlecht, <i>n</i> (%)			
männlich	33 (73%)	33 (85%)	66 (79%)
weiblich	12 (27%)	6 (15%)	18 (21%)
ABSI \geq 7, <i>n</i> (%)	25 (56%)	26 (67%)	51 (61%)
KOF-Summe (%), \bar{x} (SD)	24,9 (1,7)	26,6 (2,1)	25,7 (1,3)

n= Anzahl Patienten, \bar{x} = Mittelwert, SD = Standardabweichung des Mittelwerts, ABSI = Abbreviated Burn Severity Index, KOF-Summe = Summe der verbrannten Körperoberfläche in Prozent; Abbildung adaptiert verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

In Bezug auf das Alter und den Schweregrad der Verbrennungen waren die Patienten gleich auf die zwei Behandlungsarme verteilt. Der jüngste Patient in der EPO-Gruppe war 19 Jahre alt, der älteste 87 Jahre. Das Durchschnittsalter betrug in der EPO-Gruppe 48,0 \pm 2,5 Jahre. In der Placebo-Gruppe war der jüngste Patient 18 Jahre, der älteste Patient 74 Jahre alt. Das Durchschnittsalter betrug in der Placebo-Gruppe 46,6 \pm 2,4 Jahre. Der ABSI-Score wurde für die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit und Prognose der Patienten verwendet. Die Patienten wurden entweder der Gruppe ABSI-Score <7 Punkte oder der Gruppe ABSI-Score \geq 7 Punkte zugeteilt. 25 Patienten in der EPO-Gruppe und 26 Patienten in der Placebo-Gruppe wiesen einen ABSI-Score \geq 7 Punkte auf.

In der Geschlechterverteilung zeigten sich deutliche Unterschiede in den Behandlungsarmen. Insgesamt wurden fast viermal so viele Männer wie Frauen in die Studie eingeschlossen (79% Männer vs. 21% Frauen). Des Weiteren erhielten doppelt so viele Frauen EPO (n=12 (27 %)) wie Placebo (n=6 (15 %)). In der Placebo-Gruppe wiesen die Patienten durchschnittlich mehr verbrannte Körperoberfläche auf (Placebo: \bar{x} =26,6 % KOF, Minimum: 10,0 %, Maximum: 70,0 % vs. EPO: \bar{x} =24,9 % KOF, Minimum: 5,7 %, Maximum: 56,0 %) (vgl. Tabelle 11).

Tabelle 11: Verteilung der KOF in den zwei Behandlungsarmen

KOF-Summe, <i>n</i> (%)	0-10%	11-20%	21-30%	31-40%	41-50%	51-60%	61-70%	71-100%
EPO	3 (7%)	19 (42%)	9 (20%)	9 (20%)	4 (9%)	1 (2%)	-	-
Placebo	2 (5%)	14 (36%)	10 (26%)	9 (23%)	3 (8%)	-	1 (3%)	-
Gesamt	5 (6%)	33 (39%)	19 (23%)	18 (21%)	7 (8%)	1 (1%)	1 (1%)	-

KOF= verbrannte Körperoberfläche in Prozent

3.2 Ergebnisse der standardisierten Studienwunde (SGDS)

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Sterbetafeln und der Cox-Regression dargestellt. Untersuchungsgegenstand war die Reepithelialisierung der SGDS. Die Analysen wurden für jeden der drei Reepithelialisierungsgrade durchgeführt, um den Verlauf der Reepithelialisierung abzubilden. Beginnend mit dem 50 % Reepithelialisierungsgrad folgen die Darstellungen des 75 % und des 100 % Reepithelialisierungsgrads.

Von den 84 in die Studie eingeschlossenen Patienten lag bei 78 (93 %) Patienten eine Dokumentation der Reepithelialisierung der SGDS vor. Sechs Patienten hatten somit keine vorliegende Wunddokumentation der SGDS. Von diesen sechs Patienten stammten vier Patienten aus der EPO-Gruppe und zwei Patienten aus der Placebo-Gruppe. Die Analysen der SGDS umfassten somit 78 Patienten, 41 (53 %) Patienten aus dem Behandlungsarm EPO und 37 (47 %) Patienten aus dem Behandlungsarm Placebo. Die verwendeten Prozentangaben bei „Gesamt“ beziehen sich auf die 78 (=100 %) Patienten mit Wunddokumentation.

3.2.1 50 % Reepithelialisierungsgrad

75 (96 %) der 78 Patienten erreichten innerhalb der Beobachtungszeit eine Reepithelialisierung über 50 %. Von den drei Patienten, die diesen Reepithelialisierungsgrad nicht erreichten, stammte ein Patient aus der EPO-Gruppe, die anderen zwei Patienten aus der Placebo-Gruppe. Die Berechnungen der Sterbetafel ergaben eine mediane Reepithelialisierungszeit von 9,71 Tagen in der EPO-Gruppe und von 9,64 Tagen in der Placebo-Gruppe den 50 %-Grads zu erreichen. Einen Überblick gibt Tabelle 12.

Tabelle 12: Überblick der Ergebnisse des 50 % Reepithelialisierungsgrads der SGDS

		EPO (n=41)	Placebo (n=37)	Gesamt (n=78)
50 % Reep*-Grad	ja	40 (98%)	35 (95%)	75 (96%)
	n, (%)			
	nein	1 (2%)	2 (4%)	3 (4%)
Median (Tage)		9,71	9,64	
Reep*-Wahrscheinlichkeit		98 %	95 %	p=0,802

*Reep= Reepithelialisierung, Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Die Ereigniszeitkurven bilden die Wahrscheinlichkeit den 50 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen in den zwei Behandlungsarmen ab (vgl. Abbildung 13). Patienten der EPO-Gruppe zeigten eine Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit von 98 %, Patienten der Placebo-Gruppe zeigten eine Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit von 95 % am Ende des Beobachtungszeitraums. Ein Unterschied im Erreichen des 50 % Reepithelialisierungsgrads konnte in den zwei Behandlungsarmen nicht festgestellt werden. Dies spiegelt auch der nahezu identische Kurvenverlauf wider. Der paarweise Vergleich der Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit ergab einen p-Wert von p=0,802.

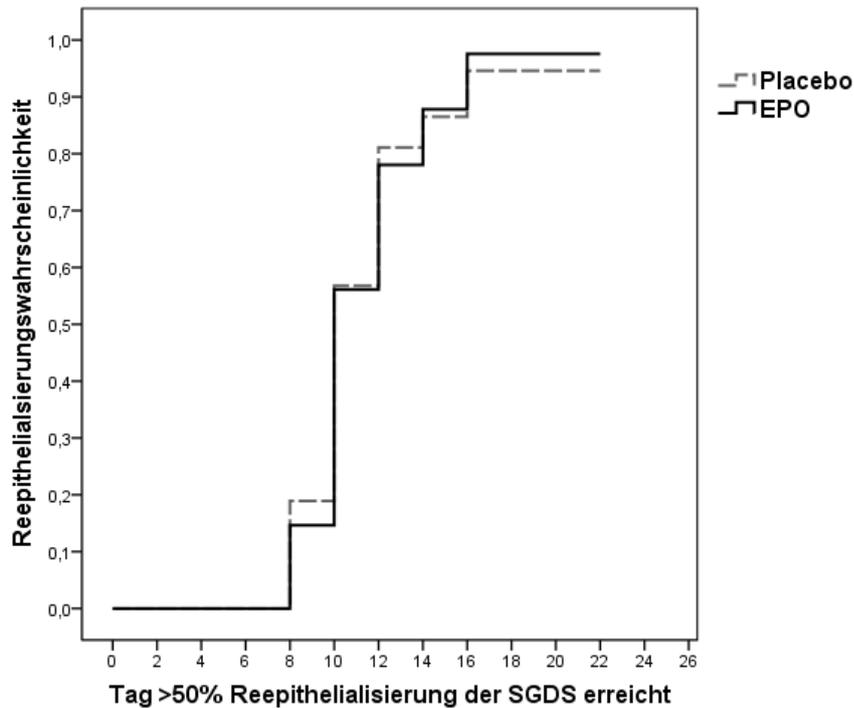


Abbildung 13: Ereigniszeitkurven 50 % Reepithelialisierungsgrad (SGDS)

Abbildung verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Tabelle 13 gibt einen Überblick, wie viele Patienten an den entsprechenden Tagen der Wunddokumentation eine Reepithelialisierung über 50 % erreichten. An Tag 08 hatten die meisten Patienten beider Gruppen (EPO 41 % vs. Placebo 38 %) den 50 % Reepithelialisierungsgrad erreicht.

Tabelle 13: 50 % Reepithelialisierungsgrad

Gruppe	n, (%)	Tag 06	Tag 08	Tag 10	Tag 12	Tag 14	zensiert
EPO	(n=41)	6 (15%)	17 (41%)	9 (22%)	4 (10%)	4 (10%)	1 (2%)
Placebo	(n=37)	7 (19%)	14 (38%)	9 (24%)	2 (5%)	3 (8%)	2 (5%)
Gesamt	(n=78)	13 (17%)	31 (40%)	18 (23%)	6 (8%)	7 (9%)	3 (3%)

Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Das in der Cox-Regression berechnete Hazard Ratio war 1,004 mit einem Konfidenzintervall von 95 %-KI= [0,638-1,580] ($p=0,987$). Das Chancenverhältnis den 50 % Reepithelialisierungsgrad in den zwei Behandlungsarmen zu erreichen war somit nahezu gleich. Ein Unterschied für den 50 % Reepithelialisierung der SGDS in der Therapie EPO vs. Placebo konnte nicht festgestellt werden. Das berechnete Ergebnis war nicht signifikant.

Des Weiteren wurden im Cox-Regressionsmodell die Kovariablen Alter, Geschlecht (δ) und $ABSI \geq 7$ berücksichtigt, um einen potenziellen Einfluss dieser Faktoren auf die Wundheilung ausschließen zu können (vgl. Abbildung 14). Adjustiert nach dem Geschlecht (δ) war das Hazard Ratio 1,072 (95 %-KI= [0,664-1,733]; $p=0,776$).

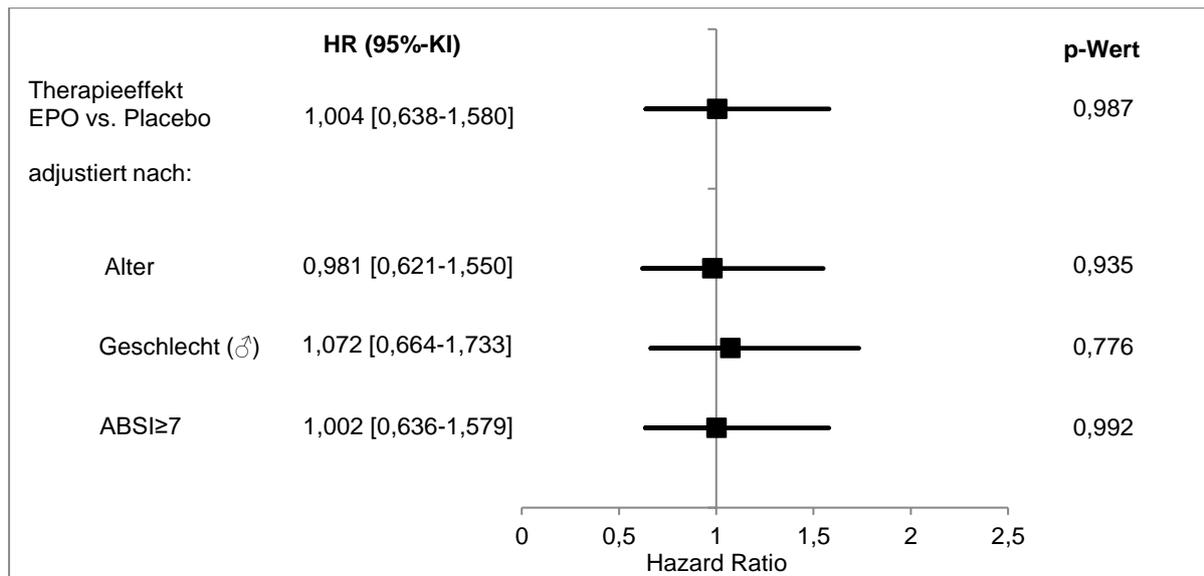


Abbildung 14: Therapieeffekt risikoadjustiert für 50 % Reepithelialisierung der SGDS

Die Balken repräsentieren den Therapieeffekt als Hazard Ratio (HR) des Cox-Regressionsmodells; ein HR >1 bedeutet einen positiven Therapieeffekt für Patienten, die EPO erhielten.

Univariat analysiert nach dem Geschlecht (♂) als einzige Variable ergab das geschätzte Hazard Ratio mit 1,231 (95 %-KI=[0,706-2,148]; p=0,464) eine um 23 % höhere Chance für Männer im Vergleich zu Frauen über 50 % Reepithelialisierung zu erreichen. Das univariat analysierte Hazard Ratio nach dem Alter war 1,007 (95 %-KI= [0,992-1,022]; p=0,360), univariat analysiert nach dem ABSI-Score (ABSI≥7) 0,971 (95 %-KI= [0,606-1,557]; p=0,902). Ein Chancenunterschied ist hier nicht anzunehmen.

3.2.2 75 % Reepithelialisierungsgrad

Von den 78 Patienten mit vorliegender Dokumentation der SGDS erreichten 66 (85 %) Patienten eine Reepithelialisierung über 75 %. Davon stammten 33 (80%) Patienten aus der EPO-Gruppe und 33 (89%) Patienten aus der Placebo-Gruppe. 12 (15%) Patienten erreichten den 75% Reepithelialisierungsgrad nicht. Acht dieser 12 Patienten erhielten EPO (67 %), die anderen vier Patienten das Placebo (33 %). Die mediane Reepithelialisierungszeit zeigte ein tendenziell schnelleres Erreichen des 75 % Reepithelialisierungsgrads in der Placebo-Gruppe. Die Hälfte der Patienten der Placebo-Gruppe erreichte nach 11,55 Tagen den 75 % Reepithelialisierungsgrad, die Hälfte der Patienten der EPO-Gruppe nach 12,42 Tagen. Einen Überblick gibt Tabelle 14.

Tabelle 14: Überblick der Ergebnisse des 75% Reepithelialisierungsgrads der SGDS

	EPO (n=41)	Placebo (n=37)	Gesamt (n=78)
75 % Reep*-Grad			
ja	33 (80%)	33 (89%)	66 (85%)
n, (%)			
nein	8 (20%)	4 (11%)	12 (15%)
Median (Tage)	12,42	11,55	
Reep*-Wahrscheinlichkeit	80 %	89 %	p=0,132

*Reep= Reepithelialisierung, Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Den Verlauf der Reepithelialisierung bilden die Ereigniszeitkurven ab (vgl. Abbildung 15). Die Placebo-Gruppe wies ab Tag 08 eine höhere Wahrscheinlichkeit eine Reepithelialisierung über 75 % zu erreichen auf. Am Ende der Beobachtungszeit zeigte die EPO-Gruppe eine Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit von 80 %, die Placebo-Gruppe eine Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit von 89 %. Der paarweise Vergleich ergab einen p-Wert von $p=0,132$.

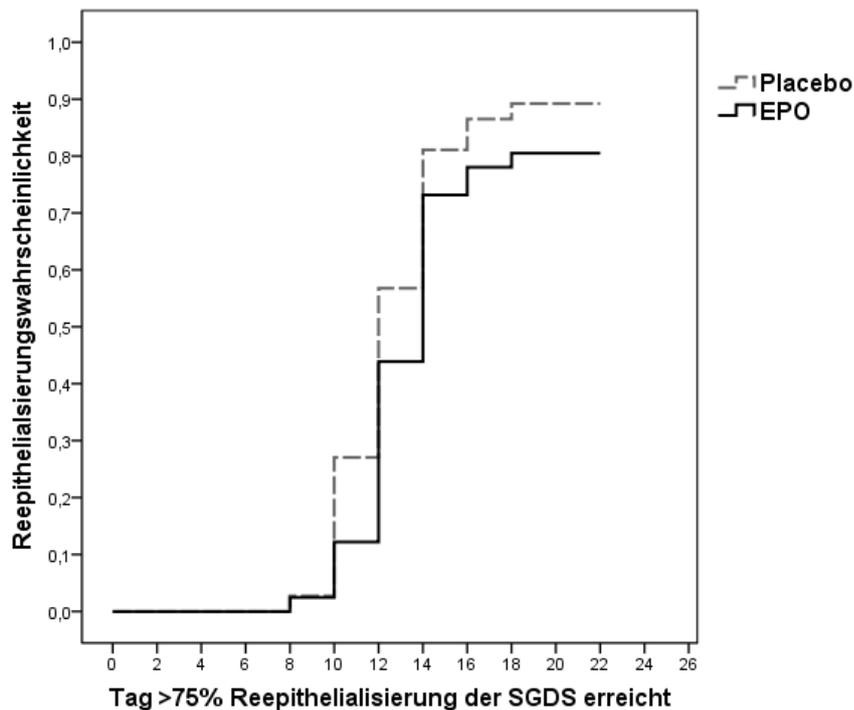


Abbildung 15: Ereigniszeitkurven 75 % Reepithelialisierungsgrad (SGDS)

Abbildung verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Tabelle 15 gibt die absolute Anzahl der Patienten in den zwei Behandlungsarmen an, die an dem jeweiligen Tag den 75 % Reepithelialisierungsgrad erreichten. An Tag 08 hatten bereits neun Patienten der Placebo-Gruppe eine Reepithelialisierung über 75 % erreicht, in der EPO-Gruppe waren es vier Patienten.

Tabelle 15: 75 % Reepithelialisierungsgrad

Gruppe	n, (%)	Tag 06	Tag 08	Tag 10	Tag 12	Tag 14	Tag 16	zensiert
EPO	(n=41)	1 (2%)	4 (10%)	13 (32%)	12 (29%)	2 (5%)	1 (2%)	8 (20%)
Placebo	(n=37)	1 (3%)	9 (24%)	11 (30%)	9 (24%)	2 (5%)	1 (3%)	4 (11%)
Gesamt	(n= 78)	2 (3%)	13 (17%)	24 (31%)	21 (27%)	4 (5%)	2 (3%)	12 (14%)

Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Die Berechnung des Cox-Regressionsmodells ergab ein Hazard Ratio von 0,749 (95 %-KI= [0,462-1,214]; $p=0,241$) für das Erreichen des 75 % Reepithelialisierungsgrads. Die Chance war in der EPO-Gruppe somit um 25 % geringer als in der Placebo-Gruppe diesen Grad innerhalb der Beobachtungszeit zu erreichen.

Die Risikoadjustierungen nach Alter und ABSI \geq 7 änderten das Chancen-Verhältnis nicht. Das Hazard Ratio, adjustiert nach dem Geschlecht (♂), erhöhte die Chance für die EPO-Gruppe um zwei Prozentpunkte (HR=0,770; 95 %-KI= [0,706-2,148]; p=0,464). Einen Überblick gibt Abbildung 16.

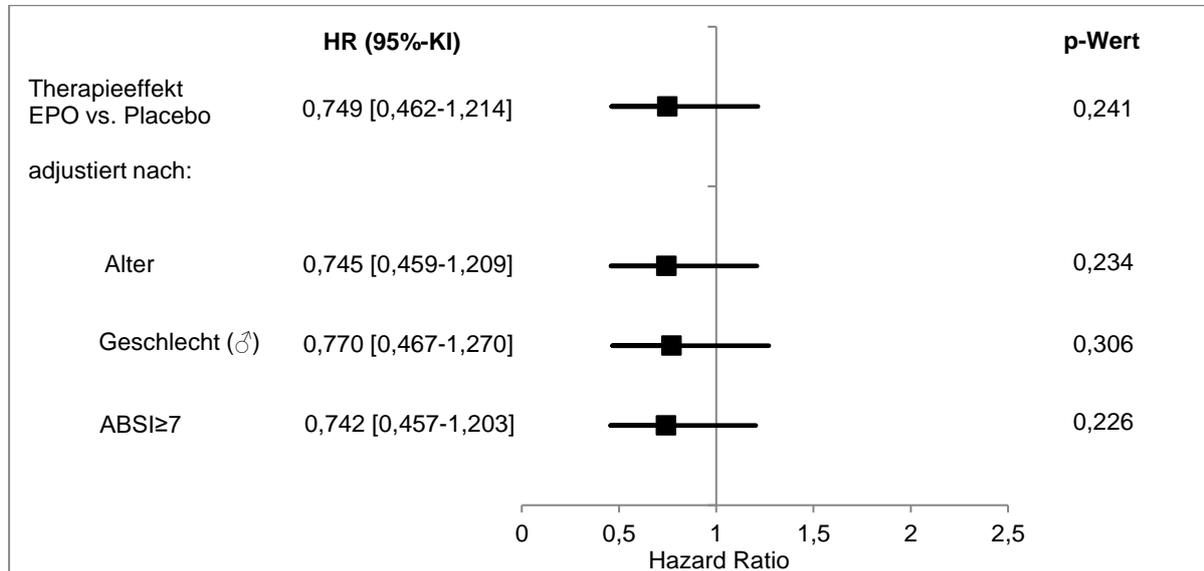


Abbildung 16: Therapieeffekt risikoadjustiert für 75 % Reepithelialisierung der SGDS

Die Balken repräsentieren den Therapieeffekt als Hazard Ratio (HR) des Cox-Regressionsmodells; ein HR <1 bedeutet einen negativen Therapieeffekt für Patienten, die EPO erhielten.

Univariat analysiert nach dem Geschlecht (♂) war das Hazard Ratio 1,240 (95 %-KI= [0,676-2,276]; p=0,487). Männer hatten somit eine um 24 % höhere Chance den 75 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen als die in die Studie eingeschlossenen Frauen. Das univariat analysierte Hazard Ratio nach dem ABSI \geq 7 ergab 0,803 (95 %-KI= [0,488-1,321]; p=0,388); das entspricht einer um 20 % geringeren Chance der Patienten mit einem ABSI-Score \geq 7 Punkte den 75 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen als Patienten mit einem ABSI-Score <7 Punkte. Das univariat analysierte Hazard Ratio nach dem Alter war 1,002 (95 %-KI= [0,986-1,018]; p=0,825).

3.2.3 100 % Reepithelialisierungsgrad

Die vollständige (100 %) Reepithelialisierung der SGDS erreichten 22 (28 %) der 78 analysierten Patienten. Diese 22 Patienten wiesen im Mittel 20,2 % KOF auf (Max: 39,0 %; Min: 5,7 %). 11 Patienten (27 %) stammten aus der EPO-Gruppe, 11 Patienten (30 %) aus der Placebo-Gruppe (vgl. Tabelle 16).

Tabelle 16: Überblick der Ergebnisse des 100 % Reepithelialisierungsgrads der SGDS

		EPO (n=41)	Placebo (n=37)	Gesamt (n=78)
100 % Reep*-Grad	ja	11 (27%)	11 (30%)	22 (28%)
	n, (%)	30 (73%)	26 (70%)	56 (72%)
Median (Tage)		21,00	21,00	
Reep*-Wahrscheinlichkeit		27 %	30 %	p=0,965

*Reep= Reepithelialisierung; Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Der mediane Reepithelialisierungszeitraum war für diesen Grad nicht aussagekräftig, da allen Patienten, die keine 100 % Reepithelialisierung erreichten (72 %), Tag 21 als Endpunkt zugeordnet wurde. Folglich wurde eine mediane Reepithelialisierungszeit von 21 Tagen in beiden Gruppen berechnet.

Den Verlauf der Reepithelialisierung in den zwei Behandlungsarmen bilden die Ereigniszeitkurven ab (vgl. Abbildung 17). Die Wahrscheinlichkeit 100 % Reepithelialisierung zu erreichen entsprach am Ende der Beobachtungszeit 27 % in der EPO-Gruppe und 30 % in der Placebo-Gruppe. Bis Ende des Zeitintervalls von Tag 14 war die Wahrscheinlichkeit 100 % Reepithelialisierung zu erreichen in der EPO-Gruppe höher. Der berechnete p-Wert mit $p=0,965$ war nicht signifikant.

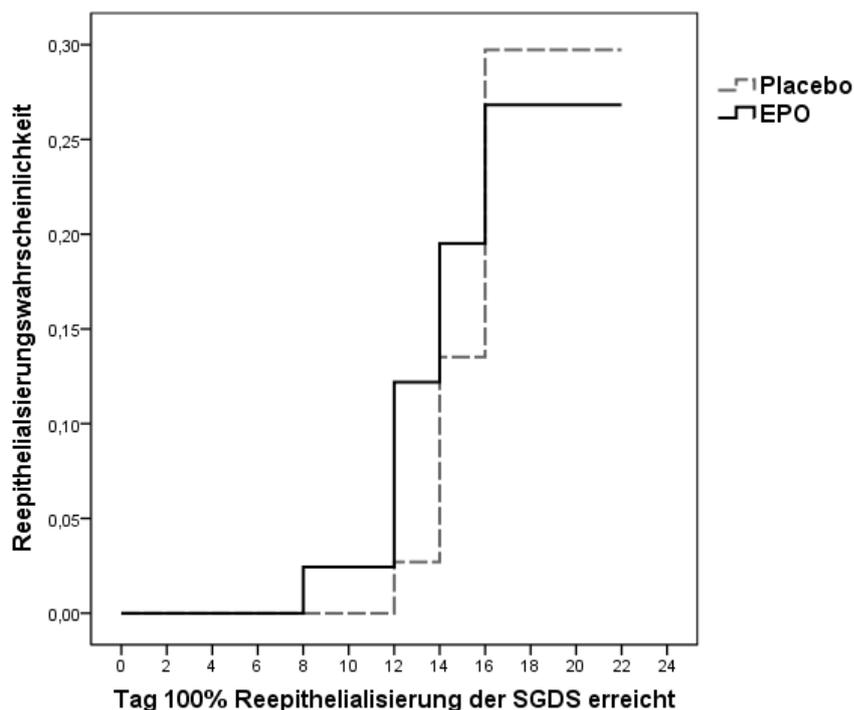
**Abbildung 17: Ereigniszeitkurven 100% Reepithelialisierungsgrad (SGDS)**

Abbildung verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Tabelle 17 zeigt die absolute Anzahl der Patienten, die am entsprechenden Tag der Abfrage die 100 % Reepithelialisierung erreichten.

Tabelle 17: 100 % Reepithelialisierungsgrad

Gruppe	n, (%)	Tag 06	Tag 08	Tag 10	Tag 12	Tag 14	zensiert
EPO	(n=41)	1 (3%)	-	4 (10%)	3 (7%)	3 (7%)	30 (73%)
Placebo	(n=37)	-	-	1 (3%)	4 (11%)	6 (16%)	26 (70%)
Gesamt	(n= 78)	1 (1%)	-	5 (6%)	7 (9%)	9 (12%)	56 (72%)

Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Das Hazard Ratio war 0,966 (95 %-KI= [0,419-2,227]; p=0,935) und entsprach einer um 3 % geringeren Chance der EPO-Gruppe die 100 % Reepithelialisierung zu erreichen.

Die Risikoadjustierung nach Alter als Kovariable erhöhte die Chance der EPO-Gruppe um fünf Prozentpunkte (HR=1,022; 95 %-KI= [0,441-2,367]; p=0,959). Das adjustierte Hazard Ratio nach dem Geschlecht (♂) war 1,128 (95 %-KI= [0,487-2,611]; p=0,779) und ergab damit eine um 13 % höhere Chance für die EPO-Gruppe die 100 % Reepithelialisierung zu erreichen. Risikoadjustiert nach der Kovariable ABSI≥7 ergab sich kein Unterschied des Therapieeffekts EPO vs. Placebo (HR=0,964; 95 %-KI= [0,481-2,225]; p=0,932).

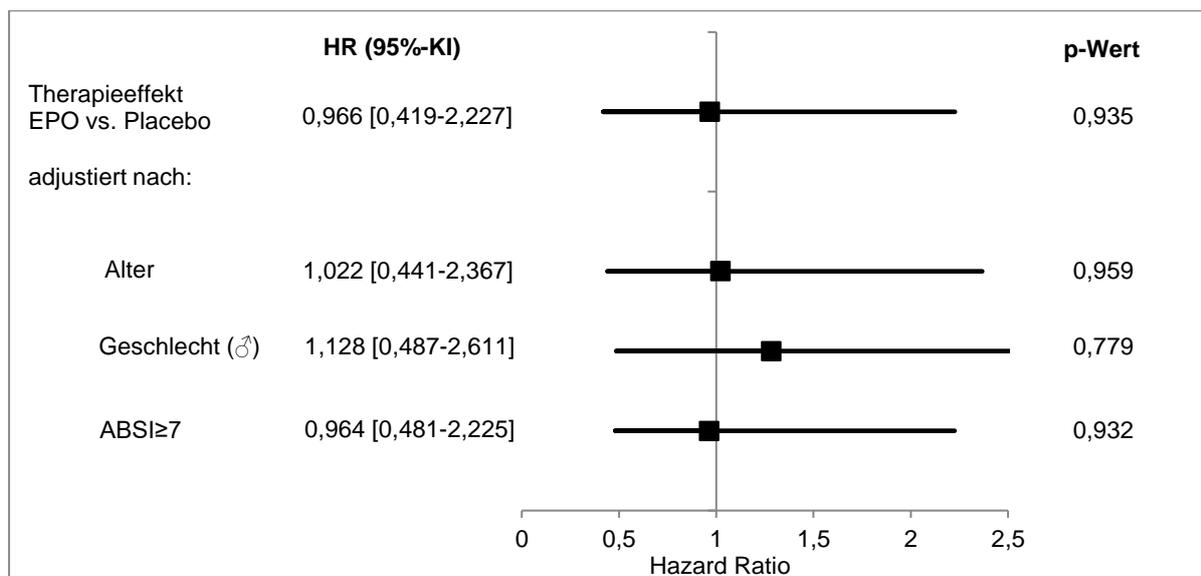


Abbildung 18: Therapieeffekt risikoadjustiert für 100 % Reepithelialisierung der SGDS

Die Balken repräsentieren den Therapieeffekt als Hazard Ratio (HR) des Cox-Regressionsmodells; ein HR >1 bedeutet einen positiven Therapieeffekt für Patienten, die EPO erhielten.

Das univariat berechnete Hazard Ratio der Variable Geschlecht (♂) war 5,984 (95 %-KI= [0,805-44,490]; p=0,080). Männer hatten somit eine 6-fach höhere Chance 100 % Reepithelialisierung zu erreichen. Das Hazard Ratio mit ABSI≥7 als Variable war 0,330 (95 %-KI= [0,141-0,774]; p=0,011); dies bedeutete eine um 67 % Prozent geringere Chance für Patienten mit einem ABSI-Score ≥7 Punkten die 100 % Reepithelialisierung zu erreichen. Für das Alter ergab sich univariat analysiert kein Unterschied im Erreichen der vollständigen Reepithelialisierung (HR=0,984; 95 %-KI= [0,958-1,011]; p=1,011).

3.3 Ergebnisse der sekundären Studienwunden

Der Verlauf der Reepithelialisierung der Verbrennungen Grad 2 (SDW) und Grad 3 mit Spalthauttransplantat (TDW) wurde ebenfalls untersucht.

3.3.1 SDW

Für die Analysen der SDW lag von 62 (74 %) Patienten eine Dokumentation des Wundheilungsverlaufs vor; von diesen 62 Patienten stammten 30 (48 %) Patienten aus der EPO-Gruppe und 32 (52 %) Patienten aus der Placebo-Gruppe. Von 22 (26 %) Patienten lag keine Wunddokumentation der SDW vor. Die in der folgenden Tabelle angegebenen Prozentangaben bei „Gesamt“ beziehen sich auf diese 62 Patienten (100 %). Das Vorgehen entsprach den Analysen der SGDS. Für jeden Reepithelialisierungsgrad wurden Sterbetafeln und die Cox-Regression mit dem Hazard Ratio als Ausgabe durchgeführt. Auf eine Risikoadjustierung nach Alter, Geschlecht und ABSI \geq 7 wurde bei den Analysen dieser Studienwunden verzichtet.

3.3.1.1 50 % Reepithelialisierungsgrad

56 (90 %) der 62 Patienten erreichten eine Reepithelialisierung über 50 % innerhalb der Beobachtungszeit. Vier Patienten aus der EPO-Gruppe und zwei Patienten aus der Placebo-Gruppe erreichten den 50 % Reepithelialisierungsgrad nicht. Nach 9,60 Tagen hatte sowohl die Hälfte der Patienten der EPO-Gruppe als auch die Hälfte der Patienten der Placebo-Gruppe den 50 % Reepithelialisierungsgrad erreicht. Der paarweise Vergleich der Gruppen ergab einen p-Wert mit $p=0,898$. Einen Überblick gibt Tabelle 18.

Tabelle 18: Überblick der Ergebnisse des 50 % Reepithelialisierungsgrads der SDW

SDW		EPO (n=32)	Placebo (n=30)	Gesamt (n=62)
50 % Reep*-Grad n, (%)	ja	28 (88%)	28 (93%)	56 (90%)
	nein	4 (13%)	2 (7%)	6 (10%)
Median (Tage)		9,60	9,60	p-Wert= 0,898
Reep*-Wahrscheinlichkeit		88 %	93 %	
Hazard Ratio	0,921	95 %-KI= [0,545-1,555]; p-Wert= 0,758		

*Reep= Reepithelialisierung

Das Hazard Ratio betrug 0,921 (95 %-KI= [0,545-1,555]; $p=0,758$). Dies ist als eine um 8 % geringere Chance für die EPO-Gruppe die 50 % Reepithelialisierung der SDW zu erreichen interpretierbar. Mit einem p-Wert von $p=0,758$ war der Unterschied in den Behandlungsarmen nicht signifikant.

Der Verlauf der Ereigniszeitkurven unterschied sich in beiden Gruppen bis Tag 12 nicht. Die Wahrscheinlichkeit den 50 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen betrug am Ende des Beobachtungszeitraums 93 % in der Placebo-Gruppe; sie lag damit etwas höher als die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit der EPO-Gruppe mit 88 %.

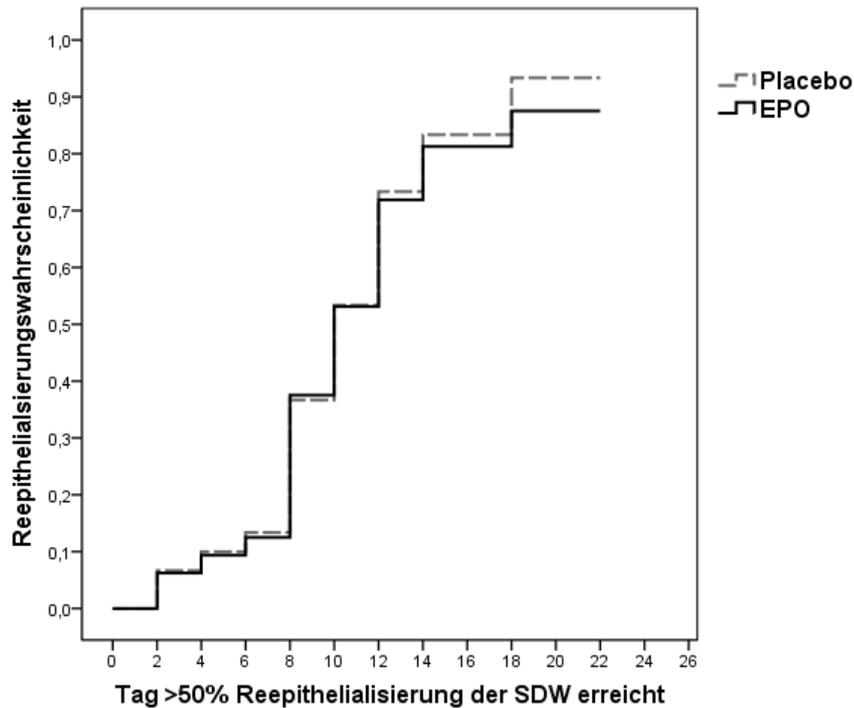


Abbildung 19: Ereigniszeitkurven 50 % Reepithelialisierungsgrad (SDW)

3.3.1.2 75 % Reepithelialisierungsgrad

48 (77 %) der 62 Patienten erreichten eine Reepithelialisierung über 75 %; davon erhielten 23 (72 %) Patienten EPO und 25 (83 %) Patienten Placebo. 14 (23 %) Patienten erreichten diesen Reepithelialisierungsgrad während der Beobachtungszeit nicht. Neun dieser Patienten stammten aus der EPO-Gruppe (28 %) und fünf aus der Placebo-Gruppe (17 %). Die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit am Ende der Beobachtungszeit war 72 % für die EPO-Gruppe und 83 % für die Placebo-Gruppe. Die mediane Reepithelialisierungszeit unterscheidet sich um 0,5 Tage zu Gunsten der Placebo-Gruppe (vgl. Tabelle 19).

Tabelle 19: Überblick der Ergebnisse des 75 % Reepithelialisierungsgrads der SDW

SDW		EPO (n=32)	Placebo (n=30)	Gesamt (n=62)
Reep* >75 % n, (%)	ja	23 (72%)	25 (83%)	48 (77%)
	nein	9 (28%)	5 (17%)	14 (23%)
Median (Tage)		12,50	12,00	p-Wert= 0,561
Reep*-Wahrscheinlichkeit		72 %	83 %	
Hazard Ratio	0,814	95 %-KI= [0,462-1,435]; p-Wert=0,478		

*Reep= Reepithelialisierung

Das Hazard Ratio war 0,814 (95%-KI= [0,462-1,435]; p=0,478) für den 75 % Reepithelialisierungsgrad der SDW. Dies bedeutet eine um 19 % geringere Chance der EPO-Gruppe den 75 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen.

Abbildung 20 zeigt die Ereigniszeitkurven. Zu Beginn der Beobachtungszeit erreichten mehr Patienten der EPO-Gruppe den 75 % Reepithelialisierungsgrad. Der paarweise Vergleich ergab einen p-Wert von $p=0,561$.

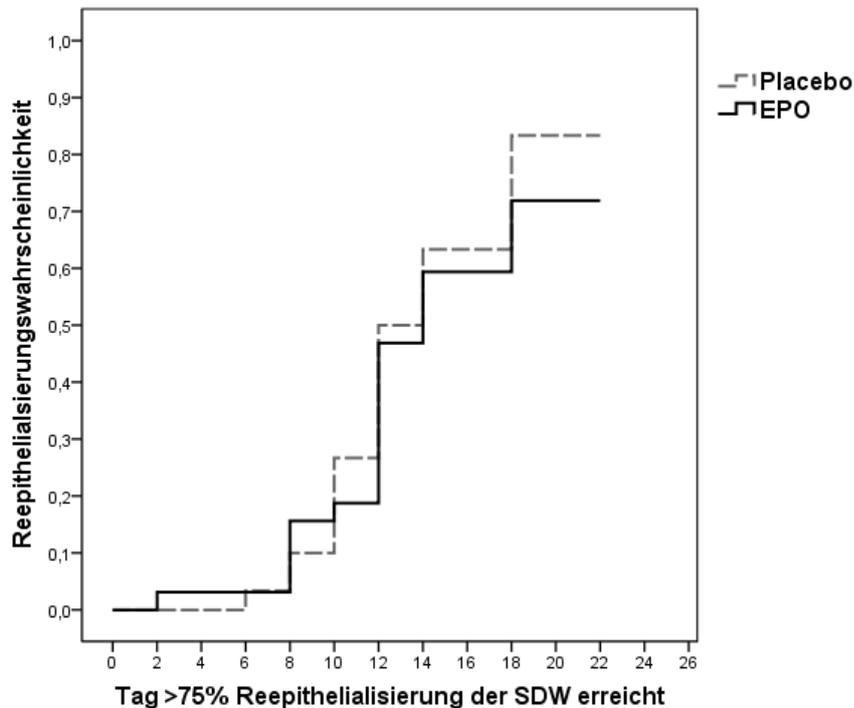


Abbildung 20: Ereigniszeitkurven 75 % Reepithelialisierungsgrad (SDW)

3.3.1.3 100 % Reepithelialisierungsgrad

Eine vollständige Reepithelialisierung der SDW wurde bei 20 (32 %) der 62 Patienten beobachtet. Neun Patienten stammten aus der EPO-Gruppe (28 %), elf Patienten aus der Placebo-Gruppe (37 %). Die berechnete mediane Reepithelialisierungszeit war auf Grund des Ersatzwerts von 21 Tagen für alle Patienten, die keine 100 % Reepithelialisierung der SDW erreichten, nicht aussagekräftig. Die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit lag am Ende der Beobachtungszeit für die Placebo-Gruppe bei 37 %, für die EPO-Gruppe bei 28 % (paarweiser Vergleich $p=0,507$).

Tabelle 20: Überblick der Ergebnisse des 100 % Reepithelialisierungsgrads der SDW

SDW		EPO (n=32)	Placebo (n=30)	Gesamt (n=62)
100 % Reep*-Grad	ja	9 (28%)	11 (37%)	20 (32%)
	n, (%)	nein	23 (72%)	19 (63%)
Median (Tage)		21,00	21,00	p-Wert= 0,507
Reep*-Wahrscheinlichkeit		28 %	37 %	
Hazard Ratio	0,754	95 %-K= [0,312-1,820];		p-Wert=0,530

*Reep= Reepithelialisierung

Das Hazard Ratio war 0,754 (95 %-KI= [0,312-1,820]). Es entsprach einer um 25 % geringeren Chance der EPO-Gruppe den 100 % Reepithelisierungsgrad zu erreichen im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Der berechnete p-Wert war $p=0,530$.

Die Ereigniszeitkurven bilden eine höhere Reepithelisierungswahrscheinlichkeit für die Placebo-Gruppe während Beobachtungszeit ab Tag 10 ab (vgl. Abbildung 21). Bis Tag 10 lag bei keinem Patient eine vollständige (100 %) Reepithelialisierung der SDW vor.

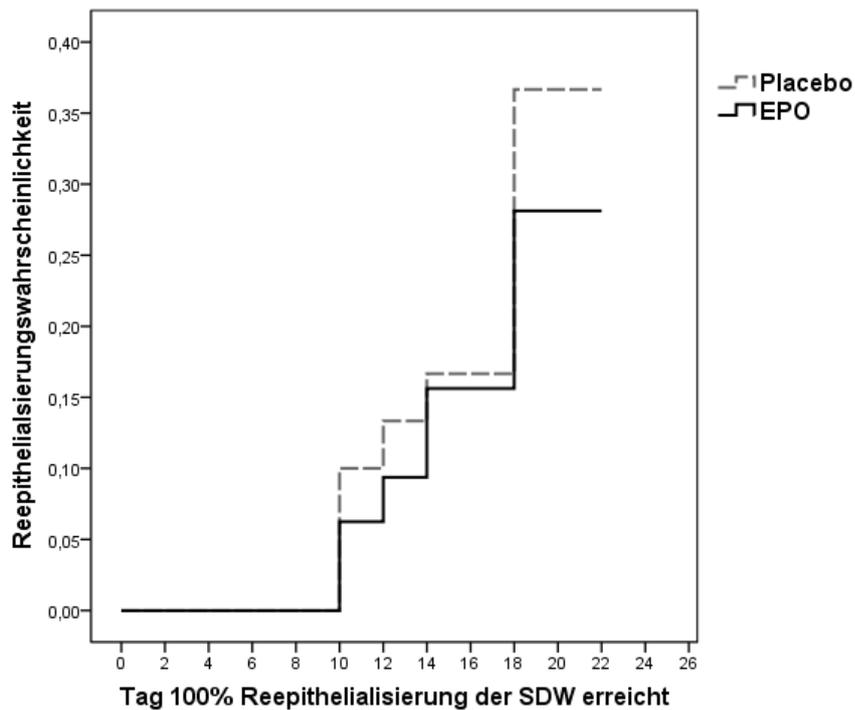


Abbildung 21: Ereigniszeitkurven 100% Reepithelisierungsgrad (SDW)

Abbildung 22 zeigt eine Zusammenfassung der Therapieeffekte für die drei Reepithelialisierungsgrade der SDW:

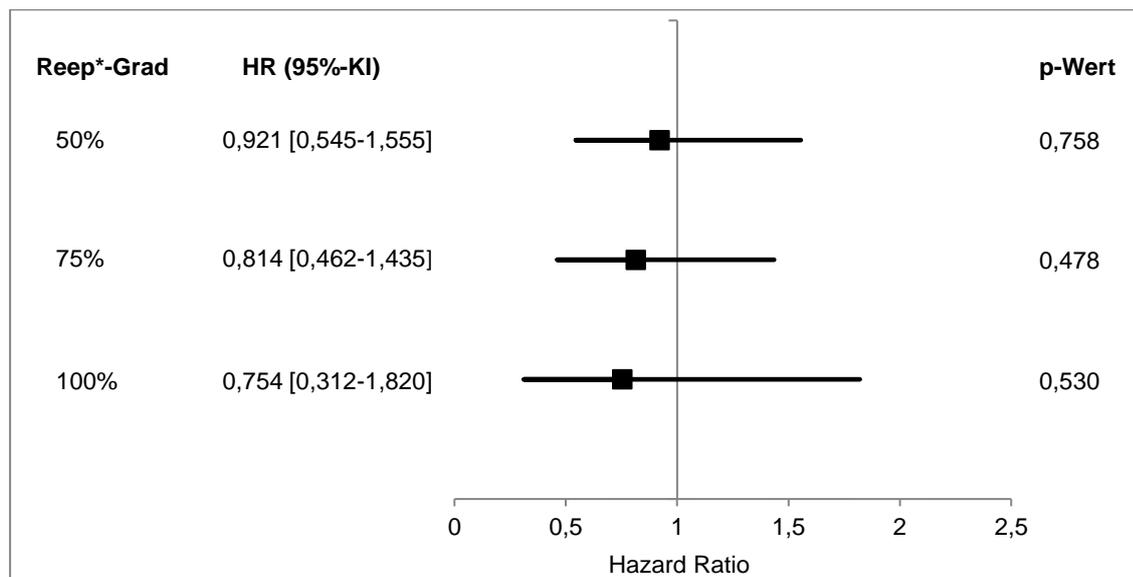


Abbildung 22: Therapieeffekte EPO vs. Placebo der SDW

*Reep=Reepithelialisierung; Die Balken repräsentieren den Therapieeffekt als Hazard Ratio (HR) des Cox-Regressionsmodells; ein HR <1 bedeutet einen negativen Therapieeffekt für Patienten, die EPO erhielten.

3.3.2 TDW

Der Wundheilungsverlauf der TDW wurde ebenfalls in die drei Reepithelialisierungsgrade unterteilt und mittels Sterbetafeln und der Cox-Regression analysiert.

Eine Wunddokumentation lag von 76 (90 %) der 84 in die Analysen eingeschlossenen Patienten vor. Die Prozentangaben bei „Gesamt“ beziehen sich auf diese 76 Patienten (=100 %).

3.3.2.1 50 % Reepithelialisierungsgrad

70 (92 %) der 76 Patienten erreichten eine Reepithelialisierung über 50 %; 36 Patienten stammten aus der EPO-Gruppe (90 %), 34 Patienten aus der Placebo-Gruppe (94 %). Sechs Patienten (8 %) erreichten den 50 % Reepithelialisierungsgrad nicht. Vier der sechs Patienten erhielten EPO (10 %), zwei der sechs Patienten das Placebo (6 %). Die mediane Reepithelialisierungszeit der Placebo-Gruppe war 8,20 Tage, die der EPO-Gruppe 9,50 Tage. Der Unterschied war signifikant ($p=0,049$). Die EPO-Gruppe wies am Ende der Beobachtungszeit eine Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit von 90 % auf. Die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit der Placebo-Gruppe war am Ende der Beobachtungszeit 94 % (vgl. Tabelle 21).

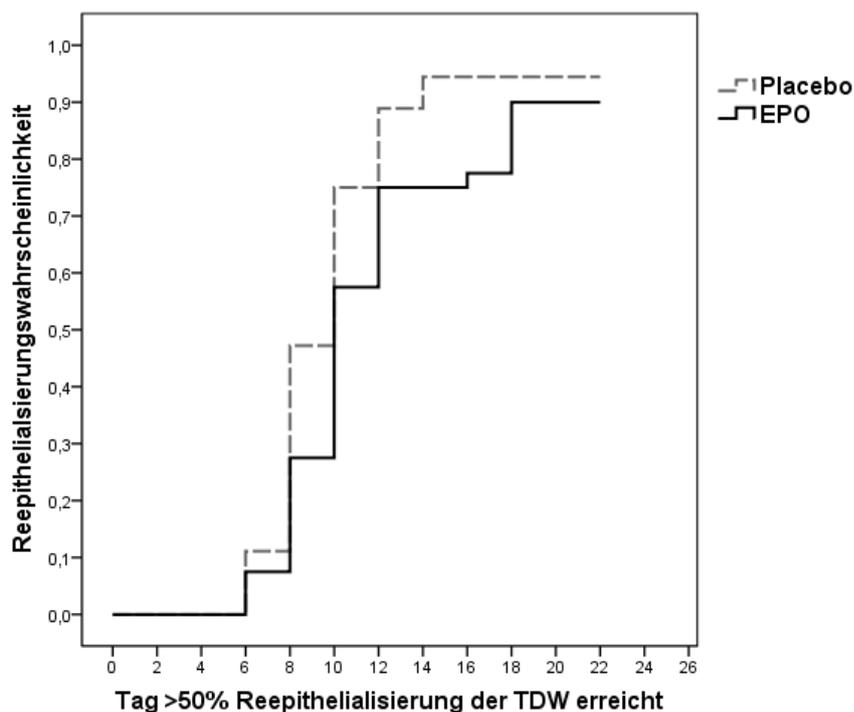
Tabelle 21: Überblick der Ergebnisse des 50 % Reepithelialisierungsgrads der TDW

		EPO (n=40)	Placebo (n=36)	Gesamt (n=76)
50 % Reep*-Grad n, (%)	ja	36 (90%)	34 (94%)	70 (92%)
	nein	4 (10%)	2 (6%)	6 (8%)
Median (Tage)		9,50	8,20	p-Wert: 0,049
Reep*-Wahrscheinlichkeit		90 %	94 %	
Hazard Ratio	0,680	95 %-KI= [0,422-1,095]; p-Wert=0,112		

*Reep=Reepithelialisierung

Das Hazard Ratio war 0,680 (95 %-KI= [0,422-1,095]; p=0,112). Die Chance den 50 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen war folglich in der EPO-Gruppe um 32 % geringer als in der Placebo-Gruppe.

Die Ereigniszeitkurven verdeutlichen, dass ab Tag 06 Patienten der Placebo-Gruppe eine höhere Wahrscheinlichkeit hatten eine Reepithelialisierung über 50 % zu erreichen (vgl. Abbildung 23).

**Abbildung 23: Ereigniszeitkurven 50 % Reepithelialisierungsgrad (TDW)**

3.3.2.2 75 % Reepithelialisierungsgrad

59 (78 %) Patienten erreichten den 75 % Reepithelialisierungsgrad der TDW; 29 Patienten stammten aus der EPO-Gruppe (73 %), 30 Patienten aus der Placebo-Gruppe (83 %). 17 (22%) Patienten erreichten keine Reepithelialisierung über 75 %. Die mediane Reepithelialisierungszeit der Placebo-Gruppe entsprach 10,44 Tagen. Dies war 2,31 Tage kürzer als die mediane Reepithelialisierungszeit der EPO-Gruppe mit 12,75 Tagen

($p=0,023$). Die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit war am Ende der Beobachtungszeit 73 % in der EPO-Gruppe und 83 % in der Placebo-Gruppe. Einen Überblick bietet Tabelle 22.

Tabelle 22: Überblick der Ergebnisse des 75 % Reepithelialisierungsgrads der TDW

		EPO (n=40)	Placebo (n=36)	Gesamt (n=76)
75 % Reep*-Grad	ja	29 (73%)	30 (83%)	59 (78%)
	n, (%)	11 (28%)	6 (17%)	17 (22%)
Median (Tage)		12,75	10,44	p-Wert= 0,023
Reep*-Wahrscheinlichkeit		73 %	83 %	
Hazard Ratio	0,647	95 %-KI= [0,096-1,080]; p-Wert=0,096		

*Reep=Reepithelialisierung

Der Therapieeffekt von EPO entsprach einem Hazard Ratio von 0,647 (95 %-KI= [0,096-1,080]; $p=0,096$) für diesen Reepithelialisierungsgrad; folglich war die Chance der EPO-Gruppe den 75 % Reepithelialisierungsgrad der TDW zu erreichen um 35 % geringer als in der Placebo-Gruppe.

Der Verlauf der Ereigniszeitkurven bildet ab Tag 06 eine höhere Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit der Placebo-Gruppe ab (vgl. Abbildung 24).

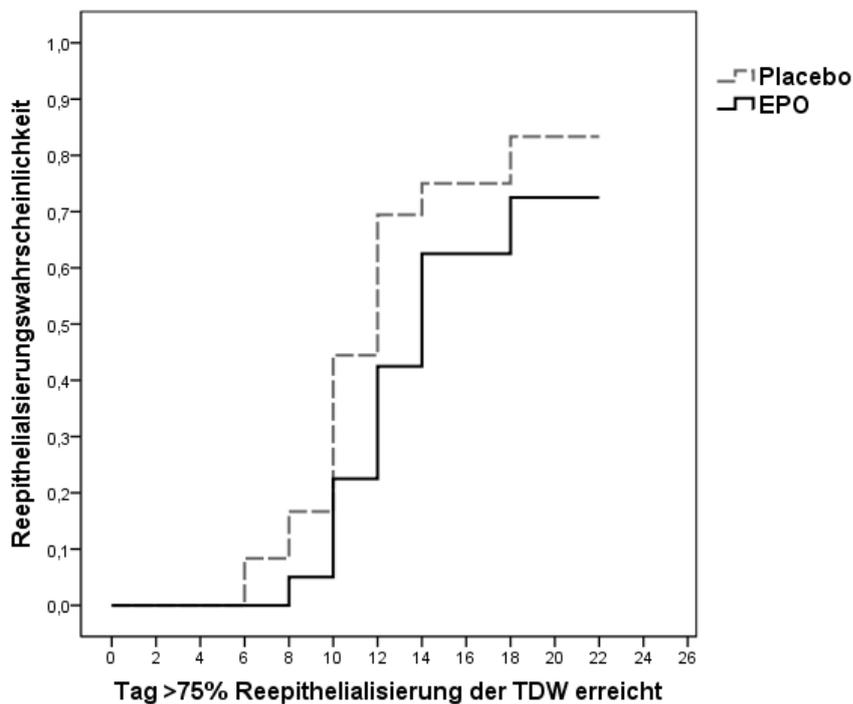


Abbildung 24: Ereigniszeitkurven 75 % Reepithelialisierungsgrad (TDW)

3.3.2.3 100 % Reepithelialisierungsgrad

29 (38 %) Patienten erreichten die vollständige Reepithelialisierung der TDW; zwölf der 29 Patienten erhielten EPO (30 %), 17 der 29 Patienten das Placebo (47 %). 47 (62 %) Patienten erreichten den 100 % Reepithelialisierungsgrad nicht. Am Ende der Beobachtungszeit betrug die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit 47 % in der Placebo-Gruppe und 30 % in der EPO-Gruppe. Die mediane Reepithelialisierungszeit der zwei Gruppen war aufgrund der ersetzten Werte nicht beurteilbar.

Tabelle 23: Überblick der Ergebnisse des 100 % Reepithelialisierungsgrads der TDW

	EPO (n=40)	Placebo (n=36)	Gesamt (n=76)
100 % Reep*-Grad			
ja	12 (30%)	17 (47%)	29 (38%)
nein	28 (70%)	19 (53%)	47 (62%)
Median (Tage)	21,00	21,00	p-Wert= 0,145
Reep*-Wahrscheinlichkeit	30 %	47 %	
Hazard Ratio	0,590	95 %-KI= [0,282-1,236]; p-Wert=0,162	

*Reep=Reepithelialisierung

Das Hazard Ratio war 0,590 (95 %-KI= [0,282-1,236]; p=0,162); dies entsprach einer um 41 % geringeren Chance der EPO-Gruppe 100 % Reepithelialisierung zu erreichen.

Die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit war in der Placebo-Gruppe ab Tag 06 höher (vgl. Abbildung 25).

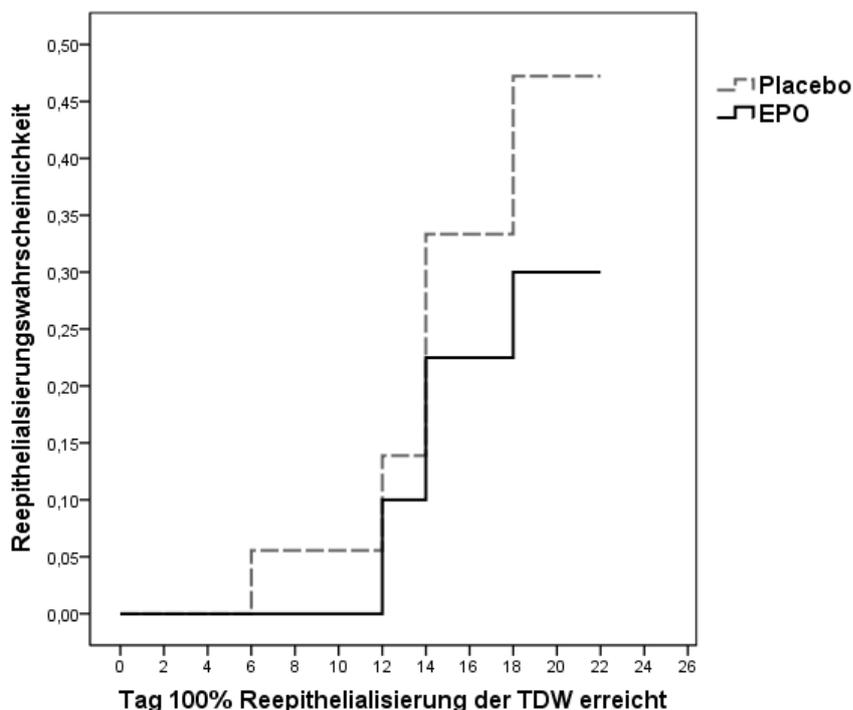


Abbildung 25: Ereigniszeitkurven 100 % Reepithelialisierungsgrad (TDW)

Abbildung 26 zeigt eine Zusammenfassung der Therapieeffekte der drei Reepithelialisierungsgrade der TDW:

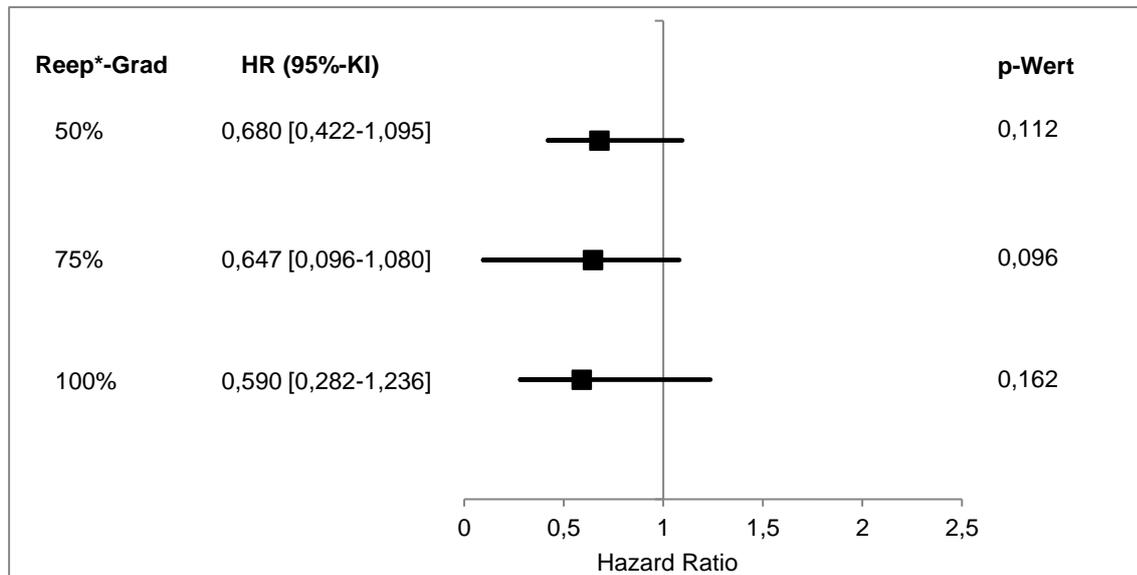


Abbildung 26: Therapieeffekte EPO vs. Placebo der TDW

*Reep=Reepithelialisierung; Die Balken repräsentieren den Therapieeffekt als Hazard Ratio (HR) des Cox-Regressionsmodells; ein HR<1 bedeutet einen negativen Therapieeffekt für Patienten, die EPO erhielten.

3.4 Subgruppenanalysen

Aus den drei Kategorien Begleitmedikamente, Vorerkrankungen und Nebendiagnosen wurden sieben Subgruppen ausgewählt. Vorerkrankungen lagen bei 39 (46 %) Patienten (EPO: 17 (44 %), Placebo: 22 (56 %)) vor; Nebendiagnosen wurden bei 66 (79 %) Patienten (EPO: 35 (53 %), Placebo: 31 (47 %)) gestellt. Begleitmedikamente waren für alle 84 Patienten dokumentiert. Tabelle 24 führt die ausgewählten Subgruppen mit der entsprechenden Patientenanzahl in den zwei Behandlungsarmen auf:

Tabelle 24: Auswahl der Subgruppen

Subgruppen	EPO	Placebo	Gesamt
n, (%)	(n = 45)	(n = 39)	(n = 84)
Insulin	17 (38%)	19 (49%)	36 (43%)
NSARs >1	30 (67%)	11 (28%)	41 (49%)
Piperacillin	23 (51%)	17 (44%)	40 (48%)
Chinolone	11 (24%)	11 (28%)	22 (26%)
Vasopressoren	20 (44%)	23 (59%)	43 (51%)
Sepsis	7 (16%)	4 (10%)	11 (13%)
arterielle Hypertonie	8 (18%)	10 (26%)	18 (21%)

n= Anzahl der Patienten, NSARs = nichtsteroidale Antirheumatika

3.4.1 Einführung

Die ausgewählten Subgruppen wurden durch ihre Subgruppenvariable in zwei Subgruppenschichten mit Subgruppenstatus 1 oder 0 eingeteilt. Der Subgruppenstatus 1 wurde einem Patienten bei Einnahme des ausgewählten Medikaments sowie beim Auftreten der Vorerkrankung oder der Nebendiagnose zugeordnet. Es ergaben sich für jede Subgruppenanalyse vier neue Gruppen:

- | | | |
|---------------------------------------|---|---------------------|
| 1. EPO + Subgruppenstatus 1 (E+S) | } | Subgruppenschicht 1 |
| 2. Placebo + Subgruppenstatus 1 (P+S) | | |
| 3. EPO + Subgruppenstatus 0 (E) | } | Subgruppenschicht 0 |
| 4. Placebo + Subgruppenstatus 0 (P) | | |

Das Cox-Regressionsmodell berechnete den Therapieeffekt von EPO in den Subgruppenschichten ((E+S) vs. (P+S) und (E) vs. (P)). Der Interaktionseffekt ist als Vergleich des Therapieeffekts zwischen den zwei Subgruppenschichten zu verstehen und gibt den Faktor an, um den sich die Therapieeffekte in den Subgruppenschichten unterscheiden. Der Wundheilungsverlauf wurde mittels Ereigniszeitkurven in jeder der vier neugebildeten Gruppen dargestellt. Für jede Gruppe wurden am Ende der Beobachtungszeit die mediane Reepithelialisierungszeit und die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit berechnet. Dies erfolgte für jeden der drei Reepithelialisierungsgrade.

3.4.2 Insulin

Von 84 Patienten erhielten 36 (43 %) Patienten Insulin, 48 (57 %) Patienten erhielten kein Insulin. Für die Überlebenszeitanalysen ergaben sich die vier Gruppen „EPO und Insulin“ (E+I), „Placebo und Insulin“ (P+I), nur „EPO“ (E) und nur „Placebo“ (P). In Tabelle 25 ist die Anzahl der Patienten, die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad in den vier Gruppen erreichten, aufgeführt.

Tabelle 25: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+I (n=17)	P+I (n=19)	E (n=24)	P (n=18)	Gesamt (n=78)
50 %	17 (100%)	18 (95%)	23 (96%)	17 (94%)	75 (96%)
75 %	14 (82%)	16 (84%)	19 (79%)	17 (94%)	66 (85%)
100 %	1 (6%)	3 (16%)	10 (42%)	8 (44%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung; 36 (35 mit Dokumentation der SGDS) der 84 Patienten erhielten Insulin, Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „Insulin“ und „kein Insulin“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio lag in der Subgruppenschicht „Insulin“ bei 1,155 (95 %-KI= [0,592-2,251]), für die Subgruppenschicht „kein Insulin“ bei 0,892 (95 %-KI= [0,475-1,673]). Der Interaktionseffekt wurde mit einem Hazard Ratio von 1,307

(95 %-KI= [0,521-3,277]) berechnet; dies bedeutet, dass der Therapieeffekt von EPO in der Subgruppenschicht „Insulin“ um den Faktor 1,307 größer war als in der Subgruppenschicht „kein Insulin“.

75 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt war in beiden Subgruppenschichten negativ (HR <1) (Insulin: HR=0,815; 95 %-KI= [0,397-1,672]; kein Insulin: HR=0,686; 95 %-KI= [0,356-1,323]). Der Interaktionseffekt ergab ein Hazard Ratio von 1,199 (95 %-KI= [0,453-3,173]); der Therapieeffekt war in der Subgruppenschicht Insulin somit um den Faktor 1,199 größer.

100 % Reepithelialisierungsgrad: Für Patienten, die kein Insulin erhielten, war der Therapieeffekt von EPO positiv (HR=1,070; 95 %-KI= [0,422-2,711]). Das Hazard Ratio in der Subgruppenschicht „Insulin“ war hingegen 0,368 (95 %-KI= [0,038-3,536]). Der Interaktionseffekt (HR=0,341; 95 %-KI= [0,030-3,937]) ergab eine Reduktion des Therapieeffekts von EPO um den Faktor 0,341 für Patienten, die Insulin erhielten.

Abbildung 27 gibt einen Überblick der Ergebnisse des Cox-Regressionsmodells für alle Reepithelialisierungsgrade.

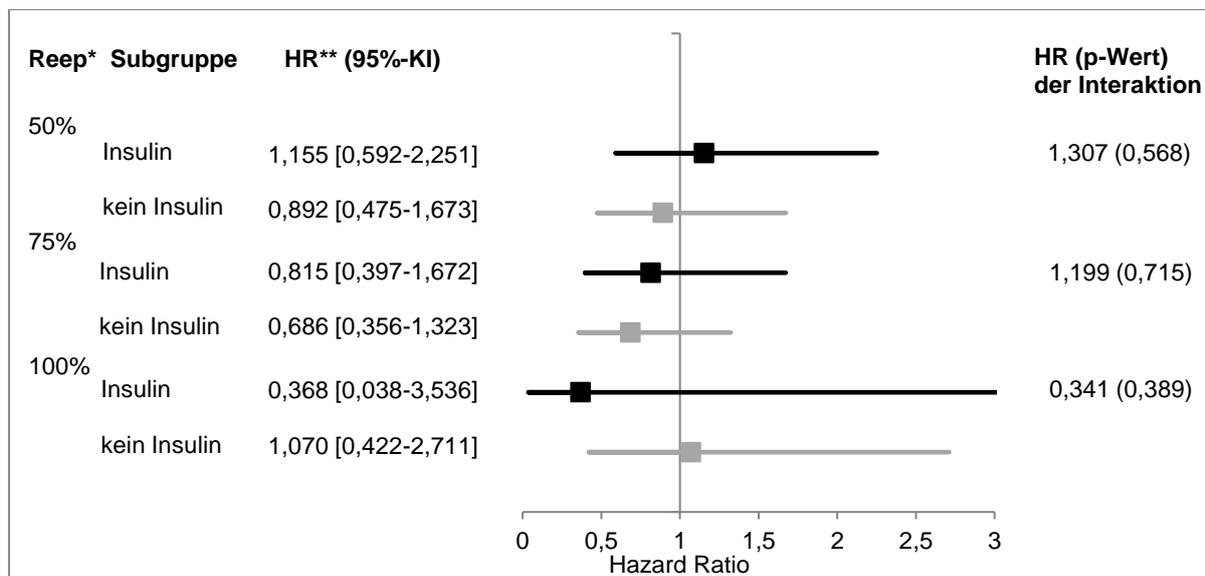


Abbildung 27: HRs der Subgruppenschichten „Insulin“ vs. „kein Insulin“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt. Abbildung verwendet in (C.I. Gunter et al., in press).

Der Verlauf der Ereigniszeitkurven in den vier Gruppen ist für alle drei Reepithelialisierungsgrade in Abbildung 28 dargestellt. Zu Beginn zeigten alle Patienten, die Insulin erhielten (E+I oder P+I) eine höhere Wahrscheinlichkeit eine Reepithelialisierung über 50 % zu erreichen. Für das Erreichen des 75 % Reepithelialisierungsgrads zeigten am Ende der Beobachtungszeit Patienten, die das Placebo erhielten (P+I oder P), eine höhere

Wahrscheinlichkeit. Patienten, die nur EPO erhielten (E), hatten im zeitlichen Verlauf die höchste Wahrscheinlichkeit, die vollständige Reepithelialisierung der SGDS zu erreichen. Am Ende der Beobachtungszeit war die Wahrscheinlichkeit die vollständige Reepithelialisierung zu erreichen jedoch für Patienten, die nur das Placebo erhielten (P), um zwei Prozentpunkte höher als für Patienten, die nur EPO erhielten.

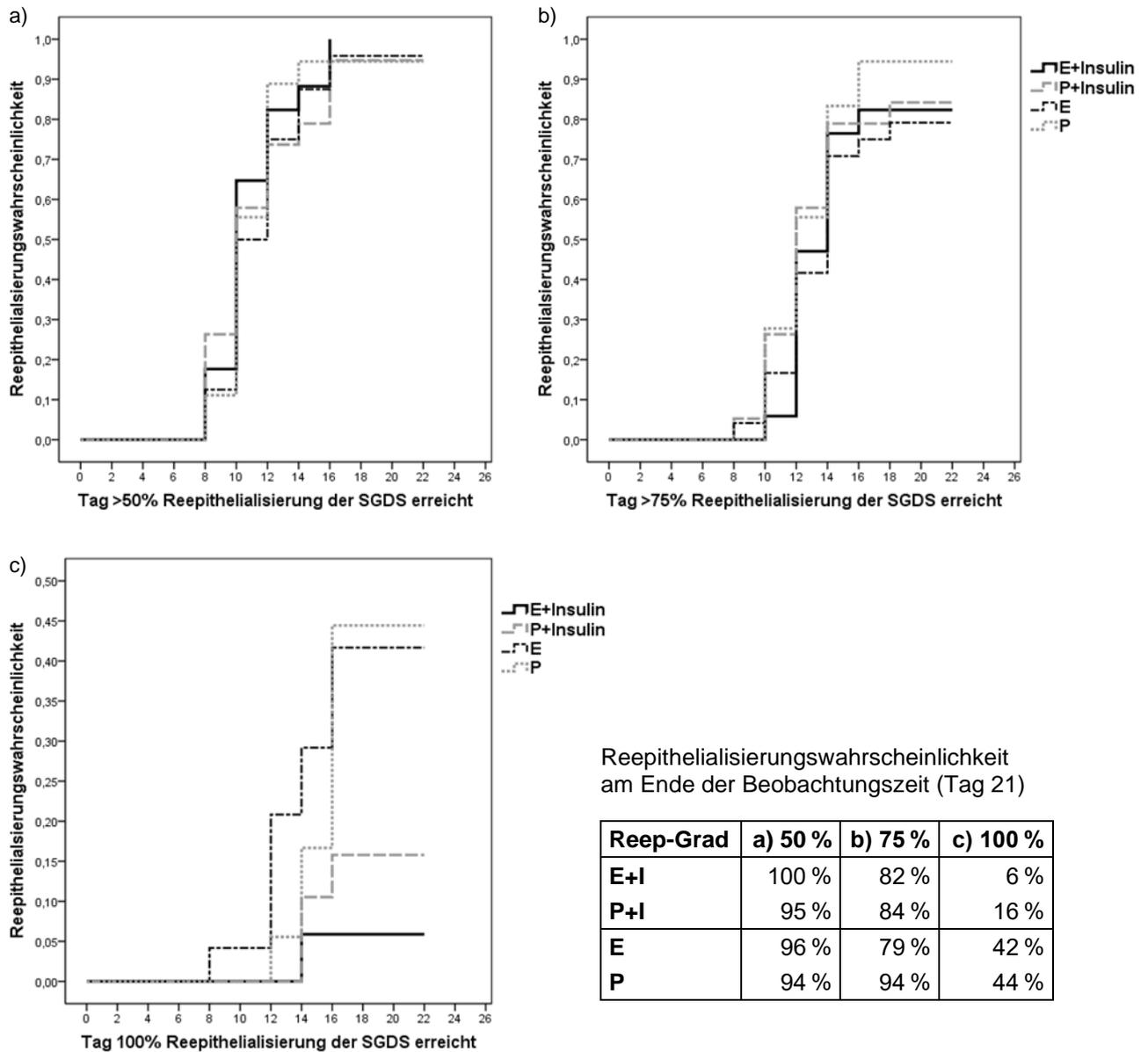


Abbildung 28. Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+I, P+I, E und P

Die mediane Reepithelialisierungszeit aller vier Gruppen ist für die drei Reepithelialisierungsgrade in Tabelle 26 angegeben. Den 50 % Reepithelialisierungsgrad erreichten Patienten, die EPO und Insulin erhielten (E+I), nach 9,38 Tagen als erste. Eine Reepithelialisierung über 75 % erreichten Patienten, die kein EPO erhielten (P+I und P), am schnellsten (nach 11,50 und 11,60 Tagen). Die mediane Reepithelialisierungszeit des 100 % Reepithelialisierungsgrads ist auf Grund der Ersatzwerte nicht aussagekräftig.

Tabelle 26: Mediane Reepithelialisierungszeiten der SGDS in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+I	P+I	E	P
50 %-Reep*	9,38	9,50	10,00	9,75
75 %-Reep	12,20	11,50	12,57	11,60
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep= Reepithelialisierung, Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Betrachtet man ausschließlich den Effekt von Insulin auf die Wundheilung, so war das Hazard Ratio 1,058 (95 %-KI= [0,670-1,667]) für das Erreichen des 50 % Reepithelialisierungsgrads und für den 75 % Reepithelialisierungsgrad 0,984 (95 %-KI= [0,606-1,597]). Es zeigte sich somit kein Unterschied im Chancenverhältnis zwischen der Gabe von Insulin vs. kein Insulin für diese zwei Reepithelialisierungsgrade. Die Chance auf Erreichen der 100 % Reepithelialisierung war für Patienten, die Insulin erhielten, signifikant geringer im Vergleich zu Patienten, die kein Insulin erhielten (HR=0,227; 95 %-KI= [0,077-0,672]; p=0,007). Die univariat analysierten Effekte von Insulin auf die Reepithelialisierung der SGDS sind in Tabelle 27 abzulesen.

Tabelle 27: Effekt (HR) von Insulin

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	1,058	[0,670-1,667]
75 %	0,984	[0,606-1,597]
100 %	0,227	[0,077-0,672]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.4.3 Nichtsteroidale Antirheumatika

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Subgruppenanalyse für die Subgruppe NSARs>1 dargestellt. Die Subgruppenschichten sind als „NSARs>1“ und „NSARs≤1“ benannt.

41 (49 %) der 84 Patienten¹⁷ erhielten mehr als ein NSAR (NSARs>1); 43 (51 %) Patienten erhielten ein oder kein NSAR (NSAR≤1). Tabelle 28 gibt einen Überblick über die Anzahl der Patienten in den vier Gruppen „EPO und mehr als ein NSAR“ (E+ NSARs>1), „Placebo und mehr als ein NSAR“ (P+NSARs>1), nur „EPO“ (E) und nur „Placebo“ (P), die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad erreichten.

Tabelle 28: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+NSARs>1 (n=27)	P+NSARs>1 (n=10)	E (n=14)	P (n=27)	Gesamt (n=78)
50 %	26 (96%)	10 (100%)	14 (100%)	25 (93%)	75 (96%)
75 %	22 (81%)	9 (90%)	11 (79%)	24 (89%)	66 (85%)
100 %	8 (30%)	5 (50%)	3 (21%)	6 (22%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung; Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

¹⁷ 37 der 78 Patienten mit Dokumentation der SGDS

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „NSARs>1“ und „NSAR≤1“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio bzw. der Therapieeffekt von EPO für das Erreichen der Reepithelialisierung über 50 % lag in den Subgruppenschichten NSAR>1 und NSAR≤1 bei 1 (NSARs>1: HR=1,014; 95 %-KI= [0,489-2,102]; NSAR≤1: HR=1,042; 95 %-KI= [0,540-2,013]; IE: HR=0,960; 95 %-KI= [0,360-2,564]; p=0,936). Es zeichnete sich kein Chancenunterschied beim Erreichen des 50 % Reepithelialisierungsgrads in dieser Subgruppe ab.

75 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio für das Erreichen des 75 % Reepithelialisierungsgrads war in beiden Subgruppenschichten kleiner 1 (NSARs>1: HR=0,779; 95 %-KI= [0,356-1,698]; NSAR≤1: HR=0,666; 95 %-KI= [0,326-1,363]). Dies entsprach dem Ergebnis des SGDS ohne Subgruppenunterteilung. Für Patienten, der Subgruppenschicht NSARs>1, folglich für Patienten, die mehr als ein NSAR erhielten, war das Hazard Ratio bzw. der Therapieeffekt von EPO um den Faktor 1,148 (95 %-KI= [0,398-3,307]; p=0,799) größer als in der Subgruppenschicht NSAR≤1.

100 % Reepithelialisierungsgrad: In der Subgruppenschicht NSAR≤1 ist kein Unterschied in der Therapie von EPO vs. Placebo anzunehmen (HR=0,957; 95 %-KI = 0,239-3,827]). Das Hazard Ratio lag für die Subgruppenschicht NSARs>1 bei 0,651 (95 %-KI= [0,213-1,992]); für Patienten der Subgruppenschicht NSARs>1 war der Therapieeffekt somit negativ und um den Faktor 0,679 (95 %-KI= [0,114-4,025]; p=0,669) geringer.

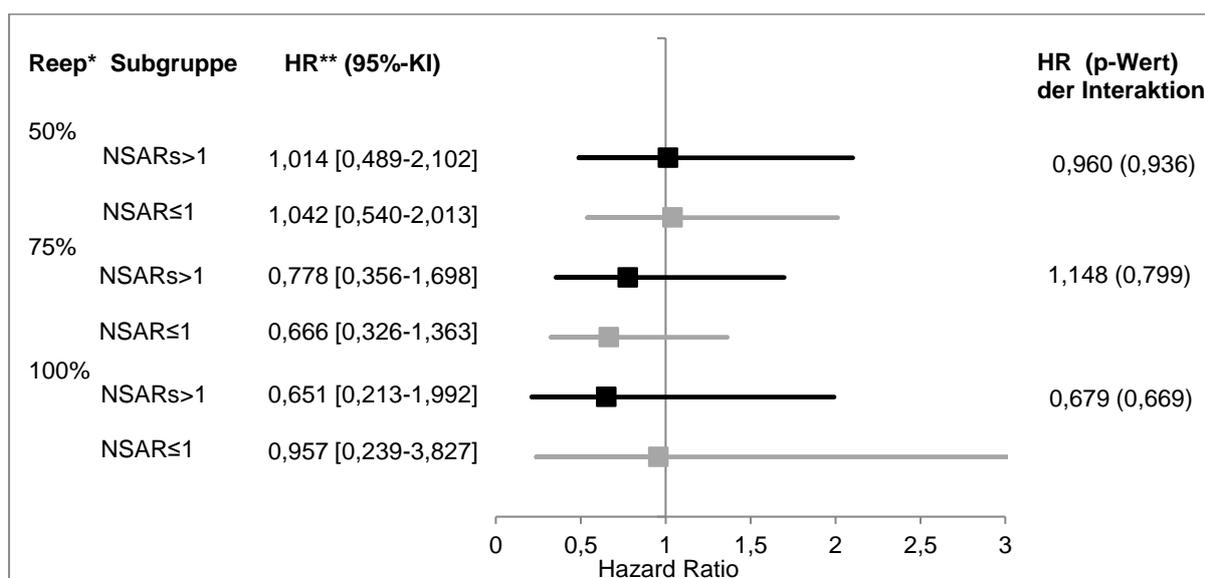


Abbildung 29: HRs der Subgruppenschichten „NSARs>1“ vs. „NSAR≤1“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt. Abbildung verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Die Ereigniszeitkurven sind in Abbildung 30 dargestellt. Für den 50 % Reepithelialisierungsgrad ergab sich kein Unterschied im Kurvenverlauf der vier Gruppen. Die Wahrscheinlichkeit über 75 % Reepithelialisierung zu erreichen war für Patienten, die das Placebo erhielten, höher. Für das Erreichen der 100 % Reepithelialisierung der SGDS zeigten Patienten der Subgruppenschicht NSARs>1 eine höhere Wahrscheinlichkeit.

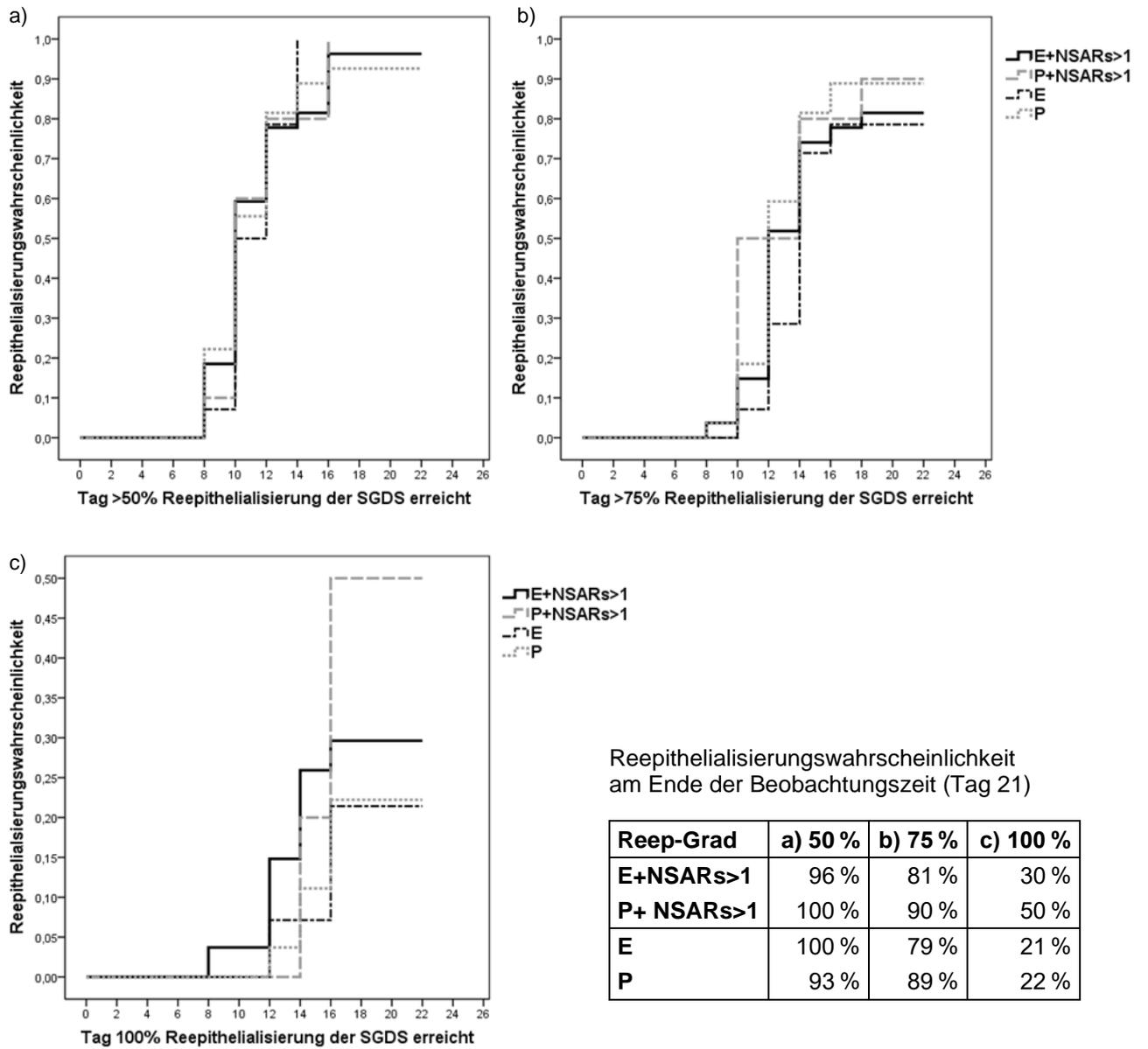


Abbildung 30: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+NSARs>1, P+ NSARs>1, E und P

Die medianen Reepithelialisierungszeiten der vier Gruppen sind in Tabelle 29 für jeden der drei Reepithelialisierungsgrade aufgeführt.

Tabelle 29: Mediane Reepithelialisierungszeiten der SGDS in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+NSARs>1	P+NSARs>1	E	P
50 %-Reep*	9,55	9,60	10,00	9,67
75 %-Reep	11,90	12,00	13,00	11,55
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep= Reepithelialisierung

Das univariate Hazard Ratio der Subgruppe ergab, dass die Gabe von mehr als einem NSAR (NSARs>1) im Vergleich zu keinem oder einem NSAR (NSAR≤1) keinen Effekt auf die Reepithelialisierung der SGDS über 50 % oder 75 % hatte (HR⁵⁰= 0,958; 95%-KI= [0,606-1,513]; HR⁷⁵= 1,024; 95%-KI= [0,631-1,662]). Das Hazard Ratio des 100 % Reepithelialisierungsgrads war 1,767 und sprach für eine höhere Chance der Patienten der Subgruppenschicht NSARs>1 diesen Grad zu erreichen. Dies ist auch in der Ereigniszeitkurve abzulesen (vgl. Abbildung 30c)). Tabelle 30 listet die univariat analysierten Effekte von NSAR>1 auf die Reepithelialisierung der SGDS auf:

Tabelle 30: Effekt (HR) von NSARs>1

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	0,958	[0,606-1,513]
75 %	1,024	[0,631-1,662]
100 %	1,767	[0,755-4,137]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.4.4 Vasopressoren

Insgesamt erhielten 43 (51 %) der 84 Patienten Vasopressoren während ihres Aufenthalts in den Verbrennungszentren. 35 dieser Patienten wiesen einen ABSI≥7 auf (Gesamt: 35/43 (81 %), EPO: 14/35 (40 %), Placebo: 21/35 (60 %). 41 Patienten erhielten keine Vasopressoren.

Tabelle 31 gibt einen Überblick über die Anzahl der Patienten in den vier Gruppen „EPO und Vasopressoren“ (E+VPs), „Placebo und Vasopressoren“ (P+VPs), nur „EPO“ (E) und nur „Placebo“ (P), sowie über die Anzahl der Patienten, die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad erreichten.

Tabelle 31: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+VPs (n=18)	P+VPs (n=21)	E (n=23)	P (n=16)	Gesamt (n=78)
50 %	17 (94%)	20 (95%)	23 (100%)	15 (94%)	75 (96%)
75 %	15 (83%)	18 (86%)	18 (78%)	15 (94%)	66 (85%)
100 %	4 (22%)	4 (19%)	7 (30%)	7 (44%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung, Tabelle verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „VPs“ und „keine VPs“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio der Patienten, die VPs erhielten, lag bei 0,901 (95 %-KI= [0,471-1,723]). Für Patienten, die keine VPs erhielten, lag das Hazard Ratio bei 1,062 (95 %-KI= [0,554-2,035]). Der Interaktionseffekt wurde mit einem Hazard Ratio von 0,855 (95 %-KI= [0,342-2,143]; $p=0,739$) berechnet; dies bedeutete, dass der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „VPs“ um den Faktor 0,855 niedriger war als in der Subgruppenschicht „keine VPs“.

75 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt war in der Subgruppenschicht „VPs“ um den Faktor 1,403 (95 %-KI= [0,531-3,708]; $p=0,495$) größer, doch in beiden Subgruppenschichten negativ (VPs: HR=0,870; 95 %-KI= [0,438-1,729]; keine VPs: HR=0,623; 95 %-KI= [0,313-1,240]).

100 % Reepithelialisierungsgrad: Mit einem Hazard Ratio von 1,217 (95 %-KI= [0,304-4,868]) war der Therapieeffekt von EPO für die Subgruppenschicht „VPs“ positiv. Der Interaktionseffekt war um den Faktor 1,678 (95 %-KI= [0,295-9,546]; $p=0,559$) größer. In der Subgruppenschicht „keine-VPs“ war das Hazard Ratio 0,741 (95 %-KI= [0,260-2,115]).

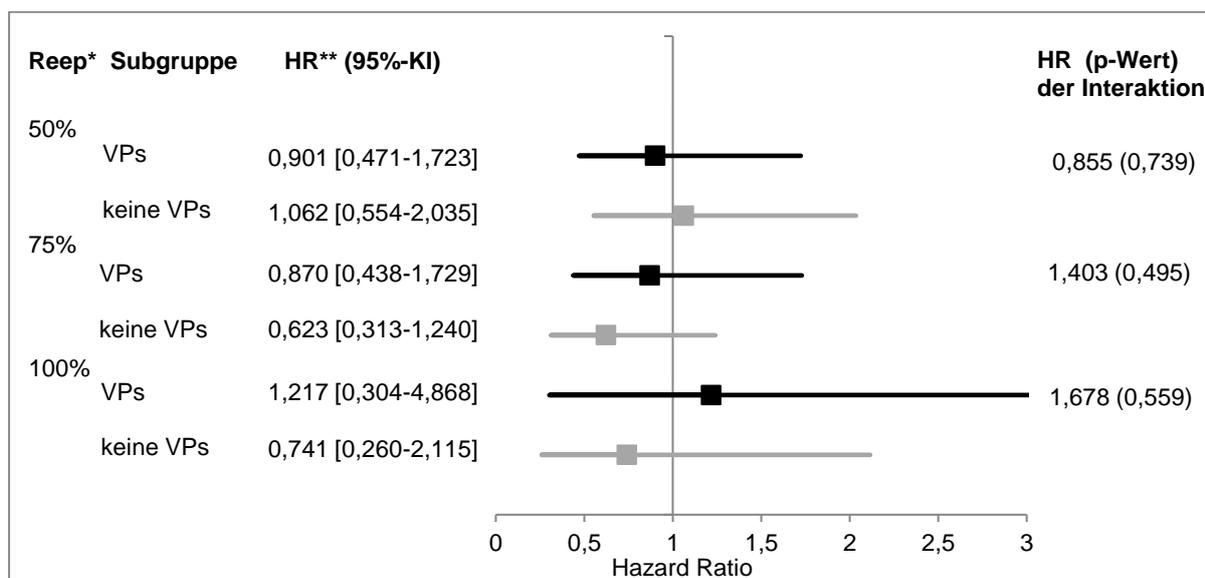


Abbildung 31: HRs der Subgruppenschichten „VPs“ vs. „keine VPs“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt. Abbildung verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Die Ereigniszeitkurven sind in Abbildung 32 zu sehen. Ab Tag 12 zeigten Patienten, die keine Vasopressoren erhielten (E oder P), eine höhere Wahrscheinlichkeit eine Reepithelialisierung über 50 % zu erreichen. Patienten, die das Placebo und keine VPs erhielten (P), zeigten während der gesamten Beobachtungszeit die höchste Wahrscheinlichkeit den 75 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen. Eine vollständige

Reepithelialisierung erreichten am Ende der Beobachtungszeit 30 % der Patienten, die nur EPO erhielten (E), und 44 % der Patienten, die nur das Placebo erhielten (P). Sie zeigten eine größere Wahrscheinlichkeit vollständig abzuheilen als Patienten der Subgruppenschicht VPs (E+VPs und P+VPs).

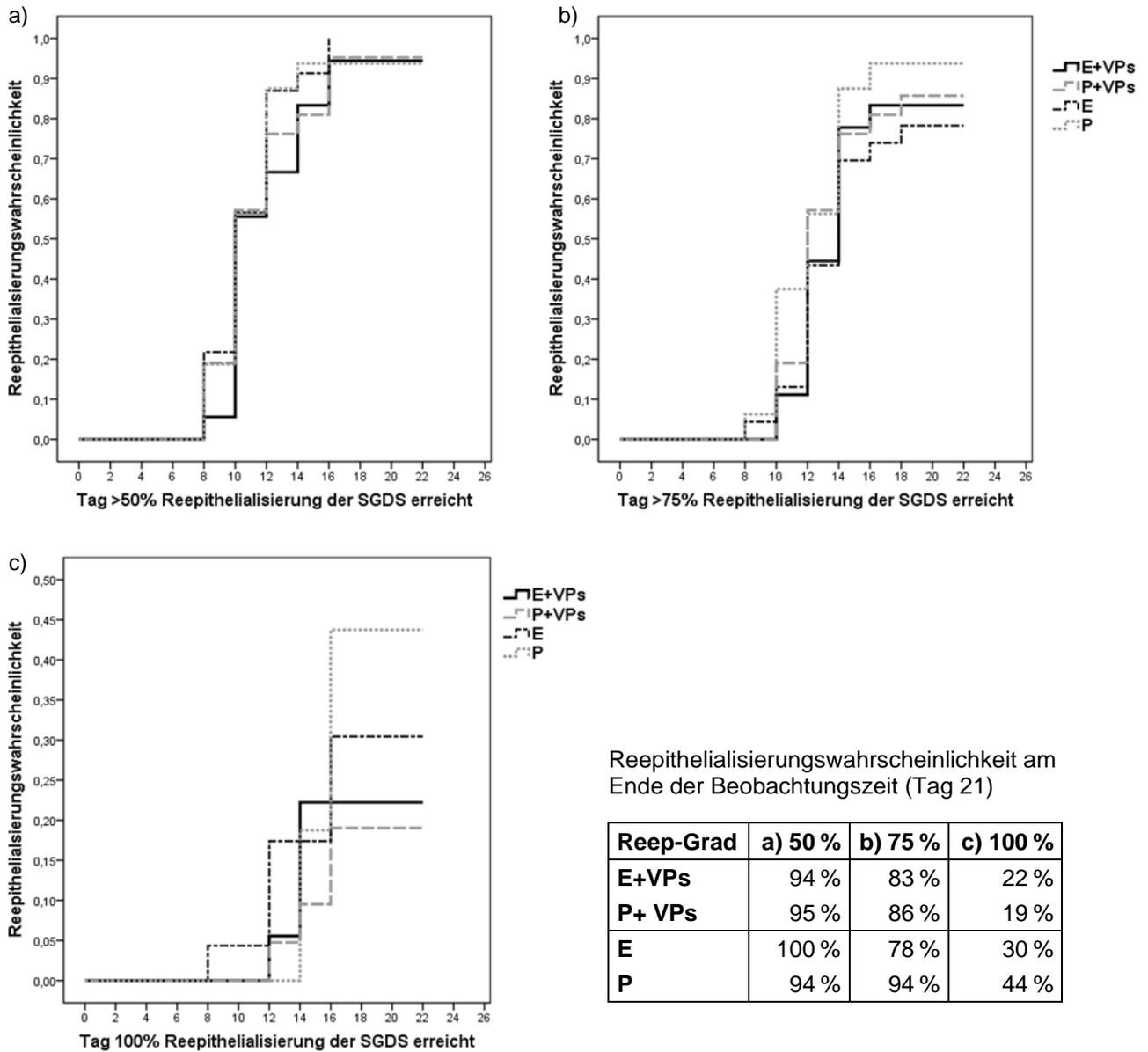


Abbildung 32: Ereigniszeitkurven der vier Gruppe E+VPs, P+VPs, E und P
 Abbildung 32c) verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Tabelle 32 führt die medianen Reepithelisierungszeiten der vier Gruppen für jeden Reepithelisierungsgrad auf.

Tabelle 32: Mediane Reepithelisierungszeit der SGDS in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+VPs	P+VPs	E	P
50 %-Reep*	9,78	9,63	9,63	9,67
75 %-Reep	12,33	11,63	12,50	11,33
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep=Reepithelisierung

Die univariat berechneten Hazard Ratios der Variable „Vasopressoren“ im Vergleich zu „keinen Vasopressoren“ bezüglich der Reepithelisierung der SGDS sind in Tabelle 33 abzulesen. Für das Erreichen des 50 % Reepithelisierungsgrads ergab sich ein Hazard Ratio von 0,815 (95 %-KI= [0,342-2,143]) für Patienten, die Vasopressoren erhielten. In Bezug auf das Erreichen des 75 % Reepithelisierungsgrads ergab sich kein Unterschied im Chancenverhältnis (HR=0,972, 95 %-KI= [0,600-1,575]) zwischen den Patienten, die Vasopressoren erhielten, und den Patienten, die keine Vasopressoren erhielten. Für die 100 % Reepithelisierung war das geschätzte Hazard Ratio der Patienten, die Vasopressoren erhielten, 0,551 (95 %-KI= [0,231-1,314]).

Tabelle 33: Effekt (HR) der Vasopressoren

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	0,815	[0,516-1,288]
75 %	0,972	[0,600-1,575]
100 %	0,551	[0,231-1,314]

*Reep= Reepithelisierung; **HR= Hazard Ratio

3.4.5 Antibiotika

45 (54 %) der 84 Patienten erhielten mindestens ein Antibiotikum während der Beobachtungszeit. Die Analysen der zwei ausgewählten Antibiotika(-klassen) ergaben folgendes:

3.4.5.1 Piperacillin-Tazobactam

40 (48 %) der 84 Patienten erhielten das Antibiotikum Piperacillin in Kombination mit dem β -Lactam Inhibitor Tazobactam oder Combactam. Zwischen den zwei β -Lactam Inhibitoren wurde nicht unterschieden und Tazobactam im Text verwendet.

Tabelle 34 gibt einen Überblick über die Anzahl der Patienten in den vier Gruppen „EPO und Piperacillin-Tazobactam“ (E+Pip-Taz), „Placebo und Piperacillin-Tazobactam“ (P+Pip-Taz), nur „EPO“ (E) und nur „Placebo“ (P), die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad erreichten.

Tabelle 34: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+Pip-Taz (n=22)	P+Pip-Taz (n=17)	E (n=19)	P (n=20)	Gesamt (n=78)
50 %	21 (95%)	16 (94%)	19 (100%)	19 (95%)	75 (96%)
75 %	18 (82%)	14 (82%)	15 (79%)	19 (95%)	66 (85%)
100 %	4 (18%)	4 (24%)	7 (37%)	7 (35%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „Pip-Taz“ und „keine Pip-Taz“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio der Patienten, die Piperacillin-Tazobactam erhielten, lag bei 0,928 (95%-KI= [0,483-1,782]). Dies entsprach einem um den Faktor 0,809 (95 %-KI= [0,325-2,012]; p=0,648) kleineren Therapieeffekt von EPO als bei Patienten, die kein Piperacillin-Tazobactam erhielten (HR=1,128; 95 %-KI= [0,597-2,132]).

75 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt von EPO war in beiden Subgruppenschichten negativ (Pip-Taz: HR=0,669; 95 %-KI= [0,330-1,356]; kein Pip-Taz: HR=0,848; 95 %-KI= [0,430-1,672]). Der berechnete Interaktionseffekt ergab ein Hazard Ratio von 0,780 (95 %-KI= [0,293-2,077]; p=0,619); der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „Pip-Taz“ war somit um den Faktor 0,780 kleiner als in der Subgruppenschicht „kein Pip-Taz“.

100 % Reepithelialisierungsgrad: Patienten, die kein Piperacillin-Tazobactam erhielten, hatten einen positiven Therapieeffekt (HR=1,141; 95 %-KI= [0,400-3,253]). In der Subgruppenschicht „Pip-Taz“ war der Therapieeffekt mit einem Hazard Ratio von 0,826 negativ (95 %-KI= [0,206-3,303]) und um den Faktor 0,720 (95 %-KI= [0,127-4,092]; p=0,711) kleiner als in der Subgruppenschicht „kein Pip-Taz“.

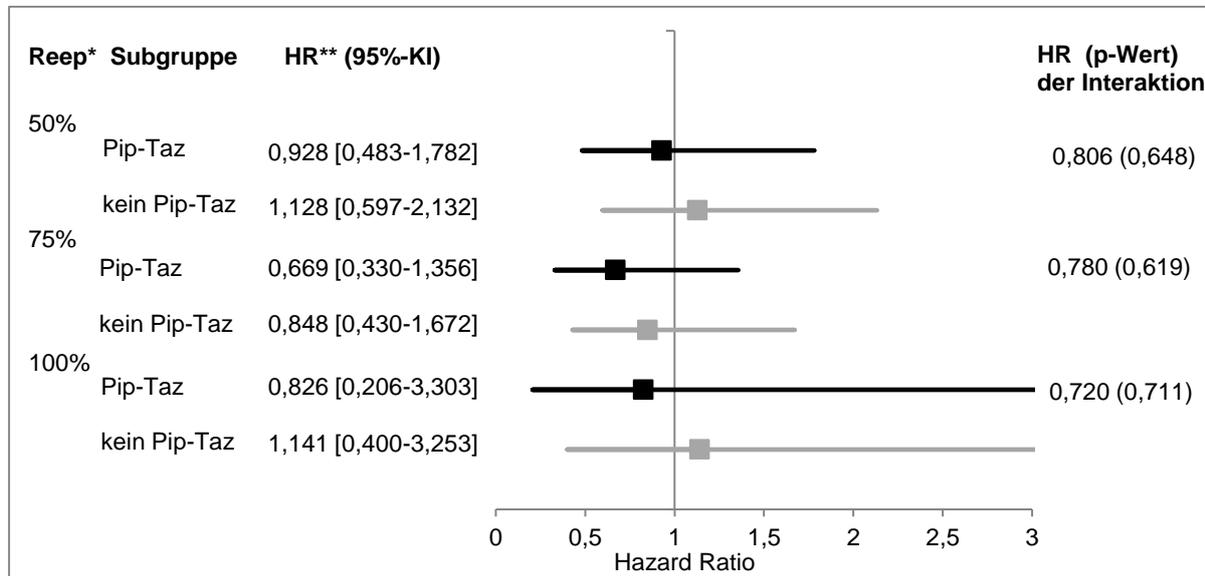


Abbildung 33: HRs der Subgruppenschichten „Pip-Taz“ vs. „kein Pip-Taz“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt.

Die Ereigniszeitkurven sind in Abbildung 34 abgebildet. Für das Eintreten des 50 % Reepithelialisierungsgrads zeigte sich kein Unterschied im Kurvenverlauf der vier Gruppen. Eine Reepithelialisierung über 75 % erreichten Patienten, die nur das Placebo (P) erhielten, mit der größten Wahrscheinlichkeit im Vergleich zu den drei anderen Gruppen. Eine vollständige (100 %) Reepithelialisierung erreichten Patienten, die nur EPO (E) erhielten, am wahrscheinlichsten. Dies geht mit dem Hazard Ratio von 1,141 für diesen Reepithelialisierungsgrad in der Subgruppenschicht „kein Pip-Taz“ einher.

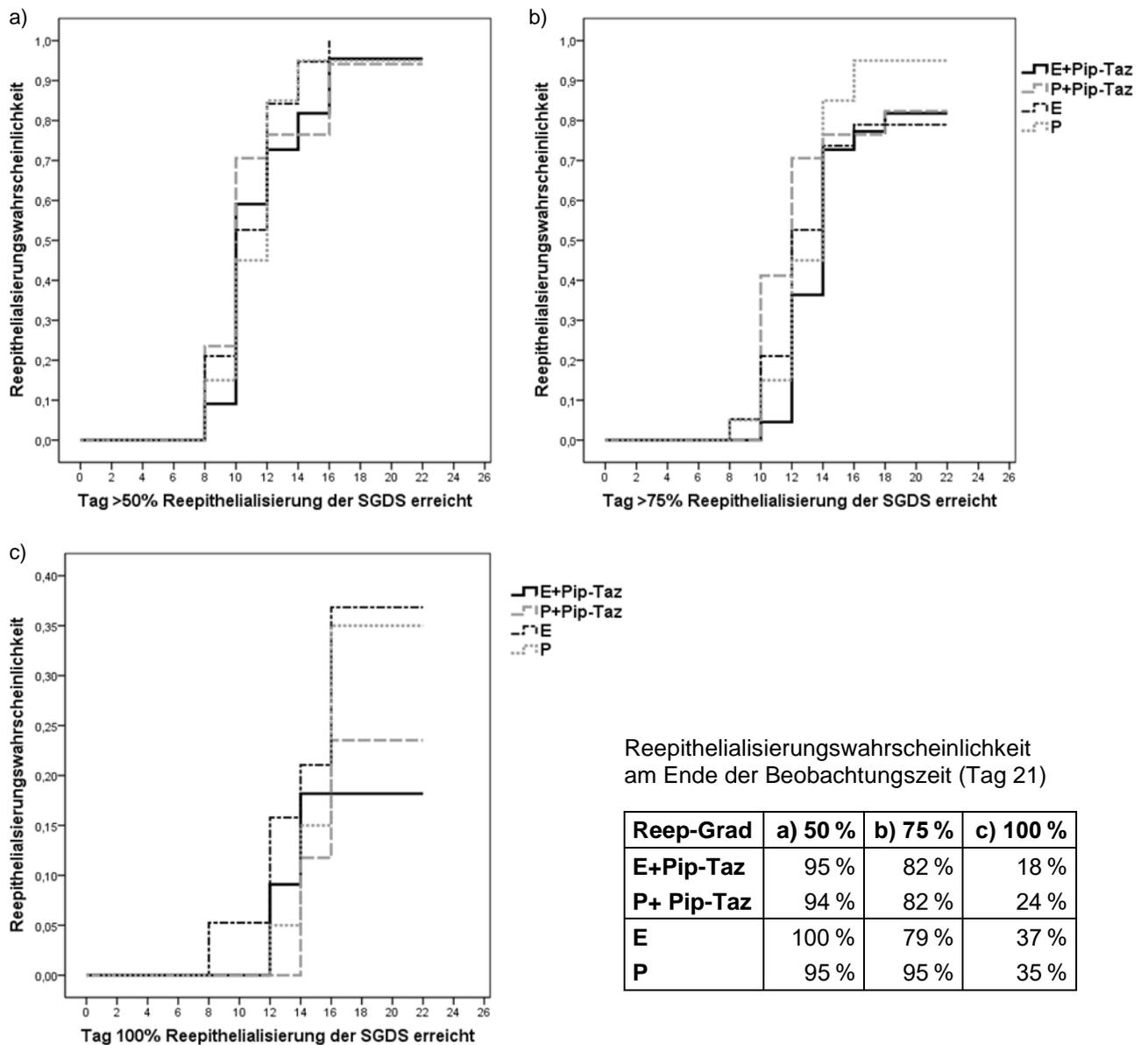


Abbildung 34: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Pip-Taz, P+Pip-Taz, E und P

Vergleicht man die medianen Reepithelisierungszeiten, so erreichten Patienten, die das Placebo und Piperacillin-Tazobactam erhielten (P+Pip-Taz), den 50 % und 75 % Reepithelisierungsgrad am schnellsten (vgl. Tabelle 35).

Tabelle 35: Mediane Reepithelisierungszeit in den vier Gruppen

Median (Tage):	E+Pip-Taz	P+Pip-Taz	E	P
50 %-Reep*	9,64	9,13	9,83	10,25
75 %-Reep	12,75	10,60	11,83	12,25
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep= Reepithelisierung

Das univariat berechnete Hazard Ratio der Variable „Piperacillin-Tazobactam“ war 0,894 (95 %-KI= [0,562-1,422]) für das Erreichen des 50 % Reepithelialisierungsgrads und 0,929 (95 %-KI= [0,572-1,506]) für das Erreichen des 75 % Reepithelialisierungsgrads. Für den 100 % Reepithelialisierungsgrad war das Hazard Ratio 0,551 (95 %-KI= [0,231-1,314]).

Tabelle 36: Effekt (HR) von Pip-Taz

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	0,894	[0,562-1,422]
75 %	0,929	[0,572-1,506]
100 %	0,551	[0,231-1,314]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.4.5.2 Chinolone

Antibiotika der Wirkstoffklasse der Chinolone erhielten 22 (26 %) der 84 Patienten während des Beobachtungszeitraums. Überwiegend wurde Ciprofloxacin verabreicht (zwölf Patienten), sechs Patienten erhielten Levofloxacin, drei Patienten Moxifloxacin und ein Patient Ciprofloxacin+Levofloxacin. Tabelle 37 zeigt die Anzahl der Patienten in den vier Gruppen „EPO und Chinolone“ (E+Chinolone), „Placebo und Chinolone“ (P+Chinolone), nur „EPO“ (E) und nur „Placebo“ (P) sowie die Anzahl der Patienten, die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad erreichten.

Tabelle 37: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep-Grad n, (%)	E+Chinolone (n=11)	P+Chinolone (n=11)	E (n=30)	P (n=26)	Gesamt (n=78)
50 %	11 (100%)	11 (100%)	29 (97%)	24 (92%)	75 (96%)
75 %	10 (91%)	9 (82%)	23 (77%)	24 (92%)	66 (85%)
100 %	2 (18%)	3 (27%)	9 (30%)	8 (31%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „Chinolone“ und „keine Chinolone“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio bzw. der Therapieeffekt von EPO war in der Subgruppenschicht „Chinolone“ mit 1,189 positiv (95 %-KI= [0,514-2,750]) und um den Faktor 1,231 (95 %-KI= [0,454-3,335]; p=0,683) größer als in der Subgruppenschicht „keine Chinolone“ mit einem Hazard Ratio von 0,938 (95 %-KI= [0,546-1,611]).

75 % Reepithelialisierungsgrad: Für das Erreichen einer Reepithelialisierung über 75 % war das Hazard Ratio der Subgruppenschicht „Chinolone“ (HR=1,202; 95 %-KI= [0,487-2,971]) doppelt so groß (IE: HR=1,946; 95 %-KI [0,666-5,683]; p=0,223) wie der Subgruppenschicht „keine Chinolone“ (HR=0,606; 95 %-KI= [0,341-1,078]).

100 % Reepithelialisierungsgrad: Das berechnete Hazard Ratio war für das Erreichen der vollständigen Reepithelialisierung in der Subgruppenschicht „Chinolone“ 0,667 (95 %-KI= [0,111-3,990]) und um den Faktor 0,623 (95 %-KI= [0,082-4,728]; $p=0,647$) kleiner als in der Subgruppenschicht „keine Chinolone“ mit leicht positivem Therapieeffekt (HR=1,070; 95 %-KI [0,413-2,775]).

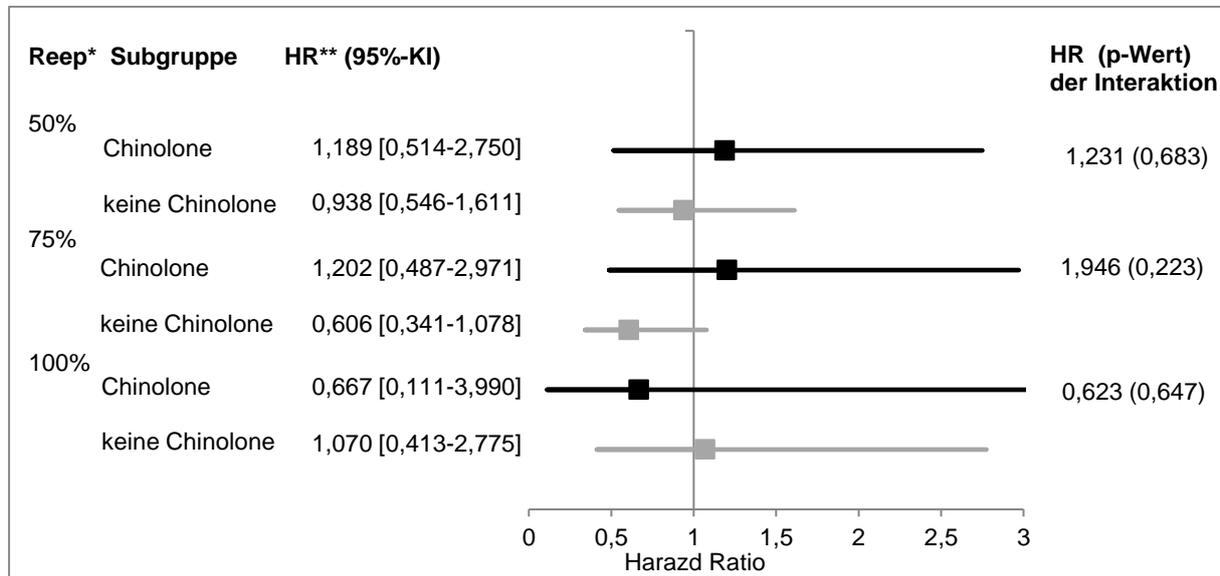


Abbildung 35: HRs der Subgruppenschichten „Chinolone“ vs. „keine Chinolone“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt.

Die Ereigniszeitkurven zeigen den Wundheilungsverlauf in den vier Gruppen (Abbildung 36). Für den 50 % Reepithelialisierungsgrad war kein klarer Trend zu erkennen. Die höchste Wahrscheinlichkeit eine Reepithelialisierung über 75 % zu erreichen zeigten Patienten, die nur das Placebo erhielten (P), gefolgt von Patienten, die EPO und Chinolone (E+Chinolone) erhielten. Am Ende der Beobachtungszeit hatten Patienten, die keine Chinolone erhielten (E und P) eine höhere Wahrscheinlichkeit als die Patienten, die Chinolone erhielten, den 100 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen.

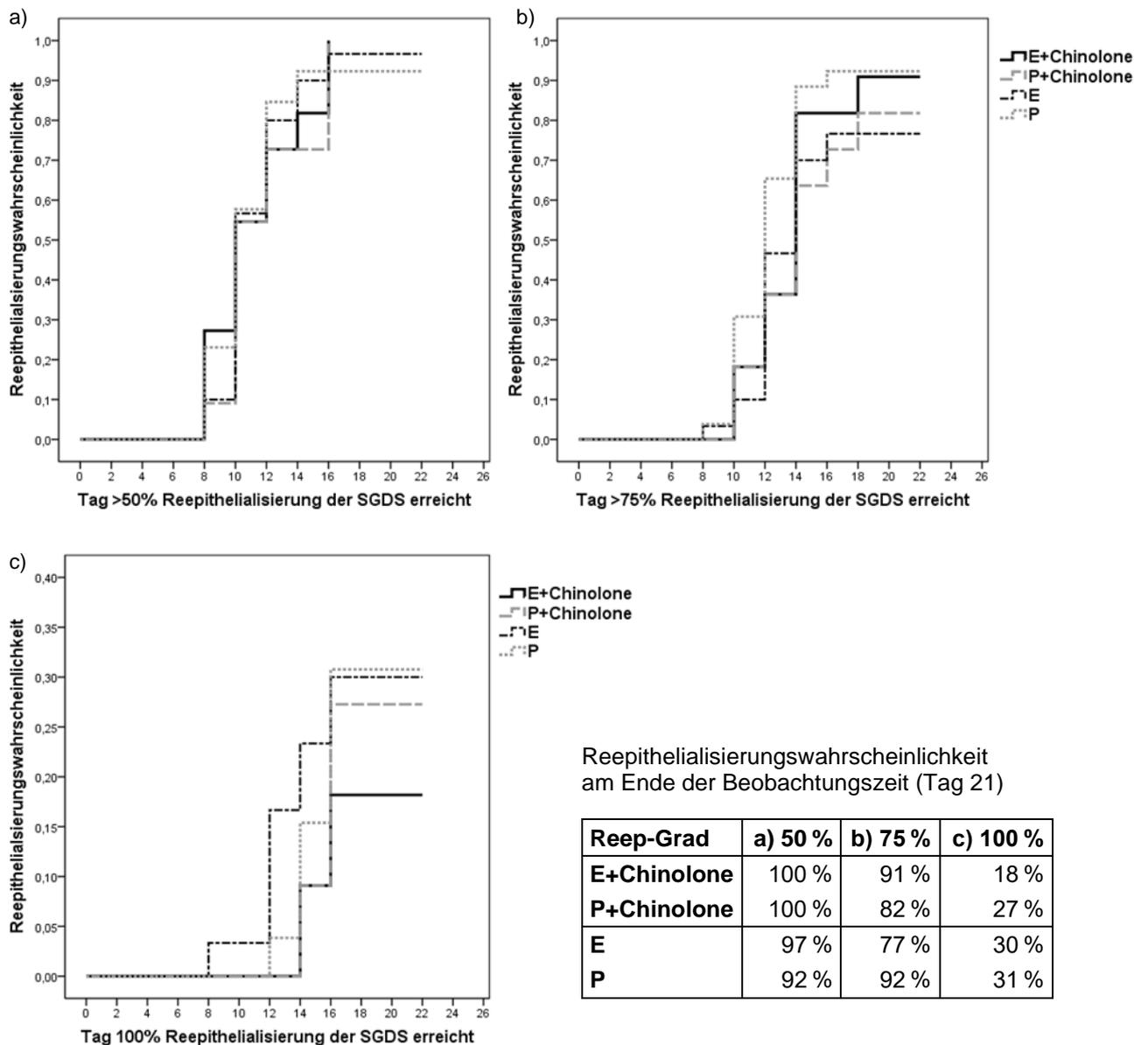


Abbildung 36: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Chinolone, P+Chinolone, E, P

Die medianen Reepithelialisierungszeiten der vier Gruppen sind für jeden Reepithelialisierungsgrad in Tabelle 38 aufgeführt.

Tabelle 38: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+Chinolone	P+Chinolone	E	P
50 %-Reep*	9,67	9,80	9,71	9,56
75 %-Reep	12,60	13,00	12,29	11,11
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep= Reepithelialisierung

Das univariat berechnete Hazard Ratio der Variable „Chinolone“ war für alle Reepithelialisierungsgrade der SGDS kleiner 1 (vgl. Tabelle 39).

Tabelle 39: Effekt (HR) von Chinolonen

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	0,920	[0,557-1,520]
75 %	0,880	[0,516-1,501]
100 %	0,683	[0,252-1,853]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.4.6 Sepsis

Bei 11 (13 %) der 84 in die Analysen eingeschlossenen Patienten wurde eine Sepsis während der Beobachtungszeit dokumentiert.¹⁸ Durchschnittlich dauerte das Krankheitsbild bei den elf Patienten 10,6 Tage (EPO: 10,8; Placebo: 10,3).¹⁹ Es lag dreimal eine pneumogene und einmal eine katheterassoziierte Sepsis vor; die restlichen sieben Vorfälle wurden nicht weiter spezifiziert. Patienten der E+Sepsis-Gruppe wiesen im Mittel 32,4 % KOF und Patienten der P+Sepsis-Gruppe 37,5 % KOF auf. Die zwei Subgruppenschichten unterschieden sich in der Ausgangssituation somit nicht.

Der Therapieeffekt von EPO wurde in den Subgruppenschichten „Sepsis“ und „keine Sepsis“ untersucht. Tabelle 40 liefert die Angaben zu der Anzahl der Patienten in den vier Gruppen „EPO und Sepsis“ (E+Sepsis), „Placebo und Sepsis“ (P+Sepsis), nur „EPO“ (E) und „Placebo“ (P). Kein Patient der „P+Sepsis-Gruppe“ erreichte 100 % Reepithelialisierung. Dies war für die Berechnung des Therapieeffekts von Bedeutung.

Tabelle 40: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+Sepsis (n=7)	P+Sepsis (n=4)	E (n=34)	P (n=33)	Gesamt (n=78)
50 %	7 (100%)	4 (100%)	33 (97%)	31 (94%)	75 (96%)
75 %	6 (86%)	4 (100%)	27 (79%)	29 (88%)	66 (85%)
100 %	1 (14%)	0 (0%)	10 (29%)	11 (33%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung, Tabelle verwendet (C.I. Gunter et al., in press)

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurde das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „Sepsis“ und „keine Sepsis“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio ergab 0,500 (95 %-KI= [0,133-1,882]). Der Therapieeffekt war in der Subgruppenschicht „Sepsis“ somit negativ und um den Faktor 0,425 (95 %-KI= [0,0112-1,618]; p=0,210) kleiner als in der Subgruppenschicht „keine Sepsis“ mit einem Hazard Ratio von 1,055 (95 %-KI= [0,646-1,724]).

¹⁸ Gelistet als Sepsis oder septischer Schock; einfache Zählung bei doppelter Aufführung bei demselben Patienten.

¹⁹ Minimum: 3 Tage, Maximum: 15 Tage

75 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt war in beiden Subgruppenschichten negativ und unterschied sich um den Faktor 0,764 (95 %-KI= [0,192-3,047]; p=0,703; Sepsis: HR=0,654; (95 %-KI= [0,163-2,616]; keine Sepsis: HR=0,758; (95 %-KI= [0,449-1,281])).

100 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt für 100 % Reepithelialisierung wurde in der Subgruppenschicht „Sepsis“ mit einem Hazard Ratio von 41,634 berechnet, da kein Patient der P+Sepsis-Gruppe diesen Grad erreichte. Der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „keine Sepsis“ lag bei 0,951(95 %-KI= [0,404-2,239]). Der Interaktionseffekt ergab den Faktor 32243,418 (95 %-KI= [0,000-2,040E+195]; p=0,963).

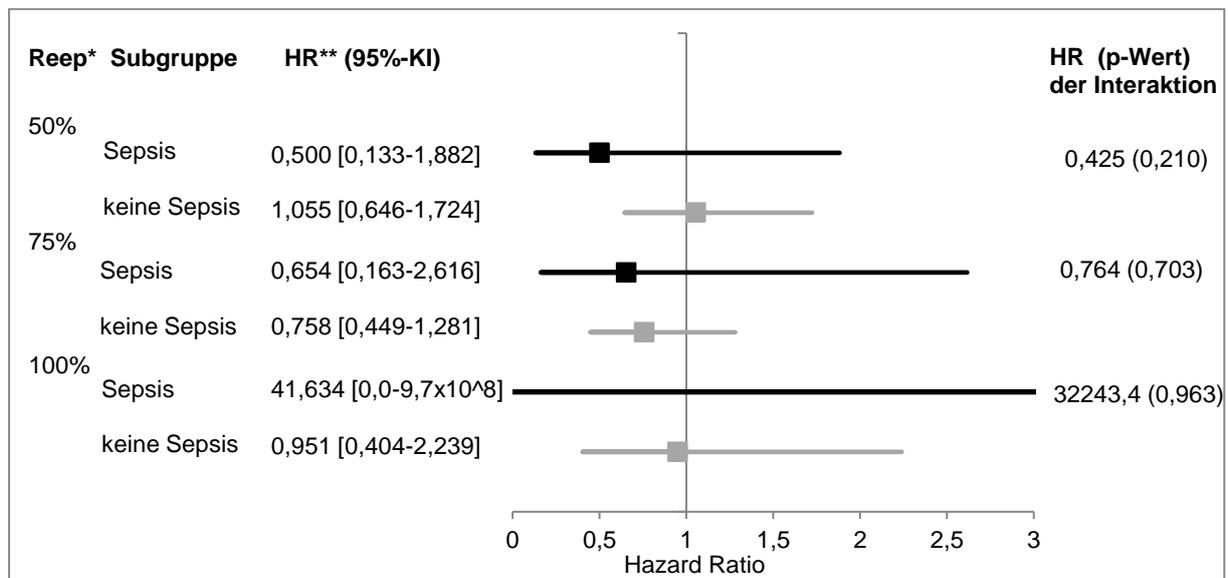


Abbildung 37: HRs der Subgruppenschichten „Sepsis“ vs. „keine Sepsis“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt.

Die Ereigniszeitkurven geben einen Überblick über den Wundheilungsverlauf in den vier Gruppen (vgl. Abbildung 38). Patienten, die das Placebo erhielten und eine Sepsis entwickelten (P+Sepsis), erreichten eine Reepithelialisierung der SGDS über 50 % und 75 % am schnellsten. Für die vollständige (100 %) Reepithelialisierung zeigten die Patienten ohne Sepsis (E und P) eine deutlich höhere Wahrscheinlichkeit diesen Grad zu erreichen.

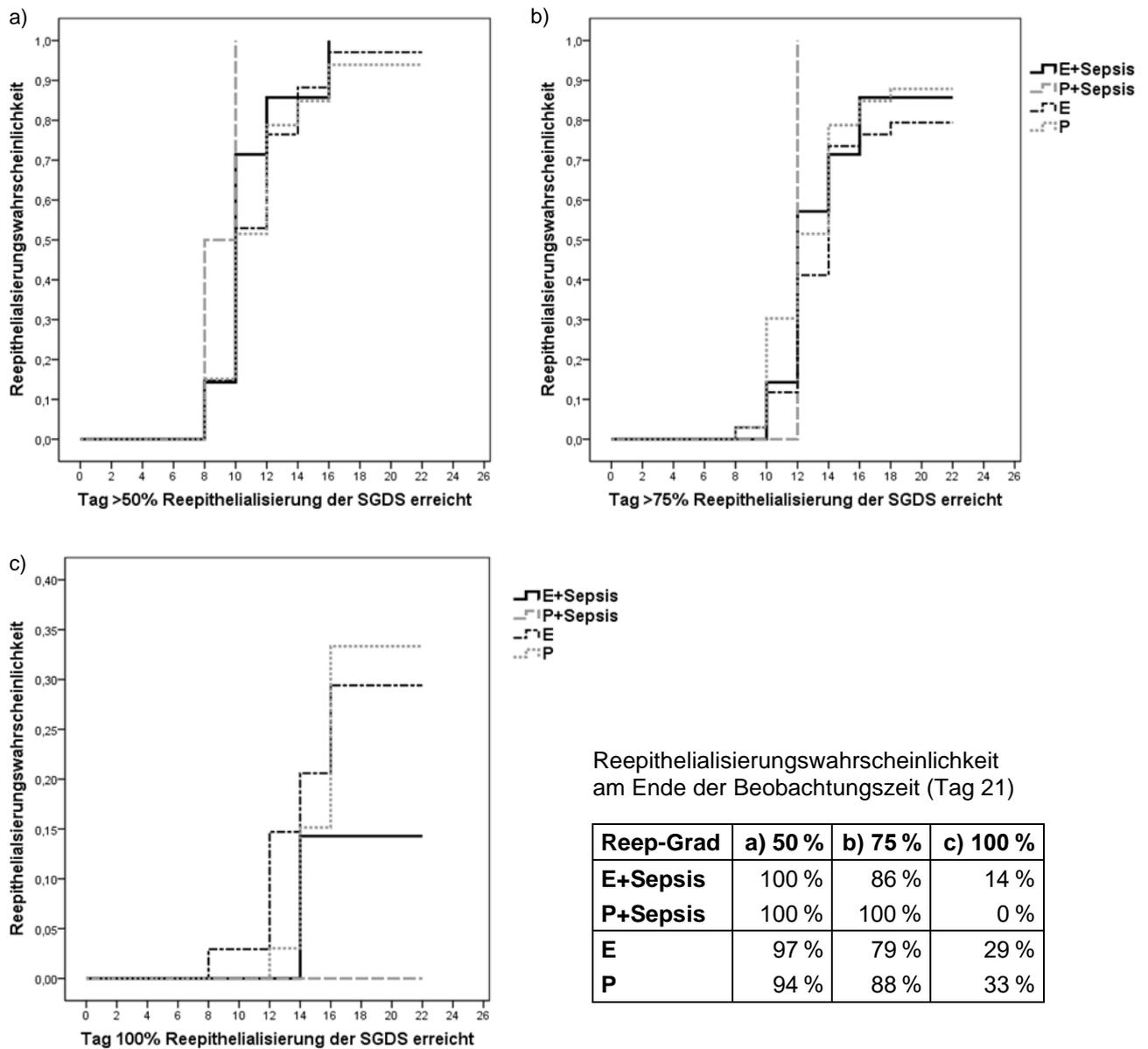


Abbildung 38: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Sepsis, P+Sepsis, E und P

Abbildung 38c) verwendet in (C.I. Gunter et al., in press)

Tabelle 41 zeigt die medianen Reepithelialisierungszeiten in den vier Gruppen für jeden der drei Reepithelialisierungsgrade.

Tabelle 41: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+Sepsis	P+Sepsis	E	P
50 %-Reep*	9,25	8,00	9,86	9,92
75 %-Reep	11,67	11,00	12,55	11,86
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep=Reepithelialisierung

Das univariat berechnete Hazard Ratio der Variable „Sepsis“ des 50 % Reepithelialisierungsgrads war 1,492 (95%-KI= [0,783-2,843]). Dies entsprach einer um 49 %

höheren Chance der Patienten mit Sepsis eine Reepithelialisierung über 50 % zu erreichen. Für eine Reepithelialisierung über 75 % ergab sich ein Hazard Ratio von 1,267 (95 %-KI= [0,643-2,496]). 21 Patienten der 22 Patienten, die die vollständige Reepithelialisierung erreichten, erlitten keine Sepsis. Dies bildet sich auch im Hazard Ratio von 0,269 ab (95 %-KI= [0,360-1,999]).

Tabelle 42: Effekt (HR) von Sepsis auf die Reepithelialisierung der SGDS

Reep*-Grad	HR**	95% KI
50%	1,492	[0,783-2,843]
75%	1,267	[0,643-2,496]
100%	0,269	[0,360-1,999]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.4.7 Arterielle Hypertonie

18 (21 %) der 84 Patienten gaben in der Anamnese vor Einschluss in die Studie eine arterielle Hypertonie an, die mit entsprechender Medikation gut eingestellt war. Tabelle 43 gibt einen Überblick über die Verteilung der Patienten in den entsprechenden Gruppen (E+art.HT, P+art.HT, E und P). Kein Patient, der EPO erhielt und eine arterielle Hypertonie aufwies (E+art.HT), erreichte 100% Reepithelialisierung. Dies war für die Berechnung des Therapieeffekts von Bedeutung.

Tabelle 43: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+art.HT (n=10)	P+art.HT (n=7)	E (n=31)	P (n=30)	Gesamt (n=78)
50 %	10 (100%)	6 (86%)	30 (97%)	29 (97%)	75 (96%)
75 %	7 (70%)	6 (86%)	26 (84%)	27 (90%)	66 (85%)
100 %	0 (0%)	1 (14%)	11 (35%)	10 (33%)	22 (28%)

* Reep= Reepithelialisierung

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „art.HT“ und „keine art.HT“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Die Berechnung ergab ein Hazard Ratio von 1,141 (95 %-KI= [0,413-3,153]) für Patienten, die eine arterielle Hypertonie aufwiesen. Für Patienten, die keine arterielle Hypertonie hatten, war das Hazard Ratio des Therapieeffekts von EPO 0,957 (95 %-KI= [0,574-1,594]). Der Interaktionseffekt ergab ein Hazard Ratio von 1,238 (95 %-KI= [0,389-3,852]; p=0,712).

75 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt war in beiden Subgruppenschichten negativ (art.HT: HR=0,804; 95 %-KI= [0,270-2,396]; keine art.HT: HR=0,753; 95 %-KI= [0,439-1,291]). Der Interaktionseffekt ergab ein Hazard Ratio von 0,992 (95 %-KI= [0,294-3,351]; p=0,990).

100 % Reepithelialisierungsgrad: Kein Patient, der EPO erhielt und eine arterielle Hypertonie aufwies, erreichte eine vollständige (100%) Reepithelialisierung der SGDS. Das Hazard Ratio des Therapieeffekts war daher 0,010 (95 %-KI= [0,0-1,6x10⁵]) in der Subgruppenschicht „art.HT“. Der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „keine art.HT“ war mit 1,196 (95 %-KI= [0,508-2,816]) positiv. Der Interaktionseffekt ergab ein Hazard Ratio von 0,000 (p=0,975).

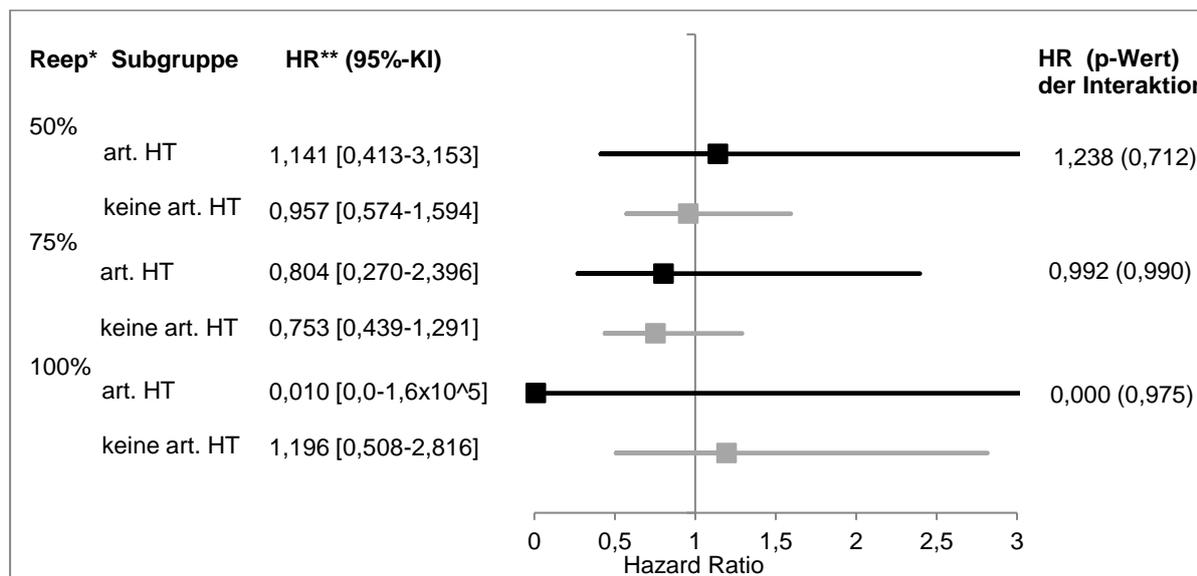


Abbildung 39: HRs der Subgruppenschichten „art. HT“ vs. „keine art. HT“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt.

Die Ereigniszeitkurven in den vier Gruppen sind in Abbildung 40 zu sehen. Eine Reepithelialisierung über 50 % erreichten 86 % der Patienten der P-Gruppe. Eine höhere Wahrscheinlichkeit den 75 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen zeigten Patienten, die das Placebo (P+art.HT und P) erhielten, als Patienten, die EPO erhielten (E+art.HT und E). Eine vollständige Reepithelialisierung der SGDS erreichten deutlich mehr Patienten ohne arterielle Hypertonie in der Anamnese (E und P).

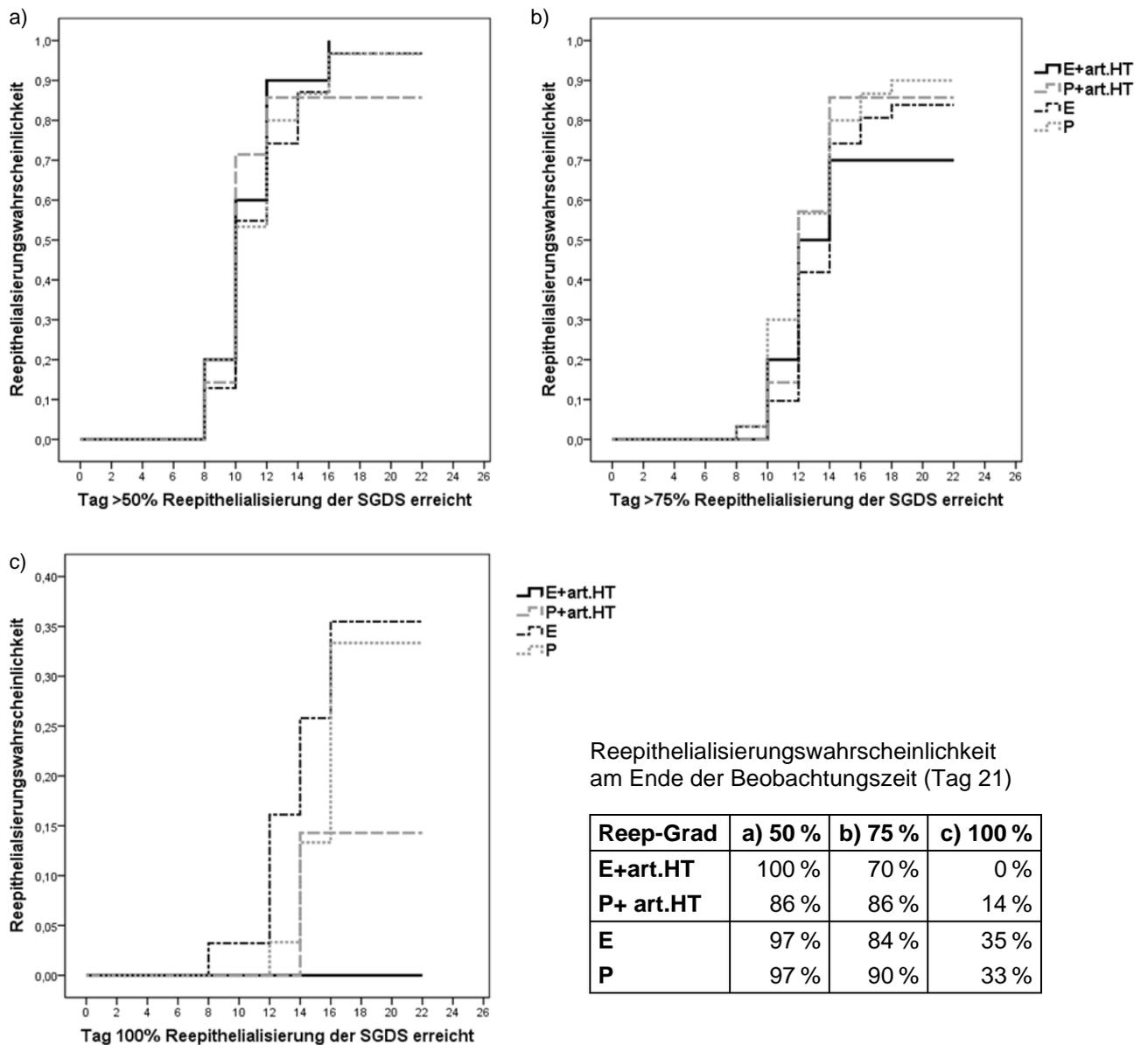


Abbildung 40: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+art.HT, P+art.HT, E und P

Tabelle 44 gibt einen Überblick über die medianen Reepithelialisierungszeiten in den vier Gruppen.

Tabelle 44: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+art.HT	P+art.HT	E	P
50 %-Reep*	9,50	9,25	9,77	9,80
75 %-Reep	12,00	11,67	12,50	11,50
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep=Reepithelialisierung

Die Berechnung des Effekts einer arteriellen Hypertonie auf die Reepithelialisierung der SGDS ergab, dass Patienten mit arterieller Hypertonie im Vergleich zu Patienten ohne arterielle Hypertonie eine um 10 % höhere Chance auf das Erreichen des 50 %

Reepithelialisierungsgrads hatten (HR=1,100; 95 %-KI= [0,632-1,914]). Für das Erreichen des 75 % bzw. 100 % Reepithelialisierungsgrads wurde eine Chancenreduktion um 12 % (HR=0,875; 95 %-KI= [0,477-1,606]) bzw. 85 % (HR=0,154; 95 %-KI= [0,021-1,146]) für diese Patientengruppe berechnet.

Tabelle 45: Effekt (HR) einer arteriellen Hypertonie

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	1,100	[0,632-1,914]
75 %	0,875	[0,477-1,606]
100 %	0,154	[0,021-1,146]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.5 Subgruppenanalysen der Studienwunden SDW und TDW

Der Wundheilungsverlauf der zwei weiteren Studienwunden wurde ausschließlich in der Subgruppe Insulin untersucht. Entsprechend der Subgruppenanalyse der SGDS wurde zuerst der Therapieeffekt und der Interaktionseffekt für die drei Reepithelialisierungsgrade der SDW und TDW mit Hilfe des Cox-Regressionsmodells berechnet. Die Darstellung des Wundheilungsverlaufs erfolgte mit Hilfe der Sterbetafeln.

3.5.1 SDW

Eine Wunddokumentation der Reepithelialisierung der SDW lag bei 62 (74 %) Patienten der 84 Studienteilnehmer vor. Die Angaben bei „Gesamt“ in den folgenden Tabellen beziehen sich auf diese 62 Patienten (=100 %). Einen Überblick über die Anzahl der Patienten, die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad erreichten, gibt Tabelle 46.

Tabelle 46: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+Insulin (n=10)	P+Insulin (n=14)	E (n=22)	P (n=16)	Gesamt (n=62)
50 %	10 (100%)	12 (86%)	18 (82%)	16 (100%)	56 (90%)
75 %	8 (80%)	10 (71%)	15 (68%)	15 (94%)	48 (77%)
100 %	1 (10%)	4 (29%)	8 (36%)	7 (44%)	20 (32%)

*Reep= Reepithelialisierung

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurde das Hazard Ratio in den Subgruppenschichten „Insulin“ und „kein Insulin“ sowie der Interaktionseffekt berechnet.

50 % Reepithelialisierungsgrad: Das Hazard Ratio bzw. der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „Insulin“ war mit 1,511 (95 %-KI= [0,649-3,520]) um den Faktor 2,251 (95 %-KI= [0,763-6,639]; p=0,142) größer als in der Subgruppenschicht „kein Insulin“ mit 0,695 (95 %-KI= [0,574-1,594]).

75 % Reepithelialisierungsgrad: Für das Erreichen einer Reepithelialisierung über 75 % war der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „Insulin“ positiv (HR=1,560; 95 %-KI= [0,613-3,965]) und dreimal so groß (HR=3,027; 95 %-KI= [0,932-9,831]; p=0,065) wie in der Subgruppenschicht „kein Insulin“ mit einem Hazard Ratio von 0,526 (95 %-KI= [0,257-1,079]).

100 % Reepithelialisierungsgrad: In beiden Subgruppenschichten war der Therapieeffekt negativ (HR<1) und für Patienten, die Insulin erhielten, um den Faktor 0,426 (95 %-KI= [0,038-4,767]; p=0,489) kleiner als für Patienten, die keine Insulin erhielten.

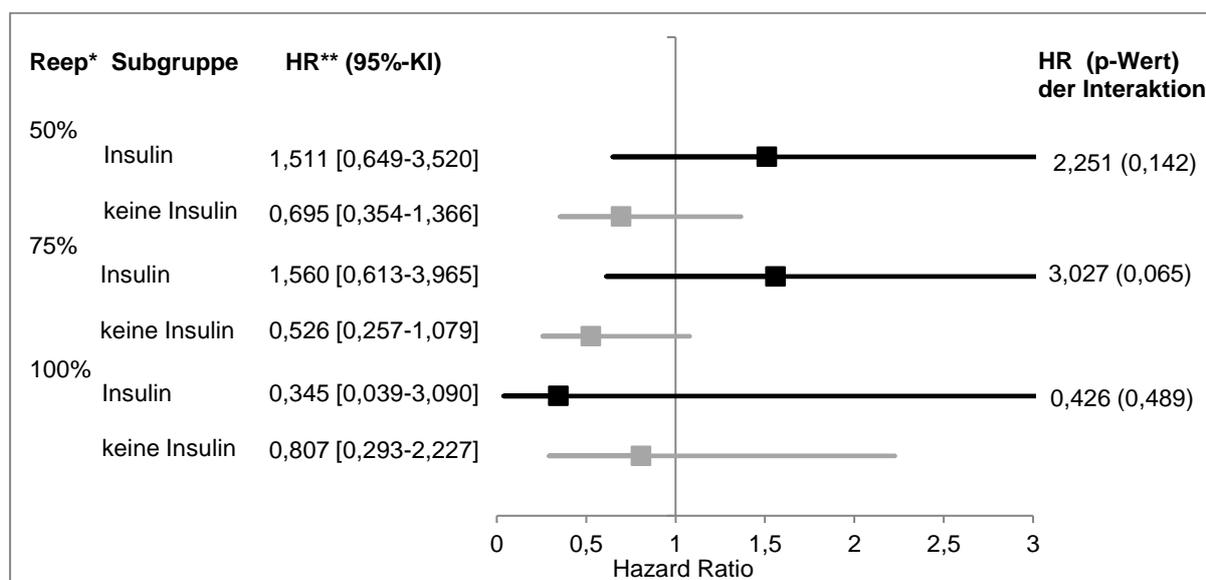


Abbildung 41: HRs der Subgruppenschichten „Insulin“ vs. „kein Insulin“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt.

Der Wundheilungsverlaufs in den vier Gruppen ist in Abbildung 42 dargestellt. Alle Patienten der E+Insulin-Gruppe und P-Gruppe erreichten eine Reepithelialisierung über 50 %. Den 75 % Reepithelialisierungsgrad erreichten ebenfalls die meisten Patienten dieser zwei Gruppen. Eine vollständige Reepithelialisierung der SDW erreichten vorwiegend Patienten, die kein Insulin erhielten (E und P).

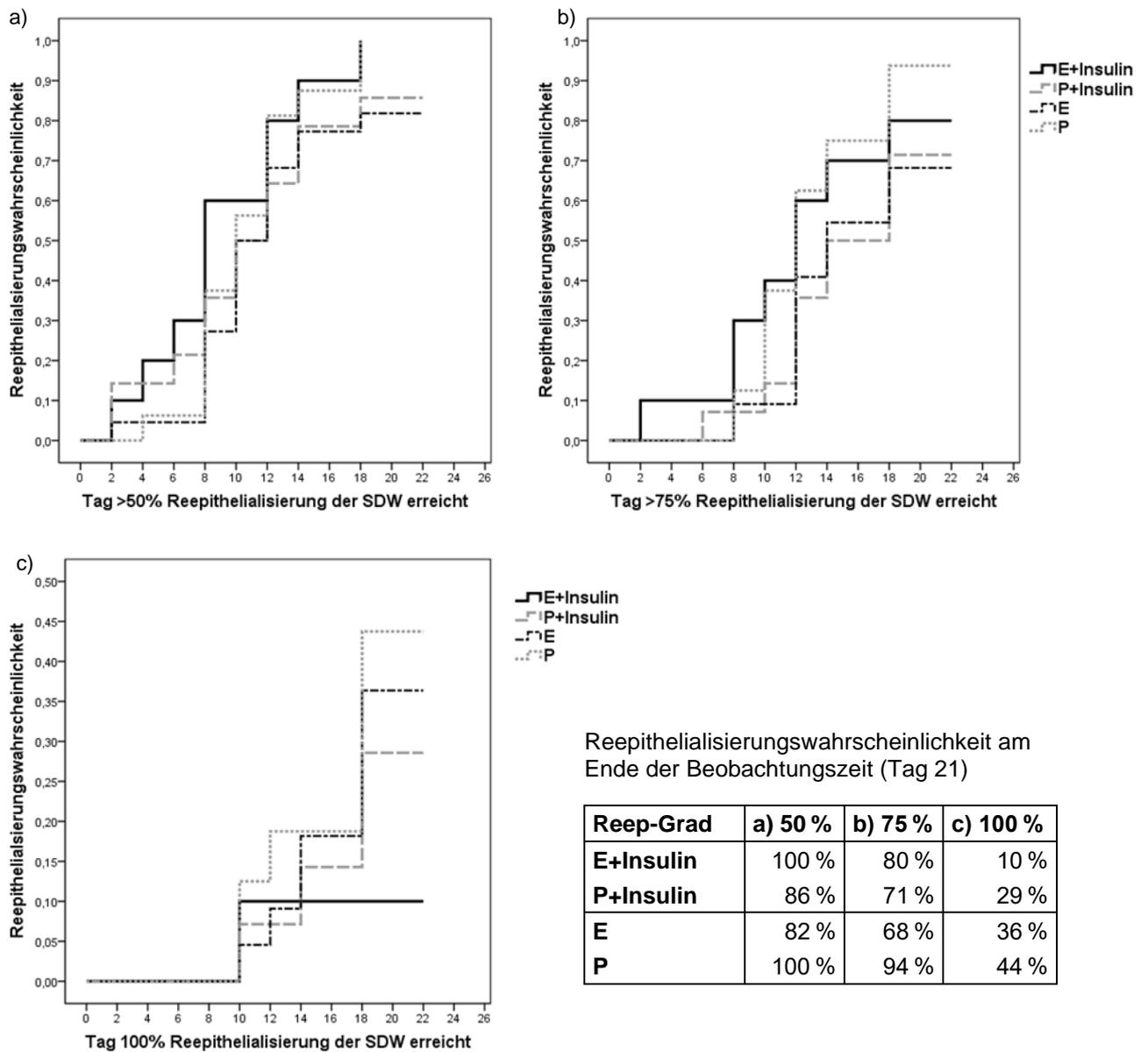


Abbildung 42: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Insulin, P+Insulin E und P

Die medianen Reepithelialisierungszeiten der vier Gruppen (vgl. Tabelle 47) zeigten, dass Patienten der E+Insulin-Gruppe am schnellsten eine Reepithelialisierung über 50 % und über 75 % erreichten.

Tabelle 47: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen

Median (Tage)	E+Insulin	P+Insulin	E	P
50 %-Reep*	7,33	10,00	10,00	9,33
75 %-Reep	11,00	16,00	13,33	11,00
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep= Reepithelialisierung

Betrachtet man ausschließlich den Effekt der Variable „Insulin“ auf die Wundheilung, so ergab das Cox-Regressionsmodell eine um 15 % (HR=1,151; 95 %-KI= [0,673-1,969]) höhere Chance für Patienten, die Insulin erhielten im Vergleich zu Patienten, die kein Insulin erhielten, eine Reepithelialisierung der SDW über 50 % zu erreichen. Für das Erreichen des 75 % Reepithelialisierungsgrads zeigte sich eine um fünf Prozentpunkte reduzierte Chance für Patienten, die Insulin erhielten (HR= 0,948; 95 %-KI= [0,528-1,701]). Für das Erreichen der vollständigen Reepithelialisierung war die Chance in dieser Patientengruppe um 50 % geringer (HR= 0,506; 95 %-KI= [0,184-1,391]).

Tabelle 48: Effekt (HR) von Insulin

Reep*-Grad	HR**	95%-KI
50%	1,151	[0,673-1,969]
75%	0,948	[0,528-1,701]
100%	0,506	[0,184-1,391]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

3.5.2 TDW

Von 76 (90 %) der 84 Patienten lag eine Dokumentation der TDW vor; 35 (46 %) der 76 Patienten erhielten Insulin. Der Therapieeffekt wurde getrennt in den Subgruppenschichten „Insulin“ und „kein Insulin“ untersucht. Anschließend wurde der Verlauf der Reepithelialisierung der TDW dargestellt. Tabelle 49 zeigt die Anzahl der Patienten in den vier Gruppen sowie die Anzahl der Patienten, die den entsprechenden Reepithelialisierungsgrad erreichten.

Tabelle 49: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad

Reep*-Grad n, (%)	E+Insulin (n=17)	P+Insulin (n=18)	E (n=23)	P (n=18)	Gesamt (n=76)
50 %	16 (94%)	17 (94%)	20 (87%)	17 (94%)	70 (92%)
75 %	12 (71%)	14 (78%)	17 (74%)	16 (89%)	59 (78%)
100 %	2 (12%)	8 (44%)	10 (43%)	9 (50%)	29 (38%)

**Reep= Reepithelialisierung

Der Therapieeffekt war für alle drei Reepithelialisierungsgrade negativ und nahm mit zunehmender Wundheilung ab. Auch waren die berechneten Hazard Ratios des Interaktionseffekts stets kleiner 1 (vgl. Abbildung 43).

50 % Reepithelialisierungsgrad: Der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „Insulin“ war mit einem Hazard Ratio von 0,546 (95 %-KI= [0,272-1,098]) um den Faktor 0,749 (95 %-KI= [0,036-1,320]; p=0,548) kleiner als in der Subgruppenschicht „kein Insulin“ mit einem Hazard Ratio von 0,779 (95 %-KI= [0,406-1,496]).

75 % Reepithelialisierungsgrad: Für das Erreichen einer Reepithelialisierung über 75 % war der Therapieeffekt in der Subgruppenschicht „Insulin“ negativ (HR=0,592; 95 %-KI= [0,272-1,288]) und um den Faktor 0,814 (95 %-KI= [0,290-2,282]; p=0,696) kleiner als in der Subgruppenschicht „kein Insulin“ mit einem Hazard Ratio von 0,707 (95 %-KI= [0,357-1,401]).

100 % Reepithelialisierungsgrad: In der Subgruppenschicht „Insulin“ war der Therapieeffekt negativ (HR=0,208; 95 %-KI= [0,044-0,982]) und um den Faktor 0,219 (95 %-KI= [0,292-1,921]; p=0,098) kleiner als für Patienten, die keine Insulin erhielten (HR=0,939; 95 %-KI= [0,381-2,311]).

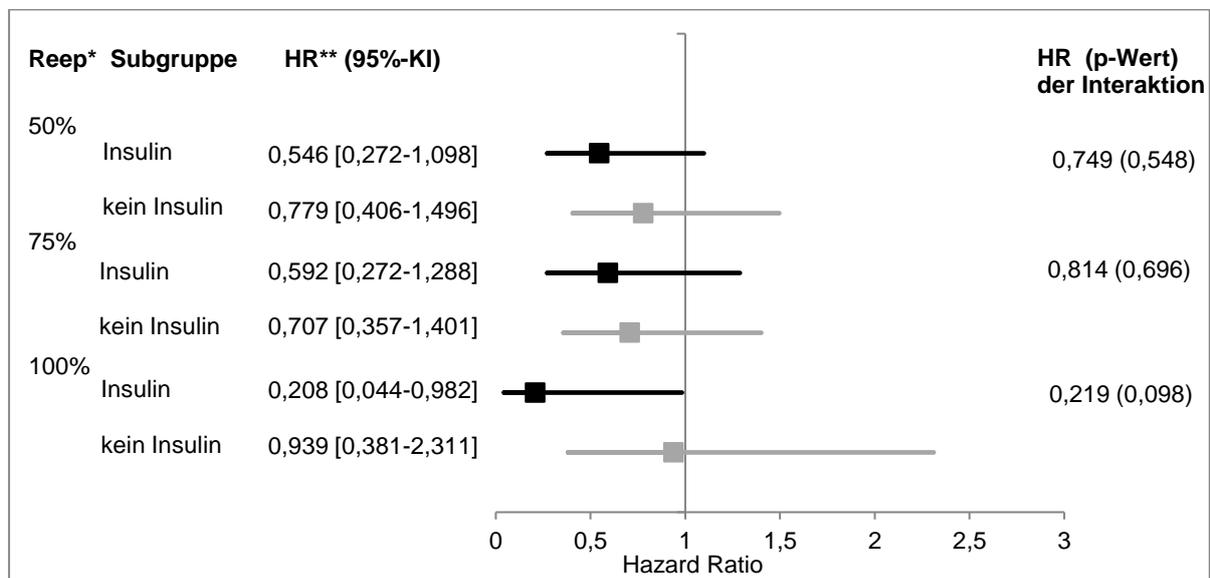


Abbildung 43: HRS der Subgruppenschichten „Insulin“ vs. „kein Insulin“

*Reep=Reepithelialisierungsgrad; **HR=Hazard Ratio; die Balken repräsentieren den Therapieeffekt von EPO mit seinem 95 %-Konfidenzintervall in den Subgruppenschichten; ein HR <1 steht für einen negativen Therapieeffekt der Patienten, die EPO erhielten; der Interaktionseffekt ist rechts durch das HR inkl. p-Wert aufgeführt.

Der Wundheilungsverlauf ist in Abbildung 44 dargestellt. Patienten, die das Placebo erhielten, erreichten mit höherer Wahrscheinlichkeit alle drei Reepithelialisierungsgrade. Insulin schien keinen positiven Einfluss auf die Reepithelialisierung der TDW zu haben.

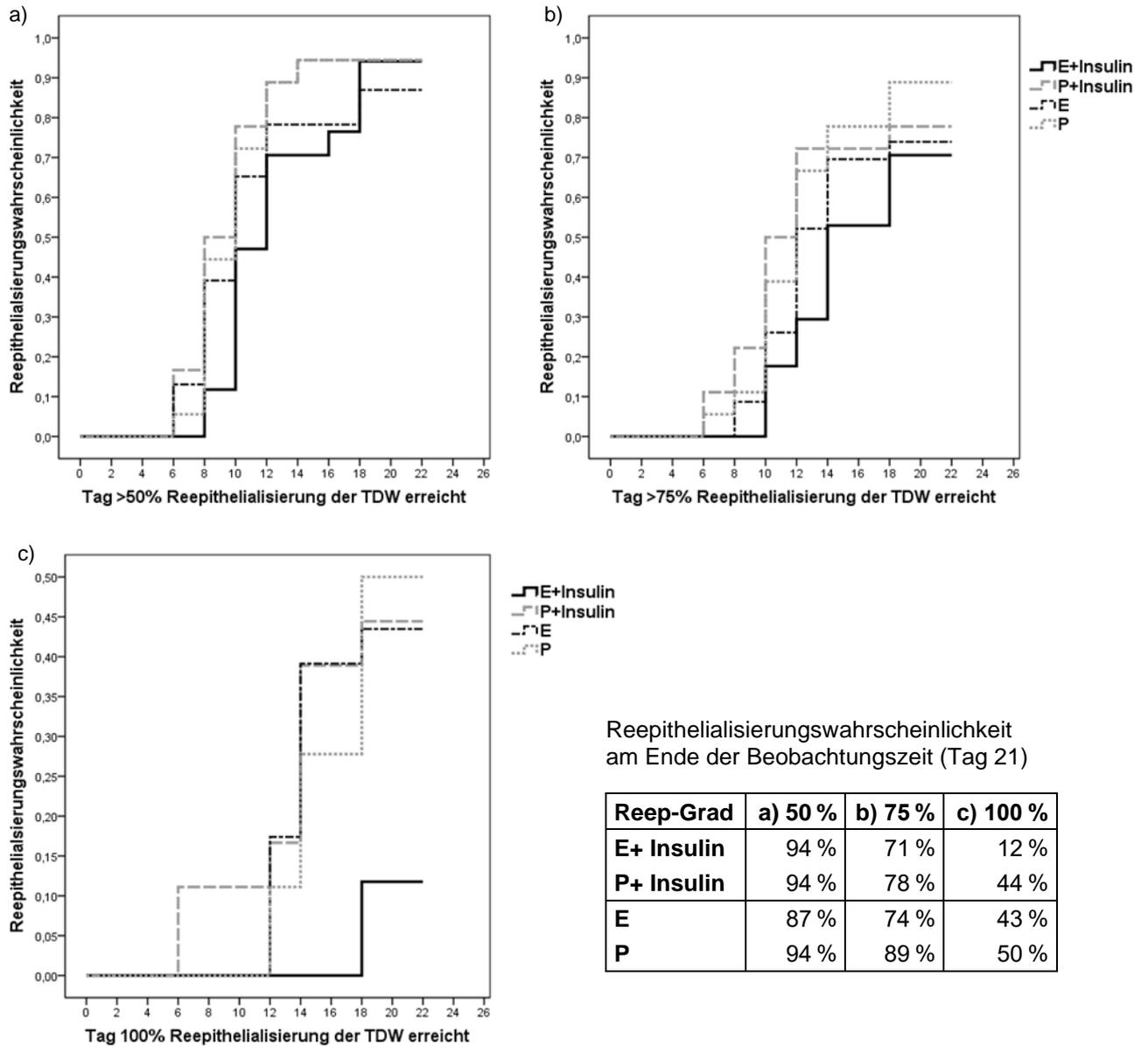


Abbildung 44: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Insulin, P+Insulin, E und P

Die medianen Reepithelialisierungszeiten der vier Gruppen sind für jeden Reepithelialisierungsgrad in Tabelle 50 dargestellt.

Tabelle 50: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen

Median (Tage):	E+Insulin	P+Insulin	E	P
50 %-Reep*	10,25	8,00	8,83	8,40
75 %-Reep	13,75	10,00	11,83	10,80
100 %-Reep	21,00	21,00	21,00	21,00

*Reep=Reepithelialisierung

Das Cox-Regressionsmodell der Variable „Insulin“ (univariat) ergab für jeden Reepithelialisierungsgrad ein Hazard Ratio kleiner 1. Dies entsprach einem negativen Effekt von Insulin bei der Reepithelialisierung der TDW im Gegensatz zu seiner positiven Wirkung bei den Berechnungen der SGDS und SDW.

Tabelle 51: Effekt (HR) von Insulin

Reep*-Grad	HR**	95 %-KI
50 %	0,959	[0,599-1,533]
75 %	0,881	[0,526-1,474]
100 %	0,575	[0,267-1,238]

*Reep= Reepithelialisierung; **HR= Hazard Ratio

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurden die regenerativen Effekte von niedrig dosiertem rekombinantem Erythropoetin auf die Wundheilung im schwerbrandverletzten Patienten untersucht. Die beschriebenen Ergebnisse basieren auf den erhobenen Daten der randomisierten, Placebo-kontrollierten Phase II Studie „EPO in Burns“. Sie ist gegenwärtig die erste klinische Studie mit der Fragestellung einer möglichen Verbesserung der Wundheilung von Verbrennungswunden durch die Therapie mit EPO. Über einen Zeitraum von fünf Jahren wurden 116 Patienten an 13 Verbrennungszentren in Deutschland rekrutiert. Die ITT-Population umfasste 84 Patienten. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Wundheilungsverlauf in Reepithelialisierungsgrade unterteilt und mittels Sterbetafeln und des Cox-Regressionsmodells analysiert. Neben der Berechnung des Therapieeffekts von EPO auf die Wundheilung der drei Studienwunden (SGDS, SDW, TDW) wurden Ereigniszeitkurven erstellt, die die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeiten in den Behandlungsarmen über die Beobachtungszeit abbilden. Anschließend wurden *post hoc* definierte Subgruppenanalysen durchgeführt. Diese untersuchten mögliche Einflüsse von prognostischen Faktoren wie Begleitmedikamente, Vorerkrankungen oder Nebendiagnosen auf den Wundheilungsverlauf im schwerbrandverletzten Patienten. Ausgabe war auch hier ein Hazard Ratio, welches den Therapieeffekt von EPO und den Subgruppen darstellt bzw. als Chance einer schnelleren Abheilung der Studienwunden interpretiert werden kann.

4.1 Ereigniszeitanalysen in den Studiengruppen

4.1.1 Ergebnisse der untersuchten Wundareale

Die Ergebnisse der Reepithelialisierung der SGDS lassen weder die Annahme eines negativen noch eines positiven Effekts von EPO auf die Wundheilung im schwerbrandverletzten Patienten zu. Für den 50 % Reepithelialisierungsgrad und die vollständige Reepithelialisierung (100 %) der SGDS lagen die berechneten HRs bei 1 (50 %: 1,004; 100 %: 0,966); die Konfidenzintervalle umschlossen die Eins. Die

Reepithelialisierungszeiten und -wahrscheinlichkeiten waren am Ende des Beobachtungszeitraums (Tag 21) nahezu identisch.

Interessant ist, dass die Ereigniszeitkurven, die den Wundheilungsverlauf der SGDS darstellen, in den ersten Tagen eine tendenzielle höhere Wahrscheinlichkeit der EPO-Gruppe beim Erreichen des 100 % Reepithelialisierungsgrads abbildeten. Diese Beobachtung ist in Einklang mit Ergebnissen der Auswertung der „EPO in Burns“-Studie, die nicht Teil dieser Arbeit waren, sondern im Rahmen der Studienauewertung erhoben wurden. Die Auswertung der Blutparameter der Patienten zeigte in den ersten zehn Tagen nach Therapiebeginn einen deutlichen Anstieg der Serum-EPO-Level in der EPO-Gruppe (vgl. Abbildung 45) (C. I. Gunter et al., 2018). Für den gewebeprotectiven Effekt von EPO scheinen hohe Konzentrationen am Wirkungsort notwendig zu sein (1-20 nmol/l), da der EPO-hetero-Rezeptor eine niedrigere Affinität als der (EPOR)₂ besitzt (M. Brines & Cerami, 2008). Weiter wird postuliert, dass EPO nur mit hoher Serumkonzentration die inhibitorische Wirkung pro-inflammatorischer Zytokine überwinden und seine protectiven Effekte entfalten kann (I. Jelkmann & Jelkmann, 2013). In Zusammenschau dieser Ergebnisse könnte eine effektive Wirkung von EPO auf die Wundheilung innerhalb der Anwendungsdauer von zehn Tagen vermutet werden. Dies würde auch der mittleren Zeitspanne für das Erreichen des 50 % Reepithelialisierungsgrads entsprechen. Die mediane Reepithelialisierungszeit für das Erreichen des 50 % Grads war in der EPO-Gruppe 9,71 Tage, in der Placebo-Gruppe 9,64 Tage. Tierexperimentelle Untersuchungen unterstützen diese These. *Rezaeian et al.* (Rezaeian et al., 2008) diskutieren basierend auf ihren Ergebnissen und denen weiterer Arbeitsgruppen (Buemi et al., 2004; Galeano et al., 2006), dass eine Gabe, welche über drei Tage erfolgt, aber eine Applikationsdauer von zehn Tagen nicht überschreitet, zu einer schnelleren Reepithelialisierung der experimentellen Studienwunden beitragen könne. In diesem Zeitraum entfaltet EPO vermutlich seine anti-apoptotischen, anti-inflammatorischen und pro-angiogenetischen Effekte (Rezaeian et al., 2008). *Arslantas et al.* beschreiben in einem Lappenmodell in Ratten, welchen über zehn Tage postoperativ EPO verabreicht wurde (400 IU/kg KG EPO i.p.), ein Zeitfenster von fünf Tagen als optimal (Arslantas et al., 2015).

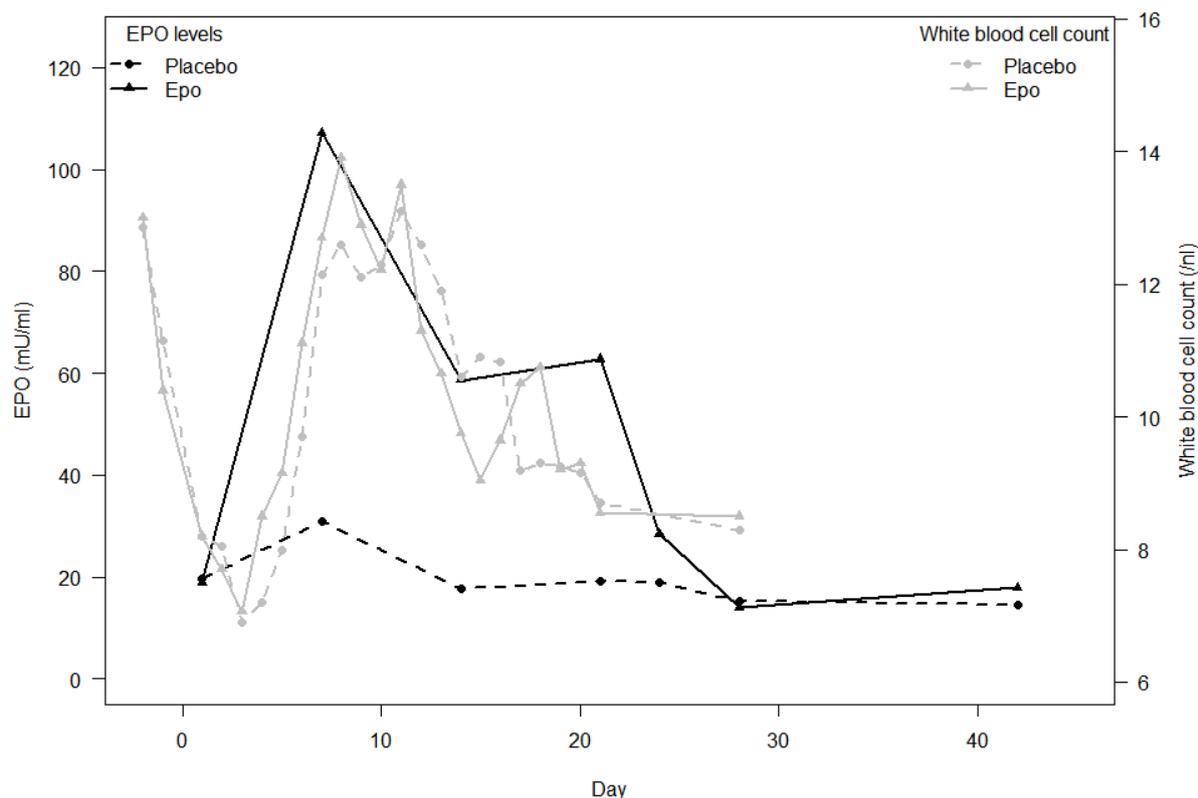


Abbildung 45: Serum-EPO-Level

Abbildung entnommen aus (C. I. Gunter et al., 2018)

Dennoch ist eine endgültige Aussage über einen Unterschied der Wundheilung in den zwei Behandlungsarmen nicht möglich. Die Ereigniszeitkurven des 50 % Reepithelialisierungsgrads verliefen für die Patienten beider Behandlungsarme über die Beobachtungszeit annähernd parallel. Eine höhere Wahrscheinlichkeit den 75 % Reepithelialisierungsgrad der SGDS zu erreichen zeichnete sich während der ganzen Beobachtungszeit für die Placebo-Gruppe ab. Die EPO-Gruppe erreichte diesen Grad im Mittel auch einen Tag später.

Des Weiteren zeigten die Auswertungen der Verbrennungswunden von Grad 2b (SDW) und Grad 3 mit Spalthauttransplantat (TDW) eine höhere Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit der Placebo-Gruppe für alle drei Grade. Die berechneten Therapieeffekte von EPO waren für jeden Reepithelialisierungsgrad negativ ($HR < 1$). Die frühe Wundheilung der SDW verlief noch nahezu chancengleich ($HR = 0,921$; mediane Reepithelialisierungszeit EPO/Placebo: 9,60 Tage). Im Verlauf der Beobachtungszeit nahm der negative Effekt von EPO jedoch tendenziell zu. Dies deutet auf eine Abhängigkeit der EPO-Wirkung von Faktoren, wie der untersuchten Studienwunden und des Zeitraums während des Wundheilungsverlaufs, hin.

Ähnliche Trends der Wirkung von EPO sind bereits in experimentellen Tierstudien beschrieben worden. Die Anwendung von EPO führte hier sowohl zu positiven und als auch negativen Endergebnissen. In den Publikationen wird dieser Trend im Zusammenhang mit

der gewählten Dosierung (Sorg et al., 2009), der Dauer der Anwendung (Saray et al., 2003) und dem Zeitpunkt der Gabe (Rezaeian et al., 2008) diskutiert.

Rezaeian und Kollegen untersuchten zeitlich verschiedene Applikationsregime an einem Lappenmodell in Mäusen. Drei Gaben EPO (500 IU/kg KG i.p.) wurden vor Lappenhebung (Präkonditionierung: 48h, 24h, 30min), nach Lappenhebung (Postkonditionierung: 30min, 24h, 48h) oder überschneidend (30min präoperativ, 30min und 24h postoperativ) verabreicht. Die präkonditionierte und überschneidende Behandlung führte zu einem verbesserten Lappenüberleben und einer signifikant reduzierten Nekrosezone. EPO bewirkte eine Hochregulierung der iNOS und folglich eine NO gesteuerte Dilatation der Arteriolen und Aufrechterhaltung der Lappenperfusion im kritisch durchbluteten Gewebe bei diesen zwei Behandlungsgruppen. Die Postkonditionierung mit EPO zeigte trotz vermehrter VEGF-Expression und daraus resultierender Neovaskularisierung kein verbessertes Lappenüberleben (Rezaeian et al., 2008). Die Bedeutung des richtigen Zeitpunkts der Applikation von EPO wurde auch an Verbrennungswunden in Ratten deutlich. Verbrennungen sind dynamische Verletzungen, die in den ersten 48 bis 72 Stunden fortschreiten. Im Tiermodell verhinderte die Gabe von EPO in den ersten 45 Minuten nach Trauma die Progression der Verbrennung durch eine verbesserte iNOS vermittelte Perfusion und Aufrechterhaltung der Mikrozirkulation in der Stasezone. Schon eine um sechs Stunden verzögerte Applikation von EPO erreichte diese Wirkung nicht mehr (Tobalem et al., 2012).

Patienten der „EPO in Burns“-Studie erhielten ihre erste EPO-Gabe zwar mindestens 24 Stunden vor Spalthautentnahme und damit Setzung der SGDS, jedoch frühestens 60 Stunden nach Verbrennungstrauma. Insbesondere die Mikrozirkulation verbessernde und das Nachbrennen verhindernde Wirkung von EPO konnte ab diesem Zeitpunkt nicht mehr zur Verbesserung der Wundheilung in der SDW und TDW beitragen. Dies könnte einen möglichen Erklärungsansatz für die Unterschiede der EPO-Ergebnisse im Vergleich zur Placebo-Gruppe an diesen Studienwunden darstellen.

Die Arbeitsgruppe um Saray stellte eine Abhängigkeit der EPO-Wirkung von der Anwendungsdauer fest. In der experimentellen Studie wurde der Effekt von EPO auf die Verbesserung des Überlebens von Lappen (McFarlane Typ) im Rattenmodell untersucht. In den gebildeten Untersuchungsgruppen à drei Dosierungsregimen mit 50, 100 oder 500 IU/kg KG wurde EPO entweder über drei Wochen vor Lappenhebung (Langzeit) oder für eine Woche nach Lappenhebung (Kurzzeit) gegeben. Kurzzeitig verabreichtes EPO mit 50 und 100 IU/kg KG zeigte ein besseres Lappenüberleben im Vergleich zu den Tieren, die EPO über drei Wochen erhielten. Bei Letzteren konnte ein statistisch signifikanter Anstieg des Hämatokrits und des systolischen Blutdrucks nachgewiesen werden. Dies korrelierte mit einem schlechteren Lappenüberleben. Die Autoren führten das schlechtere Abschneiden der Langzeit-EPO-Gruppen folglich auf eine erhöhte Blutviskosität, verminderten Blutfluss und

Vasokonstriktion durch EPO im kritisch perfundierten Lappen zurück (Saray et al., 2003). Die Veränderung der Blutrheologie durch EPO wird noch in weiteren Tierstudien als mögliche Erklärung für ein schlechteres Endergebnis diskutiert. *Sorg und Mitarbeiter* untersuchten drei Dosierungen in tiefen dermalen Hautwunden an Mäusen. Eine tägliche Gabe von niedrig dosiertem EPO (400 IU/kg KG i.p.) über zwölf Tage wurde mit hochdosiertem EPO (5000 IU/kg KG i.p.) verglichen. Eine dritte Gruppe erhielt einmalig hochdosiertes EPO (5000 IU/kg KG i.p.) am Tag der Wundsetzung. Die einmalige EPO-Gabe verbesserte die Reepithelialisierung, reduzierte die Wundzellulärität und induzierte eine zeitgerechte Gefäßreifung. Die wiederholte Gabe von hochdosiertem EPO hingegen verschlechterte den Heilungsprozess. Es kam zur verzögerten Reepithelialisierung und Gefäßneubildung. Die hochdosierte Langzeitgabe von EPO führte außerdem zu einem signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahl und verminderter Fibroblasten- und Keratinozytenmigration, was wiederum zu einem verspäteten Wundverschluss führte (Sorg et al., 2009). Auch bei *Harder et al.* kam es nach fünfmaliger Gabe von hochdosiertem EPO (5000 IU/kg KG) zur Verschlechterung der Fließeigenschaften in einem Lappenmodell an Mäusen durch ansteigende Hkt-Werte (ab Tag 4) (Harder et al., 2009).

Aus diesen experimentellen Studien geht hervor, dass EPO die Wundheilung positiv beeinflusste bevor es die Blutrheologie (Hyperviskosität, Hkt-Anstieg, RBC Flussgeschwindigkeit) durch seine hämatopoetische Wirkung in den Tieren veränderte und die Heilung im Gewebe damit verzögerte. Die Übertragung dieser Einschränkungen auf die Reepithelialisierung der Studienwunden in der „EPO in Burns“-Studie kann jedoch nicht ohne weiteres vollzogen werden. In schwerbrandverletzten Patienten ist die Hämatopoese unterdrückt (Deitch & Sittig, 1993) und exogenes EPO führt nicht zur Steigerung der Hkt- und Hb-Werte, insbesondere nicht in der ersten Woche nach Therapiebeginn (Fleming et al., 1992; Still et al., 1995). Dies bestätigten auch die Studienauswertungen der regelmäßigen Blutbildkontrollen der „EPO in Burns“-Studie, die keinen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in Bezug auf die Laborwerte nachweisen konnten (C. I. Gunter et al., 2018). Somit kann eine veränderte Blutrheologie für die nicht signifikant nachzuweisende Wirkung von EPO auf die Wundheilung in der „EPO in Burns“-Studie als alleinige Erklärung nicht ausreichen.

Für die Anwendung von EPO in Wunden mit anderen Ursachen als Verbrennungen (z.B. Diabetes mellitus II) ist die Veränderung der Blutrheologie jedoch eine wichtige Beobachtung und bedarf eines Monitorings und einer Anpassung der EPO-Therapie. In der Literatur bereits diskutierte Lösungsansätze sind der Einsatz von EPO-Derivaten mit rezeptorspezifischen Bindungseigenschaften an den EPO-Heterorezeptor und folglich verringerter hämatopoetischer Wirkung. Als Beispiele sind carbamylisiertes EPO (CEPO) oder

ARA 290 zu nennen, ein Protein, das die dreidimensionale Struktur von EPO aufweist (Leist et al., 2004; Sorg et al., 2013).

EPO wirkt über eine Vielzahl von Mechanismen auf die Wundheilung und moduliert diese. Bei den beschriebenen Arbeiten wurde erkannt, dass die Wirkung von EPO vom gewählten Therapieschema abhängig ist. In publizierten Übersichtsarbeiten formulieren die Autoren bereits die Forderung nach der Identifikation eines Therapieschemas, das die richtige Dosierung, den richtigen Zeitpunkt und die richtige Anwendungsdauer für die protektive und regenerative Wirkung von EPO beinhaltet (Corwin & Napolitano, 2014; C. I. Gunter, Rezaeian, et al., 2013; Sorg et al., 2013).

Die Wahl des Applikations- und Dosierungsschemas in der „EPO in Burns“-Studie orientierte sich zum einen an den gewählten Schemata humaner Studien zur zytoprotektiven Wirkung von EPO (Ehrenreich et al., 2002; Keast & Fraser, 2004), sowie an den Angaben zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik aus humanen Studien bei dialysepflichtigen (Cheng et al., 1991; Lui et al., 1991) und schwerkranken Patienten (Corwin et al., 2007), zum anderen an den Hinweisen des Herstellers (Roche Pharma AG, 2015). Das Behandlungsschema wurde auf 150 IU/kg KG s.c. jeden zweiten Tag der drei Wochen festgelegt, um konstante Serum-EPO-Level zu gewährleisten und Nebenwirkungen zu vermeiden (Machens, 2011).

Eine Anpassung des gewählten Schemas, insbesondere des Therapiezeitraums, könnte daher für Folgestudien überlegt werden. Wichtig hierbei ist die Art der untersuchten Wunde. Akute Wunden unterscheiden sich in ihrer Behandlung zu chronischen Wunden. In einer klinischen Studie benötigte die Wundheilung diabetischer, polyneuropathischer Fußulcera eine Therapiedauer über zwölf Wochen mit EPO (30 IU/kg KG s.c.), um eine verbesserte Abheilung bzw. eine Reduktion der chronischen Wunden nach weiteren elf Wochen zu erzielen. Die Autoren gingen von Langzeitwirkungen unter EPO aus, die über die Gabe von zwölf Wochen hinaus zum Abheilen der chronischen Wunden führten. Als einschränkend sei für diese Studie zu nennen, dass nur 23 Patienten eingeschlossen wurden, da sie frühzeitig aus administrativen Gründen beendet wurde (Chatzikyrykou et al., 2016). Doch aufgrund der Ergebnisse dieser Studie ist anzunehmen, dass EPO mögliche Langzeiteffekte besitzt. Aus den Daten der „EPO in Burns“-Studie kann diesbezüglich keine Aussage getroffen werden, da der Zeitraum über die drei Wochen Beobachtungszeit hinaus bis zum vollständigen Abheilen der SGDS nicht analysiert wurde.

Eine wichtige Erkenntnis ergab sich aber aus den Untersuchungsergebnissen der Abheilungszeit der SGDS. Nur 22 (EPO: 11, Placebo: 11) der 84 eingeschlossenen Patienten erreichten eine vollständige Reepithelialisierung der Studienwunde innerhalb der Beobachtungszeit. Interessanterweise werden in der Literatur 14 Tage als Zeitfenster für die Abheilung einer Spalthautentnahmestelle beschrieben (Cohen, 2000; Dornseifer, Fichter, et

al., 2009; Giessler et al., 2009). Dieses Postulat konnte durch die Daten der „EPO in Burns“-Studie nicht bestätigt werden. Die Beobachtung könnte eine wichtige und hilfreiche Information für die Behandlungsplanung und Behandlungsdauer schwerbrandverletzter Patienten sein.

Es bleibt eine große Diskrepanz zwischen den vielversprechenden Ergebnissen der experimentellen Studien (vgl. Kapitel 1.3.5) und der klinischen Anwendung von EPO in der Wundheilung bestehen. Für die Identifizierung eines optimalen Therapieschemas sind neben den diskutierten Punkten des richtigen Zeitpunkts und Dauer der Applikation noch folgende weiterführende Fragen zu nennen. Welche Verabreichungsform soll in Zukunft gewählt werden? In den Tierstudien variierte die Art der Gabe zwischen subkutan (Buemi et al., 2004; Galeano et al., 2006), intravenös (Erbayraktar et al., 2009), intraperitoneal (Harder et al., 2009; Rezaeian et al., 2008) und lokal (Bader et al., 2012; Hamed et al., 2010). Die bereits dargestellte erfolgreiche Fallstudie, die sowohl akute als auch chronische Wunden untersuchte, applizierte EPO topisch (Bader et al., 2011). Eine topische Gabe bietet den Vorteil, dass die aktiven EPO-Moleküle direkt am Wirkort applizieren werden und ein Verlust bzw. ein Verbrauch der EPO-Moleküle durch EPO-sensible Organsysteme, wie z.B. die Niere, vermieden werden kann.

Weiterhin bleibt offen, welche Dosierungen die Zielzellen (epidermale Stammzellen, Endothelzellen, Wundmakrophagen, Keratinozyten, Fibroblasten) in der Haut benötigen. Die gewählten Dosierungen der experimentellen Studien lagen zwischen 50 bis 5000 IU/kg KG (vgl. Tabelle im Anhang).

An dieser Stelle wären weitere Studien wünschenswert, um ein effektives Therapieschema für EPO auszuarbeiten und das zytoprotektive Potential von EPO in der klinischen Anwendung ganzheitlich auszuschöpfen.

Die „EPO in Burns“-Studie ordnet sich mit ihren nicht konklusiven Ergebnissen in eine Reihe hoch qualitativer klinischer Studien ein, die die vielversprechenden tierexperimentellen Ergebnisse der zytoprotektiven Wirkung von EPO am Menschen nicht wiederholen konnten. Zu nennen sind die Studien von *Ehrenreich et al.*, welche die neuroprotektiven Effekte von EPO untersuchten. Im Jahr 2002 zeigte die Arbeitsgruppe in einer ersten Studie an 40 Patienten mit ischämischem Schlaganfall eine Reduktion der Infarktgröße und eine verbesserte neurologische Rehabilitation unter EPO (33.000 IU i.v. 3 x nach Insult) (Ehrenreich et al., 2002). Dieses positive Ergebnis konnte in der multizentrischen, Placebo-kontrollierten Folgestudie mit 522 Patienten nicht wiederholt werden. Viel mehr zeigten Patienten unter EPO-Therapie eine höhere Mortalität (Ehrenreich et al., 2009). *Endre et al.* untersuchte den nephroprotektiven Effekt von EPO in einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie mit 162 Patienten. Um die mögliche Prävention eines akuten

Nierenversagens durch die Gabe von EPO zu überprüfen, erhielten Patienten auf der Intensivstation zweimal 500 IU/ kg KG i.v. EPO innerhalb von 24 Stunden. Die Gabe von EPO wurde hier als sicher nachgewiesen, doch war kein Unterschied in der EPO-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe in Bezug auf den primären Endpunkt möglich (Endre et al., 2010). Der kardioprotektive Effekt von EPO wurde in einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie (REVEAL) untersucht, die 222 Patienten umfasste. Patienten mit STEMI erhielten einen intravenösen Bolus Erythropoetin alpha (60.000 IU) während der ersten vier Stunden nach perkutaner Koronarintervention (PCI). Man erhoffte sich eine Reduktion der Infarktgröße, doch es konnte kein Unterschied in den Behandlungsgruppen festgestellt werden. Vielmehr zeigten Patienten der EPO-Gruppe, die über 70 Jahre alt waren, ein größeres Infarktareal. Weiterhin traten in der EPO-Gruppe mehr kardiovaskuläre Vorfällen auf (Najjar et al., 2011). Eine ähnliche Studie (REVIVAL-3) untersuchte die dreimalige Gabe von EPO (33.000 IU) kurz nach PCI. Das Ziel einer verbesserten linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) nach sechs Monaten wurde nicht erreicht. Hier zeichnete sich ebenfalls ein erhöhtes Risiko für *adverse events* unter EPO ab (Ott et al., 2010). Weiterhin zeigte das 5-Jahres-Follow-up keinen klinischen Vorteil der EPO-Therapie für Patienten mit Herzinfarkt (Steppich et al., 2017).

Das Phänomen, dass EPO in den tierexperimentellen Studien einschlägige protektive Effekte aufweist, diese aber in humanen Studien nicht reproduziert werden können, wird als „Erythropoetin-Paradoxon“ beschrieben (Steppich et al., 2017). Als eine Erklärungsmöglichkeit werden auch hier die zu den experimentellen Studien unterschiedlichen Dosierungsregime, Zeiträume und Zeitpunkte der Administration von EPO diskutiert.

Ein weiterer wichtiger Erklärungsansatz für dieses Paradoxon könnte die eingeschränkte Übertragbarkeit der Ergebnisse aus den experimentellen Studien von meist gesunden Tieren auf oft schwerkranke Patienten in humanen Studien darstellen (C. I. Gunter et al., 2018). In der „EPO in Burns“-Studie handelte es sich um schwerbrandverletzte Patienten (im Mittel $47,3 \pm 1,7$ Jahre). In den experimentellen Tierstudien wurden primär junge Nagetiere verwendet. Außerdem untersuchten die Tierstudien vorrangig tiefe dermale Schnittwunden und Lappenplastiken mit Ischämie- und Reperfusionsschäden, aber nur wenige Verbrennungswunden (vgl. Tabelle im Anhang). Der Wundheilungsprozess bei Schnittwunden unterliegt jedoch einer anderen Ausgangssituation durch weniger Gewebeverlust und erhaltener Blutversorgung (Shakespeare, 2001). *Tobalem et al.* verwendeten sogar ein Verbrennungsmodell in ihrer Studie und diskutierten als mögliche Einschränkungen, dass die Haut der Ratten dünner sei als humane Haut. Insbesondere die Progression von Verbrennungen in der Tierhaut mag deshalb anderen Gesetzmäßigkeiten unterliegen als beim Menschen (Tobalem et al., 2013). Ein weiterer ersichtlicher Unterschied

zum Menschen ist die dicht behaarte Haut der Nagern. Haarfollikel sind reich an Stammzellen. So können Abläufe der Mobilisation von Stammzellen und des Haarwachstums nur teilweise auf den Menschen übertragbar sein (Abdullahi et al., 2014; Eming et al., 2014). Darüber hinaus ist die Haut von Nagern nicht mit der Subkutis verbunden. Der Wundverschluss läuft weniger über die Bildung von Granulationsgewebe und die Reepithelialisierung als über eine Wundkontraktion. Diese ist durch den *Musculus panniculus carnosus* als anatomische Besonderheit in Nagern möglich und beschleunigt die Heilungszeit (Dorsett-Martin, 2004; Gottrup et al., 2000). Ebenso weisen das Immunsystem und die Expression von Chemokinen Unterschiede auf (Abdullahi et al., 2014). Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von EPO in verschiedenen Spezies (Ratten, Hasen, Affen, Menschen) lassen eine bessere Verteilung von EPO in kleineren Tieren basierend auf Messungen des Verteilungsvolumens vermuten (Woo & Jusko, 2007). Dies könnte ebenfalls für eine verbesserte Wirkung von EPO am Zielort, wie der Haut, in den experimentellen Studien sprechen.

Tiermodelle sind unverzichtbar in der medizinischen Forschung. Ergebnissen aus experimentellen Studien verdankt die Medizin große Fortschritte im Verständnis der Pathophysiologie von Erkrankungen und Heilungsprozessen, so auch der Wundheilung (Abdullahi et al., 2014). Die Verbesserung und Standardisierung von Tierexperimenten tragen zum Fortschritt bei, jedoch zeigen sich die genannten Einschränkungen in der Übertragbarkeit auf den Menschen.

Zusammengefasst lassen die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse der „EPO in Burns“-Studie die Vermutung aufkommen, dass EPO, kurzzeitig in der Akutphase angewendet, wundheilungsfördernd wirken kann; eine Gabe über mehr als 10 Tage hingegen die Wundheilung negativ beeinflusst. Ein Therapieschema mit angepasster Dosierung, Applikationsdauer und -zeitpunkt könnte helfen die positiven Effekte von EPO herauszuarbeiten. Fallstudien mit topisch applizierten EPO als Hydrogel zeigten bereits positive Endergebnisse (Bader et al., 2011; Dornseifer, Machens, et al., 2009; Gunter et al., 2015). Die Dosierung und Anwendungsdauer unterschied sich bei den berichteten Fällen, doch war eine deutlich verbesserte Wundheilung zu sehen. Die Auswertungen der „EPO in Burns“-Studie, die nicht Teil dieser Arbeit sind, zeigen des Weiteren, dass die Anwendung von EPO beim schwerbrandverletzten Patienten risikoarm ist (C. I. Gunter et al., 2018). Diese Resultate könnten einen lohnenden Ausgangspunkt für künftige, weiterführende klinische Studien darstellen. Insbesondere eine Placebo-kontrollierte Studie mit einer lokal-topischen Gabe von EPO, die die Ergebnisse der „EPO in Burns“ integriert, wäre hier wünschenswert.

4.1.2 EPO bei Verbrennungen Grad 3

Die Analysen der Reepithelialisierung der TDW, die als dritt-gradige Verbrennung mit Spalthauttransplantat definiert war, sprach für einen Vorteil der Placebo-Gruppe bei der Abheilung. Die mediane Reepithelialisierungszeit unterschied sich beim Erreichen des 50 % Reepithelialisierungsgrads um 1,3 Tage und des 75 % Reepithelialisierungsgrads um 2,3 Tage. Am Ende des Beobachtungszeitraums erreichten 30 % der EPO-Gruppe und 47 % der Placebo-Gruppe eine vollständige Reepithelialisierung der TDW. Zu der bereits genannten Einschränkung des Wundheilungsverlaufs der TDW durch die zeitlich verzögerte Gabe von EPO sind noch weitere Überlegungen aufzuführen, die eine mögliche Erklärung für die langsamere Wundheilung dieser Studienwunde bei der EPO-Gruppe bieten.

Bei dritt-gradigen Verbrennungen ist die körpereigene Regenerationskapazität der Haut durch die vollkommene Zerstörung der Dermis mit allen Zellen und Hautanhangsgebilden stark eingeschränkt. Der Heilungsprozess ist verzögert und dysreguliert, dies hat eine vermehrte Narbenbildung zur Folge (Machens et al., 2013). Im normalen Wundheilungsprozess sichert die Dermis eine suffiziente Versorgung durch Nährstoffe, Wachstumsfaktoren und die epidermo-dermalen Junktionen. Dies ist bei dritt-gradigen Verbrennungen nicht mehr gewährleistet (Machens et al., 2013). Der Wundschluss erfolgt hier von den Wundrändern mit intakter Dermis und benötigt mehr Zeit. Spalthauttransplantate mit dermalen Anteilen sind zur Deckung dieser Verbrennungswunden notwendig (Shakespeare, 2001). Der alleinige Gebrauch von Wachstumshormonen und Zytokinen reicht für die Behandlung dieser Wunden nicht mehr aus (Ching et al., 2011).

Eine mögliche Erklärung für eine verminderte Wirkung des systemisch verabreichten EPO bei der Heilung der TDW könnte daher neben der zeitlich verzögerten Gabe auch der Verlust tiefer dermaler Strukturen wie Haarfollikel sein. Dadurch fallen der lokale extra-hämatopoetische Expressionsort des EPOR und die endogene EPO-Synthese weg (Bodo et al., 2007). Des Weiteren fehlen dermale Stammzellen (Bader et al., 2011) und vaskuläre Strukturen der Dermis als Zielobjekte für die pro-angiogenetische Wirkung von EPO (C. I. Gunter & Machens, 2012). Ebenfalls anzumerken ist, dass die TDW keine standardisierte Studienwunde war. Ihre Lokalisation am Körper der Patienten und ihr Ausmaß waren individuell. Einzige Vorgabe war eine Stelle möglichst nahe am Oberkörper. Die Verbrennungswunden wurden mit einem Spalthauttransplantat (8x8 cm, 0,3 mm, Mesh-Ratio: 1:1,5) gedeckt. Sie unterschieden sich somit auch in der Versorgung im Vergleich zur SDW und SGDS. Trotz Randomisierung könnten hier interindividuelle Unterschiede eine Rolle bei der Abheilung der TDW gespielt haben.

Interessant ist, dass bis dato keine Untersuchungen zur Wirkung von EPO in dritt-gradigen Verbrennungswunden mit Spalthauttransplantat vorliegen. Bei den zwei experimentellen Studien, die die Wundheilung tiefer zweit-gradiger Verbrennungen untersuchten, führte EPO

zu einer verbesserten Bildung von Granulationsgewebe und Kollagenbereitstellung (Bader et al., 2012; Galeano et al., 2006). Im Allgemeinen finden sich nur wenige Untersuchungen zur Wundheilung in dritt-gradigen Verbrennungen (Ching et al., 2011). Mehr experimentelle Studien über den Ablauf des Wundheilungsprozesses in diesen Verbrennungswunden wären daher wünschenswert. Ein tieferes Verständnis der Prozesse könnte gegebenenfalls zu einem hilfreichen Einsatz von Wachstumsfaktoren bei diesen Wunden beitragen.

4.1.3 Risikoadjustierung

Die Risikoadjustierung des Hazard Ratio an das Alter der Patienten und den ABSI-Score ≥ 7 Punkte als Kovariablen änderte die Ergebnisse der drei Reepithelialisierungsgrade der SGDS kaum. Univariat analysiert zeigte sich hingegen ein deutlicher Nachteil im Wundheilungsverlauf für Patienten mit einem ABSI ≥ 7 Punkte. Dies zeichnete sich besonders stark für die vollständige Abheilung der SGDS ab (HR für 100 % Reepithelialisierung: 0,330; $p=0,011$). Da der ABSI-Score die KOF der Patienten und weitere prognostische Faktoren beinhaltet (vgl. Kapitel 1.2.3), ist eine schlechtere Wundheilung bei zunehmender Punktzahl nicht verwunderlich. Interessant ist, dass nach Prognose des ABSI-Scores 30 % Todesfälle in der „EPO in Burns“-Studie erwartet worden waren. Es verstarben jedoch nur zwei Patienten (EPO/Placebo: $n=1$) (C. I. Gunter et al., 2018).

Die Risikoadjustierung des Therapieeffekts nach der Variable Geschlecht (Referenz: männlich) ließ deutliche Unterschiede mit einem Nachteil für Frauen im Wundheilungsverlauf erkennen. Das univariat analysierte HR ergab, dass Männer eine bis zu sechsfach höherer Chance hatten eine vollständige Reepithelialisierung zu erreichen ($p=0,080$). Insgesamt wurden 18 (21 %) Frauen in die „EPO in Burns“-Studie eingeschlossen. Trotz Randomisierung war die Verteilung auf die zwei Behandlungsarme mit zwölf (27 %) Frauen in der EPO-Gruppe und sechs (15 %) Frauen in der Placebo-Gruppe unausgeglichen. Der Therapieeffekt von EPO konnte daher nach Adjustierung an das Geschlecht für jeden Reepithelialisierungsgrad um einige Prozentpunkte gesteigert werden. Warum Frauen jedoch einen Nachteil bei der Wundheilung unabhängig von der Studienmedikation zeigten, ist ungeklärt.

Interessant in diesem Zusammenhang ist, dass sich in internationalen Statistiken geschlechterspezifische Unterschiede in Bezug auf die Anzahl, die klinische Rehabilitation und Mortalität von Verbrennungsopfern finden. In Ländern mit niedrigem sozioökonomischem Status erleiden mehr Frauen Verbrennungen. Dies wird auf das Arbeitsumfeld zurückgeführt. Die Unfälle ereignen sich vorwiegend im Haushalt an offenen Feuerstellen zum Kochen und Heizen. Es wird zudem von einer erheblichen Zahl an gezielten Körperverletzungen und Selbstverstümmelungen ausgegangen, doch liegen hierfür bisher nicht genug Daten vor (Peck, 2011; World Health Organization, 2017). In

Industrienationen erleiden mehr Männer Verbrennungen. Eine Begründung für diesen Sachverhalt ist, dass Männer eher Berufe mit Exposition gegenüber Feuer oder explosiven und brennbaren Gefahrenstoffen ausüben (Peck, 2011). In einer Studie aus Südafrika zeichneten sich auch Alkoholeinfluss und interpersonelle Gewalt als Ursachen für vermehrte Verbrennungsunfälle bei Männern ab (Blom et al., 2016). Der niedrigere prozentuale Anteil an weiblichen Verbrennungsoptern in der „EPO in Burns“-Studie entspricht etwa den Angaben der deutschen Verbrennungsstatistik aus dem Jahr 2014 (♂ 71,5 % vs. ♀ 28,5 %) (Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin, 2014).

In Bezug auf die Mortalität haben Frauen (<60 Jahre)²⁰ ein höheres Risiko nach Verbrennungen zu versterben. Dies findet schon im ABSI-Score von *Tobiasen* aus dem Jahr 1982 Beachtung (Tobiasen et al., 1982). Frauen erhalten hier für ihr Geschlecht einen Punkt und haben folglich eine schlechtere Prognose (vgl. Tabelle 2). Retrospektive Studien des 21. Jahrhunderts aus Amerika (Kerby et al., 2006; McGwin et al., 2002; O'Keefe et al., 2001) und eine prospektive Studie aus Australien/Neuseeland (Moore et al., 2014) bestätigten dies erneut. Die erhöhte Mortalität unter den Patientinnen war unabhängig von Ausmaß (KOF) und Tiefe ihrer Verbrennung. Die Autoren diskutierten als Erklärungsansätze für die erhöhte Sterblichkeit weiblicher Verbrennungsoptern eine geringere Muskelmasse und daraus resultierend einen vermehrten Flüssigkeitsverlust, eine größere Infektionsgefahr und mehr Transplantatdefekte. Weiterhin werden eine verzögerte Immunantwort und höhere Östrogenspiegel als Ursachen vermutet, doch wird bisher keine dieser Thesen in klinischen Studien untersucht und bestätigt.

Insgesamt gibt es in der Verbrennungsmedizin nur wenige Studien mit dem Fokus auf geschlechterspezifische Unterschieden (Pauzenberger et al., 2017). Bei der Literaturrecherche fanden sich insbesondere keine Studien zu Unterschieden bei der Heilung von Verbrennungswunden bezogen auf das Geschlecht. Eine schnelle Wundheilung ist eng mit einem verbesserten Überleben nach Verbrennungen verbunden. Es stellt sich daher die Frage, ob die höhere Mortalität bei weiblichen Verbrennungsoptern mit einer schlechteren Wundheilung im Zusammenhang steht. Dies ist ein interessanter Gesichtspunkt, der in weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden sollte, um gegebenenfalls angepasste Behandlungsmöglichkeiten für Frauen zu identifizieren und ihre Prognose nach einem Verbrennungstrauma zu verbessern.

²⁰ Ab 60 Jahre gleicht sich das Mortalitätsrisiko an.

4.2 Subgruppenergebnisse

Die Subgruppen wurden anhand möglicher prognostischer Faktoren wie Begleitmedikamente, Vorerkrankungen oder Nebendiagnosen *post hoc* ausgewählt. In den Subgruppenanalysen wurden der Therapieeffekt von EPO in den Subgruppenschichten und ein Interaktionseffekt (IE) berechnet. Die beschriebenen Therapievergleiche sind auf Grund der *post hoc* Auswahl der Subgruppen ausschließlich von explorativem Charakter und erlauben keine konfirmatorischen Aussagen. Sie können zur Generierung neuer Hypothesen führen, welche dann in Folgestudien zu bestätigen sind (Janatzek, 2004; Schumacher & Schulgen, 2008, p. 365). Für die Interpretation der Ergebnisse ist insbesondere der Haupteffekt von EPO wichtig. An diesem orientieren sich in der Diskussion die Therapieeffekte von EPO in den Subgruppenschichten. Man spricht hier von dem *Principle of effect domination* (Moyé, 2003, p. 287).

4.2.1 Insulin

In der „EPO in Burns“-Studie erhielten 43 % (36) der Patienten Insulin (EPO: 17; Placebo: 19) unabhängig von der Studienmedikation. In der Subgruppenschicht „Insulin“ zeigten die Analysen besonders in der frühen Wundheilungsphase der SGDS (50 % Reep.: HR=1,155, IE=1,307) und noch deutlicher der SDW (50 % Reep.: HR=1,511, IE=2,251; 75 % Reep.: HR=1,560, IE=3,027) einen positiven Therapieeffekt von EPO für Patienten, die EPO und Insulin (E+Insulin) erhielten. Die mediane Reepithelialisierungszeit der E+Insulin-Gruppe für den 50 % Reepithelialisierungsgrad der SGDS war mit 9,38 Tagen und der SDW mit 7,33 Tagen am kürzesten im Vergleich zu den drei anderen Gruppen P+Insulin, P und E. Patienten der Subgruppenschicht „kein Insulin“ (E und P) wiesen Therapieeffekte von EPO auf, die den berechneten Haupteffekten der Studie folgten.

Die beschriebenen Ergebnisse der E+Insulin-Gruppe lassen einen möglichen synergistisch wirkenden positiven Effekt der zwei Therapeutika auf die frühe Wundheilungsphase vermuten. EPO und Insulin sind körpereigene Hormone mit pleiotropen Wirkspektren. Beide modulieren als Therapeutika zelluläre und molekulare Mechanismen des Wundheilungsverlaufs.

Die positive Wirkung von EPO auf die Wundheilung wurde am Tiermodell belegt und bereits ausführlich erläutert (vgl. Kapitel 1.3.5).

Die positive Wirkung von Insulin auf die Wundheilung im schwerbrandverletzten Patienten zeigen mehrere Studien. In der relativ kleinen klinischen Studie von *Pierre et al.* wurde schwerbrandverletzten Patienten Insulin via eines Zentralkatheters verabreicht und auf Serumlevel um die 500 μ U/mL angepasst. Die Therapie begann nach der ersten Spalthautentnahme und Transplantation. Eine signifikant schnellere Heilung der gesetzten SGDS mit $4,7 \pm 1,2$ Tagen unter Insulingabe im Vergleich zur Placebo-Gruppe mit $6,5 \pm 1,0$ Tagen wurde beobachtet. Eine vermehrte Kollagen IV-Bildung wurde ebenfalls aufgezeigt

(Pierre et al., 1998). In einer Studie an schwerbrandverletzten Kindern demonstrierten *Tuvendori et al.*, dass eine intensive Insulintherapie eine vermehrte Proteinsynthese während der frühen Wundheilungsphase der SDGS (2-4 Tage postoperativ) hervorruft. Die Bereitstellung und Reifung von dermale Kollagen wurde durch die Insulintherapie begünstigt. Insulin wurde über die Beobachtungszeit kontinuierlich verabreicht und stetig an die gemessenen Glukoselevel mit Zielbereich zwischen 80-100mg/mL angepasst (Tuvendorj et al., 2011). *Wang et al.* untersuchten bei 58 Patienten mit tiefen Verbrennungen die Gabe von langwirksamem Insulin (Zink-Insulin-Suspension) in zwei verschiedenen Dosierungen (Gruppe I: 1,0 IU/2mL s.c.; Gruppe II: 0,1 IU/2mL s.c.). In beiden Gruppen wurde das Insulin lokal injiziert. Die Kontrollgruppe erhielt eine Kochsalzlösung. Eine signifikant bessere Wundheilung der Verbrennungen wurde nach sieben und 14 Tagen in Gruppe II mit niedrigdosiertem Insulin beobachtet. Als ein möglicher Wirkmechanismus wurde eine höhere Expression von VEGF in dieser Gruppe beschrieben (C. Wang et al., 2016). Eine weitere Placebo-kontrollierte Studie bestätigte dieses Ergebnis bei 165 Patienten mit Verbrennungen. Untersuchungsgegenstand war dort die Wundheilung eines freien Lappens zur Deckung der Verbrennungswunden. Die tägliche Gabe von niedrigdosiertem Insulin s.c. (0,5 IU/2ml) über zwei Wochen beschleunigte die Wundheilung signifikant. Unter Insulintherapie zeigte sich eine reduzierte Anzahl inflammatorischer Zellen, vermehrter Fibroblasten und eine erhöhte VEGF-Expression im Wundbett (Zeng et al., 2016).

Im Tiermodell zeigten *Azevedo et al.* die regenerative Wirkung von topischem Insulin (1,0 IU/100g für 26 Tage) an Verbrennungswunden in Ratten (mit und ohne Diabetes). Eine verstärkte Proliferation der Fibroblasten und eine vermehrte Expression von Kollagen Typ III zwischen Tag 1 und 7 verbesserte die Reepithelialisierung der Wunden bei den Tieren, die Insulin erhielten. Die Autoren vermuteten des Weiteren eine Verkürzung der Inflammationsphase unter der Insulintherapie (Azevedo et al., 2015). *Dhall und Kollegen* demonstrierten eine verbesserte Wundheilung in einem Verbrennungsmodell an Ratten unter der Verwendung eines Insulin-Dressings (0.04 mg/cm² alle drei Tage für neun Tage). Das Insulin führte zu einem schnelleren Wundverschluss, einer reduzierten Entzündungsantwort und vermehrter Kollagenbereitstellung (Dhall et al., 2015). In einer Studie an Hasen konnte außerdem eine deutliche Reduktion der Heilungszeit einer gesetzten SGDS nach Insulininjektionen (0,25 IU/mL) gezeigt werden (X. J. Zhang et al., 2007). *Chen und Mitarbeiter* untersuchten die lokale Gabe von Insulin (1,5 IU/mL) in Schnittwunden bei Mäusen. Hier wurde eine verbesserte Wundheilung beobachtet und ebenfalls der Reduktion der inflammatorischen Antwort durch Insulin zugesprochen. Insulin modulierte die Makrophageninfiltration und die Expression von Chemokinen (X. Chen et al., 2012). Makrophagen sind besonders während der inflammatorischen Phase der Wundheilung von

Bedeutung. Durch die Freisetzung von Chemokinen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren sind sie an der Säuberung des Wundbetts und an der Formation von Granulationsgewebe beteiligt (Koh & DiPietro, 2011). *Lima und Mitarbeiter* untersuchten die molekularen Mechanismen der Insulinwirkung tiefer und zeigten bei der Anwendung von topischem Insulin (0,5 IU/100g) bei diabetischen Ratten eine Verbesserung der Wundheilung durch eine gesteigerte Proteinexpression von eNOS und eine vermehrte Expression von VEGF. Die Induktion verschiedener Signalwege (u.a. PI-3K/Akt)²¹ durch Insulin, welche die Wundschließung beschleunigen und Apoptose reduzieren, wurde beschrieben (Lima et al., 2012). Via Aktivierung des PI-3K/Akt-Signalwegs durch Insulin wird auch die Stimulation von Keratinozyten (Y. Liu et al., 2009) und Makrophagen (X. Chen et al., 2012) beschrieben.

In den beschriebenen Studienergebnissen zu Insulin finden sich Überschneidungen mit Wirkmechanismen von EPO auf die Wundheilung. Insulin aktiviert zum Teil dieselben intrazellulären Signalwege und steigert ebenfalls die Expression von eNOS und VEGF (Oryan & Alemzadeh, 2017). Dies lässt die Annahme aufkommen, dass der gleichzeitige Einsatz von EPO und Insulin eine mögliche Verstärkung der genannten Prozesse während der frühen Wundheilung bewirken kann. Zudem fördert EPO die Insulinsensitivität im Organismus, wie experimentelle Studien (Niu et al., 2016) und Studien bei dialysepflichtigen Patienten (Mak, 1996, 1998) belegen. Eine verbesserte Wirkung von Insulin im Organismus und auf die Wundheilung könnte folglich unter der gleichzeitigen Gabe von EPO gegeben sein.

Als limitierend sei erwähnt, dass sich die Dosierungen und Applikationsformen in den aufgeführten Studien zu Insulin deutlich unterscheiden. Außerdem ist die Übertragbarkeit der beschriebenen Ergebnisse auf die Resultate der „EPO in Burns“-Studie nur begrenzt möglich, da hier retrospektiv keine Aussage über das gewählte Dosierungsschema von Insulin in den einzelnen Zentren getroffen werden kann. Es ist nicht bekannt, welche Insulinpräparate über welchen Zeitraum gegeben wurden. Insulin ist der Goldstandard in der Behandlung des Hypermetabolismus nach Verbrennungen. Es verbessert das Outcome schwerbrandverletzter Patienten, reduziert die Inzidenz von Infektionen, SIRS und Sepsis (Jeschke et al., 2016). Meist folgen die in Verbrennungszentren angewendeten Insulinregime Angaben aus der Studie von *van den Berg et al.* in schwerkranken Patienten (Pidcoke et al., 2007; van den Berghe et al., 2001). Doch hypoglykämische Episoden unter Insulintherapie sind ein ernstes Problem, deshalb wird aktuell nach neuen Behandlungsstrategien gesucht (Jeschke et al., 2016). Kritisch einzuwenden ist auch, dass die Ergebnisse der TDW und des 100 % Reepithelialisierungsgrads der SGDS keinen Vorteil unter der Therapie mit EPO und

²¹ Akt ist für die Phosphorylierung von Proteinen für die Regulierung von Zellüberleben und Proteinsynthese zuständig. Des Weiteren ist es an der Aktivierung von VEGF beteiligt (Oryan & Alemzadeh, 2017).

Insulin zeigten. Für die 100 % Reepithelialisierung der SGDS wird aus der Überlebenszeitanalyse deutlich, dass nur ein (1) Patient aus der E+Insulin-Gruppe diesen Reepithelialisierungsgrad erreichte; somit erbrachte auch die Schätzung des Therapieeffekts ein negatives Ergebnis. Ein möglicher Synergismus zeichnete sich in der späten Wundheilungsphase nicht mehr ab. Für die Wundheilung der TDW sind die bereits diskutierten Einschränkungen erneut zu bedenken.

EPO und Insulin stellen in ihrer Wirkung auf die Wundheilung vielversprechende Therapeutika dar. Ihre Anwendung in schwerkranken Patienten ist breit erforscht. Die Ergebnisse der „EPO in Burns“-Studie deuten auf eine mögliche Verbesserung der frühen Wundheilung durch eine Kombination dieser zwei Hormone hin. Ihr Zusammenspiel während dieser frühen Phasen der Wundheilung könnte einen produktiven Ansatz weiterführender Studien darstellen. Wünschenswert wäre auch ein tiefer gehendes Verständnis der Wirkung auf molekularer Ebene. Die dargestellten Ergebnisse bedürfen jedoch aufgrund ihres explorativen Charakters erneuter Überprüfung und Bestätigung in dafür ausgelegten klinischen Studien.

4.2.2 Nichtsteroidale Antirheumatika

Bei dieser Subgruppe erfolgte die Einteilung in Patienten, die ein oder kein NSAR ($NSAR \leq 1$) oder mehr als ein NSAR ($NSARs > 1$) erhielten. In der Subgruppenschicht $NSAR \leq 1$ befanden sich 43 (51 %) der 84 Patienten, in der Subgruppenschicht $NSARs > 1$ waren es 41 (49 %) Patienten.

Anhand der Ergebnisse ist kein negativer Einfluss durch die Gabe von mehr als einem NSAR auf die Wundheilung anzunehmen. Die univariat analysierten HRs nach dem Faktor $NSARs > 1$ lagen bei 1. Die Subgruppenschicht $NSARs > 1$ zeigte vielmehr eine höhere Wahrscheinlichkeit den 100 % Reepithelialisierungsgrad zu erreichen. Patienten, die das Placebo erhielten, waren hier im Vorteil. Ansonsten gingen die berechneten Therapieeffekte von EPO in den zwei Subgruppenschichten mit den berechneten Haupteffekten von EPO in der Studie einher.

In der Literatur wird der Einsatz von NSARs im Heilungsprozess von Weichteilgewebe, Knochen und Bändern kontrovers diskutiert. Durch ihre erwünschten anti-inflammatorischen Eigenschaften als Schmerzmedikamente wird ihnen eine anti-proliferative Wirkung zugeschrieben (Guo & DiPietro, 2010). Erklärungsansätze dafür sind unter anderem die Inhibierung der Enzyme COX_1 und COX_2 gefolgt von einer verminderten Prostaglandin-Synthese (M. R. Chen & Dragoo, 2013). Prostaglandine nehmen eine zentrale Rolle bei der initialen Inflammations- und Proliferationsphase ein (Robson et al., 2001). COX_2 wird als essentiell in der Heilung von Frakturen (Simon et al., 2002) und der Reepithelialisierung von Wunden (Futagami et al., 2002) beschrieben. Tierexperimentelle Ergebnisse zeigten, dass auch bei der Anwendung von NSARs der Zeitpunkt und die Dauer der Applikation sowie die

Halbwertszeit des verwendeten Produkts eine wichtige Rolle bei der Auswirkung auf die Wundheilung spielen. Bei kurzfristigem Einsatz (≤ 14 Tage) während der postoperativen/ posttraumatischen Phase werden keine Nebenwirkungen auf die Wundheilung angenommen. In diesem Forschungsfeld fehlt es jedoch an humanen Studien, um eine klare Aussage treffen zu können (M. R. Chen & Dragoo, 2013; Krischak et al., 2007). Ist bereits unter einem NSAR von einer negativen Wirkung auf die Wundheilung auszugehen, so können durch diese Subgruppenanalyse keine Aussage getroffen werden, da in der „EPO in Burns“-Studie fast jeder Patient mindestens ein NSAR erhielt.

Die Auswertungen lassen die Vermutung aufkommen, dass die Gabe von mehr als einem NSAR keinen negativen additiven Effekt auf die Reepithelialisierung hatte. Dies geht mit den in der Literatur publizierten Daten einher. Einschränkend lässt sich sagen, dass Faktoren wie die Applikationsdauer der NSARs in den hier dargestellten Analysen nicht beachtet werden konnten. Der Therapieeffekt von EPO unterschied sich in der NSARs >1 -Schicht beim Erreichen der 100 % Reepithelialisierung vom Haupteffekt der Studie und sprach damit für eine geringere Chance eine vollständige Abheilung in dieser Subgruppenschicht zu erreichen. Dieses Ergebnis bleibt unklar, vor allem da die Ereigniszeitkurve der E+NSARs >1 -Gruppe eine höhere Wahrscheinlichkeit zur vollständigen Abheilung abbildet als die Kurven der NSAR ≤ 1 -Schicht.

4.2.3 Vasopressoren und arterielle Hypertonie

Durch seine vasopressorischen Effekte werden EPO hämodynamisch stabilisierende und Blutdruck steigernde Eigenschaften zugeschrieben. Die Autoren vermuten, dass diese Effekte in der Behandlung einer Sepsis oder eines Schockgeschehens von möglichem Nutzen für die Patienten sein können (Walden et al., 2010). Andererseits werden diese Effekte für die Entstehung einer arteriellen Hypertonie als Nebenwirkung unter der Therapie mit EPO verantwortlich gemacht (Vaziri & Zhou, 2009). In den Analysen dieser Arbeit wurden mögliche Einschränkungen der Wundheilung durch die vasopressorischen Effekte von EPO untersucht, insbesondere wenn die Patienten zusätzlich Vasopressoren erhielten oder bereits eine arterielle Hypertonie in der Patientenanamnese vorlag. Von weiterem Interesse war, ob EPO den Einsatz von Vasopressoren an schwerbrandverletzten Patienten reduzieren konnte.

43 (51 %) Patienten erhielten Vasopressoren während der Beobachtungszeit. Dieses Ergebnis verdeutlicht den notwendigen Einsatz hämodynamisch stabilisierender Medikamente bei schwerbrandverletzten Patienten. Interessant war, dass weniger Patienten der EPO-Gruppe Vasopressoren benötigten (EPO: 44 %; Placebo: 59 %). Dies lässt die Annahme einer positiven Wirkung von EPO auf kreislaufinstabile Patienten aufkommen. Die Resultate des respiratorischen und kardialen SOFA-Score der „EPO in Burns“-Studie, die nicht Teil dieser Arbeit waren, bestätigen diese Hypothese. In der Studienauewertung fanden

sich signifikant niedrigere Score-Werte der EPO-Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Dies spricht für eine reduzierte Morbidität und bessere Prognose der Patienten, die EPO erhielten (C. I. Gunter et al., 2018).²² Eine weitere klinische Studie, die die Beobachtung eines kreislaufstabilisierenden Effekts von EPO untermauert, ist die aufgeführte Arbeit von *Corwin et al.* Die Autoren beschreiben dort eine reduzierte Morbidität und Mortalität schwerkranker Patienten unter EPO-Therapie (Corwin et al., 2007).

Die möglichen zugrundeliegenden Mechanismen für diese Wirkung von EPO werden im Folgenden kurz aufgeführt. Sie sind sehr komplex und spielen eine wichtige Rolle für das kardiovaskuläre Risikoprofil von EPO in der klinischen Anwendung. Frühe Studien, die einen Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) als Nebenwirkung bei Patienten unter EPO-Therapie beobachteten, vermuteten eine erhöhte Blutviskosität und steigende Hkt-Werte als Ursachen (Maschio, 1995; Schaefer et al., 1988). Für die Wundheilung wurden diese Eigenschaften ebenfalls als schädlich beschrieben. In der „EPO in Burns“-Studie zeigten Patienten, die EPO erhielten, im Vergleich zur Placebo-Gruppe keine erhöhten Hkt- und Hb-Werte (vgl. Kapitel 4.1.1). EPO wirkt folglich hämodynamisch stabilisierend ohne die Blutrheologie zu verändern. Dies findet Bestätigung durch die Übersichtsarbeit von *Krapf et al.* Die Autoren fassen die Ergebnisse von *in vitro* Studien sowie von Studien an gesunden Probanden und Dialyse pflichtigen Patienten zusammen. EPO erhöht demzufolge den MAP direkt bzw. indirekt über vasokonstriktorische und vasodilatatorische Substanzen, vor allem aber unabhängig von seiner erythropoetischen Wirkung (Krapf & Hulter, 2009). *In vitro* stimuliert EPO vaskuläre Endothelzellen zur vermehrten Synthese von Endothelin-1 und wirkt über eine verminderte Produktion vasodilatatorisch wirkender Prostaglandine (PGI₂) indirekt vasopressorisch (Bode-Boger et al., 1996; Carlini et al., 1993). In einem anderen Modell an humanen Endothelzellen reduzierte EPO die vasodilatatorische NO-Produktion durch eine verminderte eNOS-Expression (X. Q. Wang & Vaziri, 1999). An renalen Arteriolen von Ratten wurde EPO als endothelunabhängig und direkt vasopressorisch wirkend beschrieben (Heidenreich et al., 1991). Des Weiteren zeigte EPO zu Angiotensin-II und Noradrenalin synergistische Effekte durch die Mobilisation von intrazellulärem Calcium in glatter Gefäßmuskulatur (Akimoto et al., 2001; Neusser et al., 1993). *In vivo* wird dieser Effekt jedoch von manchen Autoren in Frage gestellt, da EPO hierfür durch das intakte Endothel der Gefäße gelangen müsste und die Expression des EPOR an humanen Endothelzellen zum Teil angezweifelt wird (W. Jelkmann & Elliott, 2013). Weiterführende Untersuchungen hierzu wären wünschenswert.

²² Der SOFA-Score erfasste die klinische Verfassung und Prognose der Patienten während der Studie (vgl. Kapitel 1.2.3). Die Analysen des SOFA-Score waren ein sekundärer Endpunkt der „EPO in Burns“-Studie.

Bezüglich der Wundheilung fanden sich in der vorliegenden Subgruppenanalyse keine Einschränkungen durch EPO. Zwar hatten Patienten, die Vasopressoren erhielten, eine geringere Wahrscheinlichkeit 100 % Reepithelialisierung zu erreichen (HR=0,551). 81 % dieser Patienten wiesen jedoch einen ABSI-Score ≥ 7 auf. Es ist daher anzunehmen, dass diese Patienten in einem schlechteren klinischen Zustand waren und deshalb eine verzögerte Wundheilung zeigten. Der berechnete Effekt von EPO in der VPs-Gruppe war für die 100 % Reepithelialisierung mit 1,217 positiv (Interaktionseffekt 1,678). Dieser Trend ist differenziert und in Zusammenschau mit dem Haupteffekt von EPO zu betrachten, der weder positiv noch negativ ausfiel. In der Literatur findet sich eine Studie bei Patienten mit renaler Anämie, die eine verbesserte Oxygenierung der Haut bei gleichzeitiger Erhöhung des systemischen vaskulären Widerstandes unter EPO-Therapie beschreibt (Creutzig et al., 1990). Dieses beobachtete Phänomen könnte dieses Subgruppenergebnis erklären.

In der Subgruppe „Arterielle Hypertonie“ bildete sich der beschriebene Trend nicht mehr ab. Patienten mit arterieller Hypertonie, die EPO erhielten (E+art.HT), erreichten zwar alle die 50 % Reepithelialisierung der SGDS (HR=1,141). Der Effekt von EPO nahm über die Beobachtungszeit jedoch ab. Von 22 Patienten, deren SGDS während der Beobachtungszeit vollständig abheilte, wies nur ein Patient eine arterielle Hypertonie als Vorerkrankung auf. Dieser Patient erhielt das Placebo. Dieses Ergebnis geht mit der Annahme einher, dass eine arterielle Hypertonie einen Risikofaktor für eine schlechtere Wundheilung darstellen könnte (Huang & Ogawa, 2014). Ob die Gabe von EPO die Wundheilung zusätzlich verzögerte, ist wegen der kleinen Patientenzahl in dieser Subgruppe jedoch nicht nachvollziehbar.

Zusammenfassend lassen die Subgruppenergebnisse die Vermutung aufkommen, dass EPO den Gefäßtonus gewebespezifisch modulieren könnte. Seine vasopressorischen Effekte scheinen beim schwerbrandverletzten Patienten hämodynamisch stabilisierend zu wirken. In der Haut wird die Mikrozirkulation vermutlich durch die zytoprotektiven und pro-angiogenetischen Eigenschaften aufrechterhalten. Die gegenwertigen Forschungsergebnisse zu den zugrundeliegenden Mechanismen stammen vor allem aus *in vitro* Studien. Klinische Studien wären notwendig, um die beschriebenen Effekte bei schwerkranken Patienten zu überprüfen und zu bestätigen. Corwin et al. sprechen in diesem Zusammenhang von einer bisher verpassten Gelegenheit, die Rehabilitation schwerkranker Patienten durch den Einsatz von EPO zu verbessern. Ein tiefer gehendes Verständnis der Wirkmechanismen könnte helfen, noch weitere Patientengruppen zu identifizieren, die von einer Therapie mit EPO profitieren (Corwin & Napolitano, 2014).

4.2.4 Sepsis

Während der Beobachtungszeit erlitten 11 (13 %) Patienten eine Sepsis. Für Verbrennungsoffer war dies eine erfreulich geringe Anzahl septischer Patienten in der „EPO in Burns“-Studie. Aufgrund der kleinen Patientenzahl konnten die berechneten HRs der Sepsis-Schicht bezüglich der Wundheilung jedoch nur schwer interpretiert werden. Die absolute Anzahl der Patienten und die mediane Reepithelialisierungszeit für die verschiedenen Reepithelialisierungsgrade beschreiben die Ergebnisse besser.

Alle Patienten, die eine Sepsis erlitten, erreichten den 50 % Reepithelialisierungsgrad. Die vier (10,3 %) Patienten der P+Sepsis-Gruppe im Mittel 1,25 Tage schneller ($HR=0,500$) als die sieben (15,6 %) Patienten der E+Sepsis-Gruppe. Bis auf einen septischen Patienten, der EPO erhielt, erreichten auch alle Patienten mit Sepsis eine Reepithelialisierung über 75 % ($HR=0,654$). Jedoch heilte nur ein Patient vollständig während der 21 Tage ab, dieser erhielt EPO.

Anhand der beschriebenen Ergebnisse ist kein eindeutiger Unterschied des Wundheilungsverlaufs bei den septischen Patienten der zwei Behandlungsarme ableitbar. Experimentelle Studien über EPO bei Schock- und Sepsis-Modellen demonstrierten eine positive Wirkung auf die untersuchten Tiere (Abdelrahman et al., 2004; Coldewey et al., 2013; Patel et al., 2011), insbesondere konnte eine Verbesserung der Mikrozirkulation im muskuloskelettalen Gewebe bei septischen Mäusen gezeigt werden (Kao et al., 2011; Kao et al., 2007). Solch ein Effekt könnte auch beim Menschen während des Wundheilungsprozesses von Vorteil sein, lässt sich anhand der Ergebnisse jedoch nicht nachweisen. Vielmehr ist in der vorliegenden Arbeit zu erkennen, dass schwerwiegende Infektionen und septische Zustände zu einer verzögerten Abheilung der Wunden führen. Eine wichtige Einschränkung der dargestellten Analysen ist, dass der Zeitpunkt des Auftretens der Sepsis bei den Patienten nicht berücksichtigt werden konnte. Das verzögerte Eintreten des 50 % Reepithelialisierungsgrads der E+Sepsis-Gruppe könnte durch einen frühen Sepsisbeginn erklärbar sein.

Die berechneten Effekte von EPO auf den Wundheilungsverlauf der Patienten der Subgruppenschicht „keine Sepsis“ folgten dem berechneten Haupteffekt.

Als Ergänzung dieser Subgruppen-Diskussion sind die Ergebnisse der Untersuchungen zu Serum-EPO-Leveln bei schwerkranken, septischen und schwerbrandverletzten Patienten interessant. Bei der Auswertung der „EPO in Burns“-Studie, die nicht Teil dieser Arbeit ist, wurden an Tag 7 im Mittel 112,6 IU/l EPO im Serum der EPO-Gruppe und 38,1 IU/l im Serum der Placebo-Gruppe gemessen (Referenzbereich: 15 IU/l (W. Jelkmann, 2013b)). Bei maximal gestiegenen Leukozytenzahlen, welche für ein inflammatorisches Geschehen sprechen, wurde eine Abnahme der gemessenen Serum-EPO-Level in beiden Gruppen verzeichnet (vgl. Abbildung 45). Diese Beobachtung deutet auf einen erhöhten EPO-

Metabolismus bzw. einen EPO verbrauchenden Prozess während der Inflammationsphase beim schwerbrandverletzten Patienten hin (C. I. Gunter et al., 2018). Dies geht mit den Untersuchungen einer Studie an Primaten einher, die mit steigenden weißen Blutzellen eine Abnahme der Serum-EPO-Level bei den Tieren beschreibt (Levine et al., 1989).

Das Verhalten endogener Serum-EPO-Level ist Untersuchungsgegenstand bei einer Vielzahl von Studien an schwerkranken Patienten. Die meist zugrundeliegende Fragestellung der Untersuchungen war, die Ursache für die auftretende Anämie bei dieser Patientenpopulation zu verstehen. Die Resultate ergaben zu niedrige endogene Serum-EPO-Level für den Grad der vorliegenden Anämie (Hobisch-Hagen et al., 2001; Rogiers et al., 1997). Bei dem Versuch die Hb-Konzentrationen durch exogenes EPO zu steigern sprachen die Patienten nur sehr langsam auf die EPO-Gabe an (van Iperen et al., 2000; Vincent et al., 2006). Eine mögliche Erklärung des zugrundeliegenden Pathomechanismus lieferten experimentellen Untersuchungen, die eine Unterdrückung der endogenen EPO-Bildung durch pro-inflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-1 beschreiben (W. Jelkmann, 1998). Der Transkriptionsfaktor NF- κ B, der für den Beginn und das Aufrechterhalten der Inflammation mit verantwortlich ist, scheint ebenfalls an diesem Phänomen beteiligt zu sein (Nairz et al., 2012). Ein EPO-verbrauchender Prozess, wie er in der „EPO in Burns“-Studie anzunehmen ist, wird hierdurch jedoch nicht erklärt.

Bezüglich der endogenen Serum-EPO-Level im septischen und schwerbrandverletzten Patienten finden sich in der Literatur widersprüchliche Angaben. In der Studie von *Rogiers et al.* waren die Serum-EPO-Level bei den untersuchten septischen Patienten niedriger als bei den Kontrollgruppen (Rogiers et al., 1997). Drei andere Studien beobachteten hingegen stark erhöhte Serum-EPO-Level, die sogar mit einem schlechteren Outcome der septischen Patienten assoziiert waren (Abel et al., 1996; Krafte-Jacobs & Bock, 1996; Tamion et al., 2005). Für den Anstieg könnte ein Mechanismus auf molekularer Ebene verantwortlich sein. Die Arbeitsgruppe von *Ramadori et al.* zeigte, dass hohe Blutwerte des pro-inflammatorischen Zytokins IL-6 die endogene EPO-Synthese in der Leber stimulieren (Ramadori et al., 2010). IL-6 wird in hohem Maß in septischen Patienten ausgeschüttet. In der „EPO in Burns“-Studie erlitten in Absolutzahlen gesehen fast doppelt so viele Patienten der EPO-Gruppe eine Sepsis als Patienten der Placebo-Gruppe. Ebenso kontrovers sind die Publikationen zu den gemessenen endogenen Serum-EPO-Leveln bei Verbrennungsopfern. Die Untersuchungen stammen aus den späten 70er und frühen 90er Jahren. EPO wurde hier zum Teil noch im Urin gemessen und als zu niedrig bestimmt (Andes et al., 1976; Robinson et al., 1973). Diesen Ergebnissen steht eine Folgestudie entgegen, die mit dem Ausmaß der Verbrennung (KOF) ansteigende endogene Serum-EPO-Level bei den Patienten beschreibt. Interessant ist, dass auch hier die Erythropoese trotz der angestiegenen EPO-Werte unterdrückt wurde (Deitch & Sittig, 1993). Erst Jahre später konnte diese Beobachtung

anhand der Experimente von *Posluszny et al.* erklärt werden. Es ist anzunehmen, dass nach einem Verbrennungstrauma die Erythropoese im Knochenmark zu Gunsten einer gesteigerten Myelopoese supprimiert wird. Der reduzierte Anteil an erythropoetischen Zellen kann folglich weniger auf exogenes EPO ansprechen (Posluszny et al., 2011). Übertragen auf den Menschen führt dies zur Anämie und EPO-Resistenz bei schwerbrandverletzten Patienten.

Ogleich vieler, bereits durchgeführter Studien bei Patienten mit lebensbedrohlichen Krankheiten, Sepsis und Verbrennungen zeichnet sich kein klares Bild über das Verhalten der Serum-EPO-Level ab, weder endogen gebildet noch exogen zugeführt. Die Frage, ob erhöhte Serum-EPO-Level mit einem schlechteren Outcome assoziiert sind oder während der Inflammationsphase ein EPO-verbrauchender Prozess im Organismus aktiv ist, bleibt offen. Die Synthese von endogenem EPO, seine Modulation durch pro-inflammatorische Botenstoffe und die Elimination in Niere und Leber unterliegen komplexen Mechanismen. Es ist anzunehmen, dass sich die Wirkung von EPO abhängig von der individuellen Pathologie des Patienten entfaltet (I. Jelkmann & Jelkmann, 2013). Die in den beschriebenen Studien verwendeten Nachweismethoden unterscheiden sich zum Teil, sodass standardisierte Untersuchungsmethoden helfen könnten, in Zukunft eindeutigere Ergebnisse der Serum-EPO-Level zu gewinnen. Dies könnte auch dazu beitragen, die Patientengruppen zu identifizieren, die von einer EPO-Therapie profitieren würden.

4.2.5 Antibiotika

4.2.5.1 Piperacillin-Tazobactam

In dieser Subgruppenanalyse folgten die berechneten Effekte von EPO in den zwei Subgruppenschichten (Pip-Taz vs. keine Pip-Taz) dem berechneten Haupteffekt für den 50 % und 75 % Reepithelialisierungsgrad. Die vollständige Reepithelialisierung der SGDS erreichten Patienten, die kein Pip-Taz erhielten (E und P), mit größerer Wahrscheinlichkeit.

Eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis könnte sein, dass die Patienten, die kein Pip-Taz benötigten, in einem besseren Gesundheitszustand waren und daher eine bessere Wundheilung aufwiesen. In der Auswertung der „EPO in Burns“-Studie ist die Indikation für die Verabreichung von Pip-Taz für die gelisteten Patienten nicht rekonstruierbar. Die Auswertung der Nebendiagnosen ergab eine Dokumentation einer Wundheilungsstörung. Eine systemische Infektion ist daher eher als Indikation für die Therapie mit Pip-Taz anzunehmen, als eine Infektion der Verbrennungswunden. Dies spricht für einen kritischen Gesundheitszustand.

Eine weitere Überlegung ist, ob Pip-Taz einen negativen Effekt auf die Wundheilung hat. Das univariat berechnete HR mit 0,551 für die 100 % Reepithelialisierung unterstützt diese Hypothese. In der Literatur hingegen finden sich hierzu keine Angaben. Es gibt mehrere

Untersuchungen zur Pharmakokinetik mit guten Ergebnissen zur Weichteilpenetration von Piperacillin-Tazobactam (Rowan et al., 2017; Sörgel & Kinzig, 1993). In den 90er Jahren wurden zwei Studien zu Wirkung und Sicherheit von Piperacillin-Tazobactam bei Patienten mit Hautinfektionen durchgeführt. Schlussfolgerung beider Studien war, dass Piperacillin-Tazobactam aufgrund seines breiten Wirkspektrums gegen Methicillin-resistente Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken, *Pseudomonas aeruginosa* und Anaerobier ein optimales Therapeutikum darstellt (Tan et al., 1993; Tassler et al., 1993). Mögliche Wundheilungsstörungen durch die Therapie mit Pip-Taz waren nicht Untersuchungsgegenstand der Studien.

Die Frage, warum die Patienten, die Pip-Taz erhielten, eine deutlich geringere Wahrscheinlichkeit für die vollständige Abheilung der SGDS zeigten, kann nicht abschließend beantwortet werden. Weitere Untersuchungen sind hierfür notwendig, insbesondere da die Ergebnisse dieser Subgruppenanalyse rein explorativ sind.

4.2.5.2 Chinolone

26 % der Patienten erhielten ein Antibiotikum aus der Wirkstoffklasse der Chinolone. Der Therapieeffekt von EPO auf die Wundheilung bei Patienten, die keine Chinolone erhielten (E und P), entsprach dem Haupteffekt der Studie. In der kleineren Subgruppenschicht der Patienten, die Chinolone erhielten, war der Therapieeffekt von EPO positiv. Auch die 75 % Reepithelialisierungswahrscheinlichkeit war für die E+Chinolone-Gruppe höher.

Diese Beobachtung könnte auf die immunmodulatorischen Effekte von EPO sowie der Chinolone zurückgeführt werden. Chinolone vermindern die Sekretion von TNF α , IL-1 und IL-8 und fördern die Produktion von GM-CSF, wie es *Dalhoff et al.* in ihrem Review von *in vitro* und *in vivo* Studien zusammenfassen (Dalhoff & Shalit, 2003). Bakterien und Endotoxine verlängern die Inflammationsphase der Wundheilung durch TNF α und IL-1 und führen zu einer chronischen Entzündung (Guo & DiPietro, 2010). Chinolone und EPO wirken beide als Gegenspieler der gesteigerten Inflammation. Dies könnte sich insbesondere positiv auf die frühe Wundheilung der untersuchten Patientengruppe ausgewirkt haben. Ein weiterer wundheilungsfördernder Aspekt findet sich in der Studie von *Roy et al.* Die Autoren beschreiben die unterstützende Wirkung eines Ciprofloxacin-Keratin-Hydrogels bei der Heilung von Schnittwunden am Schwein. Die Stimulation von Wundmakrophagen, welche in der Inflammationsphase durch Zytokinefreisetzung und Phagozytose eine wichtige Rolle spielen, wird als Ursache diskutiert (Roy et al., 2015). Eine *in vitro* Studie berichtet über die Stimulation von humanen Fibroblasten durch ein Ciprofloxacin-Kollagen-Konjugat (Puoci et al., 2012). Beide Wirkmechanismen könnten auch in der „EPO in Burns“-Studie die frühe Wundheilung positiv unterstützt haben.

Dem entgegen steht, dass Patienten der „EPO in Burns“-Studie, die EPO und Chinolone (E+Chinolone) erhielten, die geringste Wahrscheinlichkeit vollständig abzuheilen zeigten.

Dies folgt zum einen dem Trend des Haupteffekts der „EPO in Burns“-Studie. Zum anderen waren die univariat analysierten Effekte der Chinolone auf die Reepithelialisierung der SGDS negativ (HRs <1). *Dalhoff et al.* benennen auch klare Einschränkungen für die beschriebenen immunmodulatorischen Effekte der Chinolone. Sie sind abhängig von dem untersuchten Zelltyp und dem verwendeten Studienmodell (Dalhoff & Shalit, 2003). Die Heilung von Wunden war in keiner der aufgeführten Studien des Reviews Untersuchungsgegenstand. Zudem weisen die Wirkstoffe Ciprofloxacin und Moxifloxacin eine andere molekulare Struktur (Cyclopropyl-Gruppe an N₁) auf als Levofloxacin und sind deshalb nicht uneingeschränkt vergleichbar. Des Weiteren ist die Wirkung von Chinolonen dosisabhängig. Abschließend kann auch für diese Subgruppe kein eindeutiges Ergebnis abgeleitet werden.

4.3 Stärken und Schwächen dieser Arbeit

Die Auswahl der statistischen Methoden in dieser Arbeit erweitert die Auswertung der „EPO in Burns“-Studie um Ergebnisse zu verschiedenen Wundheilungsschritten (Reepithelialisierungsgrade). Der Vorteil der neuen statistischen Methoden ist, dass anhand der Ereigniszeitkurven eine Abbildung des Wundheilungsverlaufs über den Beobachtungszeitraum von 21 Tagen möglich war. Mittels Sterbetafeln wurden die Reepithelialisierungswahrscheinlichkeiten für die definierten Reepithelialisierungsgrade berechnet. Weiterhin konnten Patienten, die den primären Endpunkt der Studie nicht erreichten, durch die Wahl dieser Methode in die Analysen eingeschlossen werden, ohne das vorgegebene *worst-case scenario* (vgl. Kapitel 2.2.1) anzuwenden. Dies ermöglichte einen direkten Vergleich der zwei Behandlungsarme ohne Ersatzwerte. Durch das Cox-Regressionsmodell wurde zusätzlich der Therapieeffekt von EPO als Effektmaß hinsichtlich der Reepithelialisierung der Studienwunden in Form des Hazard Ratio (HR) berechnet. Ein HR>1 stand für einen positiven Therapieeffekt von EPO und konnte als Chance für ein schnelleres Abheilen interpretiert werden. Diese Methode erlaubte auch die Berücksichtigung weiterer Einflussfaktoren. Dies wurde durch die Wahl von *post hoc* definierten Subgruppen umgesetzt. Der Therapievergleich wurde in sieben Subgruppen durchgeführt, um mögliche Einflüsse der gewählten Variablen auf den Wundheilungsverlauf der Patienten zu identifizieren und gegebenenfalls Therapieunterschiede aufzufinden.

Durch die Auswahl neuer statistischer Methoden nach Abschluss der Studie ergaben sich aber auch Nachteile. Die Methoden konnten im Studiendesign und der Fallzahlplanung der „EPO in Burns“-Studie nicht berücksichtigt werden. Die präsentierten Ergebnisse erlauben daher keine endgültigen und belastbaren Aussagen für die Wirkung von EPO auf die Wundheilung. Aufkommende Vermutungen eines positiven oder negativen Therapieeffekts von EPO auf die Reepithelialisierung und abgeleitete Therapieempfehlungen bedürfen einer kritischen Überprüfung und Bestätigung in für diesen Zweck geplanten und gepowerten

Folgestudien. Dies gilt besonders für die Ergebnisse der Subgruppenanalysen; sie sind rein explorativ. Durch die kleine Fallzahl in den Subgruppen ergaben sich zudem sehr breite Konfidenzintervalle für die berechneten Werte. Die statistische Aussagekraft der Ergebnisse war dadurch zusätzlich eingeschränkt und die Generierung neuer Hypothesen nur bedingt möglich. Besonders kleine Subgruppen bildeten die Variablen „Sepsis“, „Chinolone“ und „arterielle Hypertonie“.

4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit greift mit dem Thema „Erythropoetin in der Wundheilung“ einen der mannigfaltigen Effekte aus dem Wirkspektrum von EPO auf. Eine abschließende Antwort auf die Frage, ob EPO die Wundheilung im schwerbrandverletzten Patienten verbessert kann, ist anhand der diskutierten Ergebnisse nicht möglich. Die Reepithelialisierung der SGDS unterschied sich in den zwei Studiengruppen am Ende des Beobachtungszeitraums nicht. Vielmehr zeigte sich in beiden Behandlungsarmen eine längere Abheilungszeit der SGDS als in der Literatur beschrieben.

Ein möglicher Vorteil beim Erreichen des 100 % Reepithelialisierungsgrads zeichnete sich in der EPO-Gruppe innerhalb der ersten zehn Tage ab. Dies ging mit erhöhten Serum-EPO-Leveln in dieser Gruppe einher und lässt in diesem Zeitraum einen positiven Effekt von EPO auf die Wundheilung vermuten. Dieses Ergebnis bietet einen Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen, um die zugrundeliegenden Mechanismen tiefer zu verstehen. An den Studienwunden SWD und TDW konnte dieser Vorteil jedoch nicht beobachtet werden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die zum Verbrennungstrauma zeitlich verzögerte Gabe von EPO, die seine regenerative Wirkung in diesen Studienwunden abgeschwächt haben könnte. Die Abhängigkeit der EPO-Wirkung vom Zeitpunkt der Gabe wird durch diese Ergebnisse erneut verdeutlicht. Es betont die Forderung nach einem effektiven Therapieschema, um von der zytoprotektive Wirkung von EPO im klinischen Alltag in Zukunft profitieren zu können.

Die Subgruppenanalysen im zweiten Teil dieser Arbeit untersuchten zusätzliche Einflussfaktoren auf den Wundheilungsverlauf und den Therapieeffekt von EPO. Sieben Subgruppen aus den Kategorien Begleitmedikamente, Vorerkrankungen und Nebendiagnosen wurde ausgewählt. Die subgruppendefinierenden Variablen waren die Medikamente Insulin, NSARs, Vasopressoren und zwei Antibiotika sowie das Ereignis einer Sepsis und eine anamnestisch erhobene arterielle Hypertonie. Die Ergebnisse spiegelten zum Großteil den Haupteffekt von EPO auf den Wundheilungsverlauf mit minimalen Unterschieden in den Subgruppen wider. Interessant war die Beobachtung eines möglichen synergistisch wirkenden, positiven Effekts von EPO zusammen mit Insulin auf den Wundheilungsverlauf. Des Weiteren ergaben die Subgruppenanalysen, dass Patienten, die

EPO erhielten, weniger Vasopressoren benötigten. Dies könnte auf eine hämodynamisch stabilisierende Wirkung von EPO im schwerbrandverletzten Patienten hinweisen. Patienten, die in der Anamnese eine arterielle Hypertonie angaben, hatten unabhängig von der Studienmedikation eine verzögerte Wundheilung. Bemerkenswert war auch die Stratifizierung der Ergebnisse nach dem Geschlecht. Es zeigte sich insgesamt ein Nachteil für Frauen bei der Abheilung der SGDS.

Weiterführende klinische Studien können helfen, ein tieferes Verständnis der zugrundeliegenden Wundheilungsmechanismen und ihrer Modulation durch EPO in Verbrennungswunden sowie in akuten und chronischen Wunden zu entwickeln. Die Identifizierung eines an die Wunden angepassten Behandlungsschemas könnte dazu beitragen, die Effekte von EPO in der Wundheilung deutlicher herausarbeiten und förderlich sein, die vielversprechenden experimentellen Ergebnisse in die klinische Anwendung zu übertragen.

5 Literaturverzeichnis

- Aapro, M., Leonard, R. C., Barnadas, A., Marangolo, M., Untch, M., Malamos, N., Mayordomo, J., Reichert, D., Pedrini, J. L., Ukarma, L., Scherhag, A., & Burger, H. U. (2008). Effect of once-weekly epoetin beta on survival in patients with metastatic breast cancer receiving anthracycline- and/or taxane-based chemotherapy: results of the Breast Cancer-Anemia and the Value of Erythropoietin (BRAVE) study. *Journal of Clinical Oncology*, 26(4), 592-598. doi:10.1200/jco.2007.11.5378
- Abdelrahman, M., Sharples, E. J., McDonald, M. C., Collin, M., Patel, N. S., Yaqoob, M. M., & Thiemermann, C. (2004). Erythropoietin attenuates the tissue injury associated with hemorrhagic shock and myocardial ischemia. *Shock*, 22(1), 63-69.
- Abdullahi, A., Amini-Nik, S., & Jeschke, M. G. (2014). Animal models in burn research. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(17), 3241-3255. doi:10.1007/s00018-014-1612-5
- Abel, J., Spannbrucker, N., Fandrey, J., & Jelkmann, W. (1996). Serum erythropoietin levels in patients with sepsis and septic shock. *European Journal of Haematology*, 57(5), 359-363.
- Agnello, D., Bigini, P., Villa, P., Mennini, T., Cerami, A., Brines, M. L., & Ghezzi, P. (2002). Erythropoietin exerts an anti-inflammatory effect on the CNS in a model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Research*, 952(1), 128-134.
- Akimoto, T., Kusano, E., Fujita, N., Okada, K., Saito, O., Ono, S., Ando, Y., Homma, S., Saito, T., & Asano, Y. (2001). Erythropoietin modulates angiotensin II- or noradrenaline-induced Ca(2+) mobilization in cultured rat vascular smooth-muscle cells. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 16(3), 491-499.
- Alnaeeli, M., Raaka, B. M., Gavrilova, O., Teng, R., Chanturiya, T., & Noguchi, C. T. (2014). Erythropoietin signaling: a novel regulator of white adipose tissue inflammation during diet-induced obesity. *Diabetes*, 63(7), 2415-2431. doi:10.2337/db13-0883
- American Burn Association. (2006). *Burn Center Referral Criteria* Retrieved from <http://ameriburn.org/wp-content/uploads/2017/05/burncenterreferralcriteria.pdf>
- Anagnostou, A., Liu, Z., Steiner, M., Chin, K., Lee, E. S., Kessimian, N., & Noguchi, C. T. (1994). Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(9), 3974-3978.
- Andes, W. A., Rogers, P. W., Beason, J. W., & Pruitt, B. A., Jr. (1976). The erythropoietin response to the anemia of thermal injury. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 88(4), 584-592. doi:10.5555/uri:pii:0022214376905370
- Arcasoy, M. O. (2008). The non-haematopoietic biological effects of erythropoietin. *British Journal of Haematology*, 141(1), 14-31. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07014.x
- Arslantas, M. K., Arslantas, R., & Tozan, E. N. (2015). Effects of systemic erythropoietin on ischemic wound healing in rats. *Ostomy/Wound Management*, 61(3), 28-33.
- Azevedo, F., Pessoa, A., Moreira, G., Santos, M. D., Liberti, E., Araujo, E., Carvalho, C., Saad, M., & Lima, M. H. (2015). Effect of Topical Insulin on Second-Degree Burns in Diabetic Rats. *Biological Research for Nursing*. doi:10.1177/1099800415592175

- Bader, A., Ebert, S., Giri, S., Kremer, M., Liu, S., Nerlich, A., Gunter, C. I., Smith, D. U., & Machens, H.-G. (2012). Skin regeneration with conical and hair follicle structure of deep second-degree scalding injuries via combined expression of the EPO receptor and beta common receptor by local subcutaneous injection of nanosized rhEPO. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1227-1237. doi:10.2147/ijn.s28186
- Bader, A., Lorenz, K., Richter, A., Scheffler, K., Kern, L., Ebert, S., Giri, S., Behrens, M., Dornseifer, U., Macchiarini, P., & Machens, H.-G. (2011). Interactive role of trauma cytokines and erythropoietin and their therapeutic potential for acute and chronic wounds. *Rejuvenation Research*, 14(1), 57-66. doi:10.1089/rej.2010.1050
- Bahlmann, F. H., De Groot, K., Spandau, J. M., Landry, A. L., Hertel, B., Duckert, T., Boehm, S. M., Menne, J., Haller, H., & Fliser, D. (2004). Erythropoietin regulates endothelial progenitor cells. *Blood*, 103(3), 921-926. doi:10.1182/blood-2003-04-1284
- Bany-Mohammed, F. M., Slivka, S., & Hallman, M. (1996). Recombinant human erythropoietin: possible role as an antioxidant in premature rabbits. *Pediatric Research*, 40(3), 381-387. doi:10.1203/00006450-199609000-00003
- Barajas-Nava, L. A., Lopez-Alcalde, J., Roque i Figuls, M., Sola, I., & Bonfill Cosp, X. (2013). Antibiotic prophylaxis for preventing burn wound infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 6, Cd008738. doi:10.1002/14651858.CD008738.pub2
- Biondo-Simoes Mde, L., Zazula, A. D., Gomes, A. B., Poncio, C., Torres, L. F., & Borsato, K. S. (2006). Influence of arterial hypertension treated with losartan on skin healing in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 21(3), 144-150. doi:/S0102-86502006000300005
- Bittorf, T., Buchse, T., Sasse, T., Jaster, R., & Brock, J. (2001). Activation of the transcription factor NF-kappaB by the erythropoietin receptor: structural requirements and biological significance. *Cellular Signalling*, 13(9), 673-681.
- Blom, L., Klingberg, A., Laflamme, L., Wallis, L., & Hasselberg, M. (2016). Gender differences in burns: A study from emergency centres in the Western Cape, South Africa. *Burns*, 42(7), 1600-1608. doi:10.1016/j.burns.2016.05.003
- Bode-Boger, S. M., Boger, R. H., Kuhn, M., Radermacher, J., & Frolich, J. C. (1996). Recombinant human erythropoietin enhances vasoconstrictor tone via endothelin-1 and constrictor prostanoids. *Kidney International*, 50(4), 1255-1261.
- Bodo, E., Kromminga, A., Funk, W., Laugsch, M., Duske, U., Jelkmann, W., & Paus, R. (2007). Human hair follicles are an extrarenal source and a nonhematopoietic target of erythropoietin. *FASEB Journal*, 21(12), 3346-3354. doi:10.1096/fj.07-8628com
- Branski, L. K., Al-Mousawi, A., Rivero, H., Jeschke, M. G., Sanford, A. P., & Herndon, D. N. (2009). Emerging infections in burns. *Surgical Infections*, 10(5), 389-397. doi:10.1089/sur.2009.024
- Branski, L. K., Herndon, D. H., Lee, J. O., & Jeschke, M. G. (2009). Brandverletzungen bei Kindern. In M. G. Jeschke (Ed.), *Verbrennungen - Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 47-61). Wien: Springer Verlag.
- Brines, M., & Cerami, A. (2008). Erythropoietin-mediated tissue protection: reducing collateral damage from the primary injury response. *Journal of Internal Medicine*, 264(5), 405-432. doi:10.1111/j.1365-2796.2008.02024.x

- Brines, M., Grasso, G., Fiordaliso, F., Sfacteria, A., Ghezzi, P., Fratelli, M., Latini, R., Xie, Q. W., Smart, J., Su-Rick, C. J., Pobre, E., Diaz, D., Gomez, D., Hand, C., Coleman, T., & Cerami, A. (2004). Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(41), 14907-14912. doi:10.1073/pnas.0406491101
- Brines, M. L., Ghezzi, P., Keenan, S., Agnello, D., de Lanerolle, N. C., Cerami, C., Itri, L. M., & Cerami, A. (2000). Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(19), 10526-10531.
- Brückner, U. B., Brockmeyer, N. H., Gödicke, P., Kratz, E. J., Scholz, K., Taupitz, J., & Weber, T. (2010). Einbeziehung von volljährigen einwilligungsunfähigen Notfallpatienten in Arzneimittelstudien. *Medizinrecht*, 28(2), 69-74.
- Buemi, M., Galeano, M., Sturiale, A., Ientile, R., Crisafulli, C., Parisi, A., Catania, M., Calapai, G., Impala, P., Aloisi, C., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A., Tuccari, G., & Frisina, N. (2004). Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and healing of ischemic skin wounds. *Shock*, 22(2), 169-173.
- Buemi, M., Vaccaro, M., Sturiale, A., Galeano, M. R., Sansotta, C., Cavallari, V., Floccari, F., D'Amico, D., Torre, V., Calapai, G., Frisina, N., Guarneri, F., & Vermiglio, G. (2002). Recombinant human erythropoietin influences revascularization and healing in a rat model of random ischaemic flaps. *Acta Dermato-Venereologica*, 82(6), 411-417.
- Bühl, A. (2014). *SPSS 22: Einführung in die moderne Datenanalyse* (14., aktualisierte Aufl. ed.). Hallbergmoos: Pearson.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. (2016). *GERMAP 2015 - Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Antiinfectives Intelligence*. Rheinbach: Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. Retrieved from <http://www.p-e-g.org/econtext/germap>.
- Calvillo, L., Latini, R., Kajstura, J., Leri, A., Anversa, P., Ghezzi, P., Salio, M., Cerami, A., & Brines, M. (2003). Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(8), 4802-4806. doi:10.1073/pnas.0630444100
- Carlini, R. G., Dusso, A. S., Obialo, C. I., Alvarez, U. M., & Rothstein, M. (1993). Recombinant human erythropoietin (rHuEPO) increases endothelin-1 release by endothelial cells. *Kidney International*, 43(5), 1010-1014.
- Carlini, R. G., Reyes, A. A., & Rothstein, M. (1995). Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vitro. *Kidney International*, 47(3), 740-745.
- Carnot, P., & Deflandre, C. (1906). Sur l'activité hé mopoïé tique du sé rum au cours de la régénération du sang. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris*, 143, 384-386.
- Chatzikyrkou, C., Bahlmann, F. H., Sushakova, N., Scurt, F. G., Menne, J., Nawroth, P., Mertens, P. R., & Haller, H. (2016). Low-dose erythropoietin promotes wound-healing of ulcers in diabetics: Evidence from a phase-IIa clinical study. *Diabetes and Metabolism*, 42(6), 466-470. doi:10.1016/j.diabet.2016.05.010

- Chen, M. R., & Dragoo, J. L. (2013). The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on tissue healing. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 21(3), 540-549. doi:10.1007/s00167-012-2095-2
- Chen, X., Liu, Y., & Zhang, X. (2012). Topical insulin application improves healing by regulating the wound inflammatory response. *Wound Repair and Regeneration*, 20(3), 425-434. doi:10.1111/j.1524-475X.2012.00792.x
- Cheng, I. K., Cy, C., Chan, M. K., Yu, L., Fang, G. X., & Wei, D. (1991). Correction of anemia in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis with subcutaneous recombinant erythropoietin twice a week: a long-term study. *Clinical Nephrology*, 35(5), 207-212.
- Ching, Y. H., Sutton, T. L., Pierpont, Y. N., Robson, M. C., & Payne, W. G. (2011). The use of growth factors and other humoral agents to accelerate and enhance burn wound healing. *Eplasty*, 11, e41.
- Chong, Z. Z., Kang, J. Q., & Maiese, K. (2002). Angiogenesis and plasticity: role of erythropoietin in vascular systems. *Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research*, 11(6), 863-871. doi:10.1089/152581602321080529
- Clark, M. A., Plank, L. D., & Hill, G. L. (2000). Wound healing associated with severe surgical illness. *World Journal of Surgery*, 24(6), 648-654.
- Cohen, I. (2000). The Biology of Wound Healing. A supplement to Contemporary Surgery. *Dowden Health Media*, 4-8.
- Coldewey, S. M., Khan, A. I., Kapoor, A., Collino, M., Rogazzo, M., Brines, M., Cerami, A., Hall, P., Sheaff, M., Kieswich, J. E., Yaqoob, M. M., Patel, N. S., & Thiemermann, C. (2013). Erythropoietin attenuates acute kidney dysfunction in murine experimental sepsis by activation of the beta-common receptor. *Kidney International*, 84(3), 482-490. doi:10.1038/ki.2013.118
- Contaldo, C., Elsherbiny, A., Lindenblatt, N., Plock, J. A., Trentz, O., Giovanoli, P., Menger, M. D., & Wanner, G. A. (2009). Erythropoietin enhances oxygenation in critically perfused tissue through modulation of nitric oxide synthase. *Shock*, 31(6), 599-606. doi:10.1097/SHK.0b013e31818b9cc4
- Contaldo, C., Lindenblatt, N., Elsherbiny, A., Hogger, D. C., Borozadi, M. K., Vetter, S. T., Lang, K. S., Handschin, A. E., & Giovanoli, P. (2011). Erythropoietin requires endothelial nitric oxide synthase to counteract TNF-[alpha]-induced microcirculatory dysfunction in murine striated muscle. *Shock*, 35(3), 315-321. doi:10.1097/SHK.0b013e3181fd0700
- Contaldo, C., Meier, C., Elsherbiny, A., Harder, Y., Trentz, O., Menger, M. D., & Wanner, G. A. (2007). Human recombinant erythropoietin protects the striated muscle microcirculation of the dorsal skinfold from postischemic injury in mice. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 293(1), H274-283. doi:10.1152/ajpheart.01031.2006
- Corwin, H. L., Gettinger, A., Fabian, T. C., May, A., Pearl, R. G., Heard, S., An, R., Bowers, P. J., Burton, P., Klausner, M. A., & Corwin, M. J. (2007). Efficacy and safety of epoetin alfa in critically ill patients. *New England Journal of Medicine*, 357(10), 965-976. doi:10.1056/NEJMoa071533

- Corwin, H. L., & Napolitano, L. M. (2014). Erythropoietin for critically ill trauma patients: A missed opportunity? *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 77(5), 774-779. doi:10.1097/ta.0000000000000442
- Creutzig, A., Caspary, L., Nonnast-Daniel, B., Bahlmann, J., Kuhn, K., Brunkhorst, R., Reimers, E., Koch, K. M., & Alexander, K. (1990). Skin microcirculation and regional peripheral resistance in patients with chronic renal anaemia treated with recombinant human erythropoietin. *European Journal of Clinical Investigation*, 20(2), 219-223.
- Dalhoff, A., & Shalit, I. (2003). Immunomodulatory effects of quinolones. *The Lancet Infectious Diseases*, 3(6), 359-371. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00658-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00658-3)
- Deitch, E. A., & Sittig, K. M. (1993). A serial study of the erythropoietic response to thermal injury. *Annals of Surgery*, 217(3), 293-299.
- Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin. (2014). Verbrennungsstatistik 2014. Retrieved from <http://www.verbrennungsmedizin.de/pdf/verbrennungsstatistik-2014.pdf>
- Deutsche Gesellschaft für Verbrennungsmedizin. (2017). Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Verbrennungsmedizin e. V. zur Rehabilitation Brandverletzter. Retrieved from <http://www.verbrennungsmedizin.de/leitlinien-rehabilitation-brandverletzter.php>
- Dhall, S., Silva, J. P., Liu, Y., Hrynyk, M., Garcia, M., Chan, A., Lyubovitsky, J., Neufeld, R. J., & Martins-Green, M. (2015). Release of insulin from PLGA-alginate dressing stimulates regenerative healing of burn wounds in rats. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 129(12), 1115-1129. doi:10.1042/cs20150393
- Digicaylioglu, M., & Lipton, S. A. (2001). Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF-kappaB signalling cascades. *Nature*, 412(6847), 641-647. doi:10.1038/35088074
- Dornseifer, U., Fichter, A. M., Herter, F., Sturtz, G., & Ninkovic, M. (2009). The ideal split-thickness skin graft donor site dressing: rediscovery of polyurethane film. *Annals of Plastic Surgery*, 63(2), 198-200. doi:10.1097/SAP.0b013e31818790b4
- Dornseifer, U., Machens, H.-G., & Bader, A. (2009). *Potential der topischen Anwendung von EPO zur Wundbehandlung (Postervorstellung)*. Paper presented at the 40. Jahrestagung, Deutsche Gesellschaft der Plastischen, Rekonstruktiven und Ästhetischen Chirurgen, Hannover.
- Dorsett-Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: A review. *Wound Repair and Regeneration*, 12(6), 591-599. doi:10.1111/j.1067-1927.2004.12601.x
- Ehrenreich, H., Hasselblatt, M., Dembowski, C., Cepek, L., Lewczuk, P., Stiefel, M., Rustenbeck, H. H., Breiter, N., Jacob, S., Knerlich, F., Bohn, M., Poser, W., Ruther, E., Kochen, M., Gefeller, O., Gleiter, C., Wessel, T. C., De Ryck, M., Itri, L., Prange, H., Cerami, A., Brines, M., & Siren, A. L. (2002). Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Molecular Medicine*, 8(8), 495-505.
- Ehrenreich, H., Weissenborn, K., Prange, H., Schneider, D., Weimar, C., Wartenberg, K., Schellinger, P. D., Bohn, M., Becker, H., Wegrzyn, M., Jahnig, P., Herrmann, M., Knauth, M., Bahr, M., Heide, W., Wagner, A., Schwab, S., Reichmann, H., Schwendemann, G., Dengler, R., Kastrup, A., & Bartels, C. (2009). Recombinant

- human erythropoietin in the treatment of acute ischemic stroke. *Stroke*, 40(12), e647-656. doi:10.1161/strokeaha.109.564872
- Elliott, S., Busse, L., Bass, M. B., Lu, H., Sarosi, I., Sinclair, A. M., Spahr, C., Um, M., Van, G., & Begley, C. G. (2006). Anti-Epo receptor antibodies do not predict Epo receptor expression. *Blood*, 107(5), 1892-1895. doi:10.1182/blood-2005-10-4066
- Eming, S. A., Martin, P., & Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6(265), 265sr266. doi:10.1126/scitranslmed.3009337
- Endre, Z. H., Walker, R. J., Pickering, J. W., Shaw, G. M., Frampton, C. M., Henderson, S. J., Hutchison, R., Mehrrens, J. E., Robinson, J. M., Schollum, J. B., Westhuyzen, J., Celi, L. A., McGinley, R. J., Campbell, I. J., & George, P. M. (2010). Early intervention with erythropoietin does not affect the outcome of acute kidney injury (the EARLYARF trial). *Kidney International*, 77(11), 1020-1030. doi:10.1038/ki.2010.25
- Erbayraktar, Z., Erbayraktar, S., Yilmaz, O., Cerami, A., Coleman, T., & Brines, M. (2009). Nonerythropoietic tissue protective compounds are highly effective facilitators of wound healing. *Molecular Medicine*, 15(7-8), 235-241. doi:10.2119/molmed.2009.00051
- Erslev, A. (1953). Humoral regulation of red cell production. *Blood*, 8(4), 349-357.
- Eschbach, J. W., Egrie, J. C., Downing, M. R., Browne, J. K., & Adamson, J. W. (1987). Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *New England Journal of Medicine*, 316(2), 73-78. doi:10.1056/nejm198701083160203
- Fatouros, M., Dalekos, G. N., Mylonakis, E., Vekinis, G., & Kappas, A. M. (1999). Alterations in body weight, breaking strength, and wound healing in Wistar rats treated pre- and postoperatively with erythropoietin or granulocyte macrophage-colony stimulating factor: evidence of a previously unknown anabolic effect of erythropoietin? *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 133(3), 253-259.
- Fatouros, M. S., Vekinis, G., Bourantas, K. L., Mylonakis, E. P., Scopelitou, A. S., Malamou-Mitsis, V. D., & Kappas, A. M. (1999). Influence of growth factors erythropoietin and granulocyte macrophage colony stimulating factor on mechanical strength and healing of colonic anastomoses in rats. *European Journal of Surgery*, 165(10), 986-992. doi:10.1080/110241599750008143
- Felton, T. W., Roberts, J. A., Lodise, T. P., Van Guilder, M., Boselli, E., Neely, M. N., & Hope, W. W. (2014). Individualization of piperacillin dosing for critically ill patients: dosing software to optimize antimicrobial therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 4094-4102. doi:10.1128/aac.02664-14
- Fenjves, E. S., Ochoa, M. S., Cabrera, O., Mendez, A. J., Kenyon, N. S., Inverardi, L., & Ricordi, C. (2003). Human, nonhuman primate, and rat pancreatic islets express erythropoietin receptors. *Transplantation*, 75(8), 1356-1360. doi:10.1097/01.tp.0000062862.88375.bd
- Ferri, C., Giuggioli, D., Sebastiani, M., & Colaci, M. (2007). Treatment of severe scleroderma skin ulcers with recombinant human erythropoietin. *Clinical and Experimental Dermatology*, 32(3), 287-290. doi:10.1111/j.1365-2230.2007.02363.x

- Fleming, R. Y., Herndon, D. N., Vaidya, S., Nichols, R. J., Desai, M. H., Rutan, R. L., & Waymack, J. P. (1992). The effect of erythropoietin in normal healthy volunteers and pediatric patients with burn injuries. *Surgery*, *112*(2), 424-431; discussion 431-422.
- Futagami, A., Ishizaki, M., Fukuda, Y., Kawana, S., & Yamanaka, N. (2002). Wound healing involves induction of cyclooxygenase-2 expression in rat skin. *Laboratory Investigation*, *82*(11), 1503-1513.
- Galeano, M., Altavilla, D., Bitto, A., Minutoli, L., Calo, M., Lo Cascio, P., Polito, F., Giugliano, G., Squadrito, G., Mioni, C., Giuliani, D., Venuti, F. S., & Squadrito, F. (2006). Recombinant human erythropoietin improves angiogenesis and wound healing in experimental burn wounds. *Critical Care Medicine*, *34*(4), 1139-1146. doi:10.1097/01.ccm.0000206468.18653.ec
- Galeano, M., Altavilla, D., Cucinotta, D., Russo, G. T., Calo, M., Bitto, A., Marini, H., Marini, R., Adamo, E. B., Seminara, P., Minutoli, L., Torre, V., & Squadrito, F. (2004). Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. *Diabetes*, *53*(9), 2509-2517.
- Gauglitz, G. G., Herndon, D. H., Kamolz, L.-P., & Jeschke, M. G. (2009a). Die Pathophysiologie von Verbrennungswunden. In L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, & M. G. Jeschke (Eds.), *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 5-18). Vienna: Springer.
- Gauglitz, G. G., Herndon, D. H., Kamolz, P.-L., & Jeschke, M. G. (2009b). Infektionen bei Brandverletzten. In L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, & M. G. Jeschke (Eds.), *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 145-158). Vienna: Springer.
- Gauglitz, G. G., Herndon, D. N., & Jeschke, M. G. (2008). Insulin resistance postburn: underlying mechanisms and current therapeutic strategies. *Journal of Burn Care & Research*, *29*(5), 683-694. doi:10.1097/BCR.0b013e31818481ce
- Gemeinsamer Bundesausschuss. (2016). *Anlage II.6: Modul 4 - Medizinischer Nutzen und medizinischer Zusatznutzen, Patientengruppen mit therapeutisch bedeutsamem Zusatznutzen*. Retrieved from https://www.g-ba.de/downloads/17-98-3528/2013-04-18_AnI2_6_Modul4.pdf
- Giessler, G. A., Mayer, T., & Trupkovic, T. (2009). Das Verbrennungstrauma - Teil 2: Anästhesiologisches, chirurgisches und intensivmedizinisches Management. *Der Anaesthetist*, *58*(5), 474-484. doi:DOI 10.1007/s00101-009-1535-y
- Giri, P., Ebert, S., Braumann, U. D., Kremer, M., Giri, S., Machens, H.-G., & Bader, A. (2015). Skin regeneration in deep second-degree scald injuries either by infusion pumping or topical application of recombinant human erythropoietin gel. *Drug Design, Development and Therapy*, *9*, 2565-2579. doi:10.2147/dddt.s79425
- Girtler, R., & Gustorff, B. (2011). Schmerztherapie bei Verbrennungen. *Der Anaesthetist*, *60*(3), 243-250. doi:10.1007/s00101-010-1835-2
- Gottrup, F., Agren, M. S., & Karlsmark, T. (2000). Models for use in wound healing research: a survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound Repair and Regeneration*, *8*(2), 83-96.
- Greenhalgh, D. G., Saffle, J. R., Holmes, J. H. t., Gamelli, R. L., Palmieri, T. L., Horton, J. W., Tompkins, R. G., Traber, D. L., Mozingo, D. W., Deitch, E. A., Goodwin, C. W.,

- Herndon, D. N., Gallagher, J. J., Sanford, A. P., Jeng, J. C., Ahrenholz, D. H., Neely, A. N., O'Mara, M. S., Wolf, S. E., Purdue, G. F., Garner, W. L., Yowler, C. J., & Latenser, B. A. (2007). American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns. *Journal of Burn Care & Research*, 28(6), 776-790. doi:10.1097/BCR.0b013e3181599bc9
- Gregoli, P. A., & Bondurant, M. C. (1997). The roles of Bcl-X(L) and apopain in the control of erythropoiesis by erythropoietin. *Blood*, 90(2), 630-640.
- Gunter, C. I., Bader, A., Dornseifer, U., Egert, S., Dunda, S., Grieb, G., Wolter, T., Pallua, N., von Wild, T., Siemers, F., Mailander, P., Thamm, O., Ernert, C., Steen, M., Sievers, R., Reichert, B., Rahmanian-Schwarz, A., Schaller, H., Hartmann, B., Otte, M., Kehl, V., Ohmann, C., Jelkmann, W., & Machens, H.-G. (2013). A multi-center study on the regenerative effects of erythropoietin in burn and scalding injuries: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 14, 124. doi:10.1186/1745-6215-14-124
- Gunter, C. I., Ilg, F. P., Hapfelmeier, A., Egert-Schwender, S., Jelkmann, W., Giri, S., Bader, A., & Machens, H.-G. (in press). Relation between Gender and Concomitant Medications with Erythropoietin-Treatment on Wound Healing in Burn Patients. Post hoc Subgroup-Analysis of the Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial "EPO in Burns". *Frontier in Pharmacology (Manuskript ID: 423958)*.
- Gunter, C. I., & Machens, H.-G. (2012). New strategies in clinical care of skin wound healing. *European Surgical Research*, 49(1), 16-23. doi:10.1159/000339860
- Gunter, C. I., Machens, H.-G., Ilg, F. P., Hapfelmeier, A., Jelkmann, W., Egert-Schwender, S., Giri, S., & Bader, A. (2018). A Randomized Controlled Trial: Regenerative Effects, Efficacy and Safety of Erythropoietin in Burn and Scalding Injuries. *Frontiers in Pharmacology*, 9(951). doi:10.3389/fphar.2018.00951
- Gunter, C. I., Rezaeian, F., Harder, Y., Lohmeyer, J. A., Egert, S., Bader, A., Schilling, A. F., & Machens, H.-G. (2013). Erythropoietin in der Plastischen Chirurgie. *Handchirurgie, Mikrochirurgie, Plastische Chirurgie*, 45(2), 108-119. doi:10.1055/s-0033-1334909
- Gunter et al. (2015). Results on Three Patients Treated with Topical Recombinant Human Erythropoietin (rhEPO) to Improve Wound Healing in Diabetic Foot Ulcers *J Transplant Stem Cell Biol* 2(1).
- Guo, S., & DiPietro, L. (2010). Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229. doi:10.1177/0022034509359125
- Hamed, S., Ullmann, Y., Egozi, D., Daod, E., Hellou, E., Ashkar, M., Gilhar, A., & Teot, L. (2011). Fibronectin potentiates topical erythropoietin-induced wound repair in diabetic mice. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(6), 1365-1374. doi:10.1038/jid.2011.15
- Hamed, S., Ullmann, Y., Masoud, M., Hellou, E., Khamaysi, Z., & Teot, L. (2010). Topical erythropoietin promotes wound repair in diabetic rats. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(1), 287-294. doi:10.1038/jid.2009.219
- Hapfelmeier, A. (2014). *A Multicenter Study on Regenerative Effects of Erythropoietin in Burn and Scald Injuries - Statistical Analysis Plan*. Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie. Technische Universität München.
- Harder, Y., Amon, M., Schramm, R., Contaldo, C., Metzkwow, E., Matzen, A., Rucker, M., Vollmar, B., & Menger, M. D. (2009). Erythropoietin reduces necrosis in critically

- ischemic myocutaneous tissue by protecting nutritive perfusion in a dose-dependent manner. *Surgery*, 145(4), 372-383. doi:10.1016/j.surg.2008.12.001
- Haroon, Z. A., Amin, K., Jiang, X., & Arcasoy, M. O. (2003). A novel role for erythropoietin during fibrin-induced wound-healing response. *American Journal of Pathology*, 163(3), 993-1000. doi:10.1016/s0002-9440(10)63459-1
- Hartmann, B., & Ottomann, C. (2009). Chirurgische Therapie von Erwachsenen. In L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, & M. G. Jeschke (Eds.), *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 73-87). Vienna: Springer.
- Heidenreich, S., Rahn, K. H., & Zidek, W. (1991). Direct vasopressor effect of recombinant human erythropoietin on renal resistance vessels. *Kidney International*, 39(2), 259-265.
- Hobisch-Hagen, P., Wiedermann, F., Mayr, A., Fries, D., Jelkmann, W., Fuchs, D., Hasibeder, W., Mutz, N., Klingler, A., & Schobersberger, W. (2001). Blunted erythropoietic response to anemia in multiply traumatized patients. *Critical Care Medicine*, 29(4), 743-747.
- Horbrand, F., Schrank, C., Henckel-Donnersmarck, G., & Muhlbauer, W. (2003). [Integration of preexisting diseases and risk factors in the Abbreviated Burn Severity Index (ABSI)]. *Anesthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*, 38(3), 151-157. doi:10.1055/s-2003-37773
- Hrynyk, M., & Neufeld, R. J. (2014). Insulin and wound healing. *Burns*, 40(8), 1433-1446. doi:10.1016/j.burns.2014.03.020
- Huang, C., & Ogawa, R. (2014). The link between hypertension and pathological scarring: does hypertension cause or promote keloid and hypertrophic scar pathogenesis? *Wound Repair and Regeneration*, 22(4), 462-466. doi:10.1111/wrr.12197
- Jackson, D. M. (1953). The diagnosis of the depth of burning. *British Journal of Surgery*, 40(164), 588-596.
- Jacobs, K., Shoemaker, C., Rudersdorf, R., Neill, S. D., Kaufman, R. J., Mufson, A., Seehra, J., Jones, S. S., Hewick, R., Fritsch, E. F., & et al. (1985). Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature*, 313(6005), 806-810.
- Janatzek, S. (2004). *G-2 Gutachten: Aussagekraft von Subgruppenanalysen*. Medizinischer Dienst der Spitzenverbände der Krankenkassen e.V. Retrieved from <http://docplayer.org/25537472-G-2-gutachten-aussagekraft-von-subgruppenanalysen.html>.
- Jelkmann, I., & Jelkmann, W. (2013). Impact of erythropoietin on intensive care unit patients. *Transfusion Medicine and Hemotherapy. Offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, 40(5), 310-318. doi:10.1159/000354128
- Jelkmann, W. (1998). Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 18(8), 555-559. doi:10.1089/jir.1998.18.555
- Jelkmann, W. (2007). Erythropoietin after a century of research: younger than ever. *European Journal of Haematology*, 78(3), 183-205. doi:10.1111/j.1600-0609.2007.00818.x

- Jelkmann, W. (2010). Erythropoietin: back to basics. *Blood*, 115(21), 4151-4152. doi:10.1182/blood-2010-03-271395
- Jelkmann, W. (2011). Translationale Forschung: Stellenwert von EPO in der Wundheilung. *DGPW-Journal*, 23(42), 34-38.
- Jelkmann, W. (2013a). Körper eigene Produktion von Erythropoietin (EPO). *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, 64(11), 327-332. doi:10.5960/dzsm.2013.094
- Jelkmann, W. (2013b). Physiology and pharmacology of erythropoietin. *Transfusion Medicine and Hemotherapy. Offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, 40(5), 302-309. doi:10.1159/000356193
- Jelkmann, W., Bohlius, J., Hallek, M., & Sytkowski, A. J. (2008). The erythropoietin receptor in normal and cancer tissues. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 67(1), 39-61. doi:10.1016/j.critrevonc.2008.03.006
- Jelkmann, W., & Elliott, S. (2013). Erythropoietin and the vascular wall: the controversy continues. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 23 (Suppl 1), S37-43. doi:10.1016/j.numecd.2012.04.002
- Jelkmann, W., & Wagner, K. (2004). Beneficial and ominous aspects of the pleiotropic action of erythropoietin. *Annals of Hematology*, 83(11), 673-686. doi:10.1007/s00277-004-0911-6
- Jeon, S., Han, S., Lee, J., Hong, T., Paek, J., Woo, H., & Yim, D. S. (2014). Population Pharmacokinetic Analysis of Piperacillin in Burn Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3744-3751. doi:10.1128/aac.02089-13
- Jeschke, M. G., Abdullahi, A., Burnett, M., Rehou, S., & Stanojic, M. (2016). Glucose Control in Severely Burned Patients Using Metformin: An Interim Safety and Efficacy Analysis of a Phase II Randomized Controlled Trial. *Annals of Surgery*, 264(3), 518-527. doi:10.1097/sla.0000000000001845
- Jeschke, M. G., Boehning, D. F., Finnerty, C. C., & Herndon, D. N. (2007). Effect of insulin on the inflammatory and acute phase response after burn injury. *Critical Care Medicine*, 35(9 Suppl), S519-523. doi:10.1097/01.ccm.0000282027.10288.10
- Jeschke, M. G., Kulp, G. A., Kraft, R., Finnerty, C. C., Mlcak, R., Lee, J. O., & Herndon, D. N. (2010). Intensive insulin therapy in severely burned pediatric patients: a prospective randomized trial. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 182(3), 351-359. doi:10.1164/rccm.201002-0190OC
- Johnson, K. E., & Wilgus, T. A. (2014). Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 3(10), 647-661. doi:10.1089/wound.2013.0517
- Jones, A. E., Trzeciak, S., & Kline, J. A. (2009). The Sequential Organ Failure Assessment score for predicting outcome in patients with severe sepsis and evidence of hypoperfusion at the time of emergency department presentation. *Critical Care Medicine*, 37(5), 1649-1654. doi:10.1097/CCM.0b013e31819def97
- Juul, S. E., Yachnis, A. T., & Christensen, R. D. (1998). Tissue distribution of erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human fetus. *Early Human Development*, 52(3), 235-249.

- Kao, R., Martin, C. M., Xenocostas, A., Huang, W., & Rui, T. (2011). Erythropoietin improves skeletal muscle microcirculation through the activation of eNOS in a mouse sepsis model. *Journal of Trauma*, 71(5 Suppl 1), S462-467. doi:10.1097/TA.0b013e318232e7a2
- Kao, R., Xenocostas, A., Rui, T., Yu, P., Huang, W., Rose, J., & Martin, C. M. (2007). Erythropoietin improves skeletal muscle microcirculation and tissue bioenergetics in a mouse sepsis model. *Critical Care (London, England)*, 11(3), R58. doi:10.1186/cc5920
- Katz, M., & Hauck, W. (1993). Proportional hazards (Cox) regression. *Journal of General Internal Medicine*, 8(12), 702-711. doi:10.1007/BF02598295
- Keast, D. H., & Fraser, C. (2004). Treatment of chronic skin ulcers in individuals with anemia of chronic disease using recombinant human erythropoietin (EPO): a review of four cases. *Ostomy/Wound Management*, 50(10), 64-70.
- Kerby, J. D., McGwin, G., Jr., George, R. L., Cross, J. A., Chaudry, I. H., & Rue, L. W., 3rd. (2006). Sex differences in mortality after burn injury: results of analysis of the National Burn Repository of the American Burn Association. *Journal of Burn Care & Research*, 27(4), 452-456. doi:10.1097/01.bcr.0000225957.01854.ee
- Klein, M. (2012). Postoperative non-steroidal anti-inflammatory drugs and colorectal anastomotic leakage. NSAIDs and anastomotic leakage. *Danish Medical Journal*, 59(3), B4420.
- Kloeters, O., Germann, G., & Behr, B. (2009). Lokale Therapie der Verbrennungswunde. In L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, & M. G. Jeschke (Eds.), *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 41-46). Vienna: Springer.
- Kloeters, O., Germann, G., & Megerle, K. (2009). Aufnahme und Erstversorgung des Schwerbrandverletzten. In L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, & M. G. Jeschke (Eds.), *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 31-39). Vienna: Springer.
- Knabl, J. S., Bauer, W., Andel, H., Schwendenwein, I., Dado, P. F., Mittlbock, M., Romer, W., Choi, M. S., Horvat, R., Meissl, G., & Frey, M. (1999). Progression of burn wound depth by systemical application of a vasoconstrictor: an experimental study with a new rabbit model. *Burns*, 25(8), 715-721.
- Koh, T. J., & DiPietro, L. A. (2011). Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13, e23. doi:10.1017/s1462399411001943
- Krafte-Jacobs, B., & Bock, G. H. (1996). Circulating erythropoietin and interleukin-6 concentrations increase in critically ill children with sepsis and septic shock. *Critical Care Medicine*, 24(9), 1455-1459.
- Krapf, R., & Hulter, H. N. (2009). Arterial hypertension induced by erythropoietin and erythropoiesis-stimulating agents (ESA). *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4(2), 470-480. doi:10.2215/cjn.05040908
- Krischak, G. D., Augat, P., Claes, L., Kinzl, L., & Beck, A. (2007). The effects of non-steroidal anti-inflammatory drug application on incisional wound healing in rats. *Journal of Wound Care*, 16(2), 76-78. doi:10.12968/jowc.2007.16.2.27001

- La Ferla, K., Reimann, C., Jelkmann, W., & Hellwig-Burgel, T. (2002). Inhibition of erythropoietin gene expression signaling involves the transcription factors GATA-2 and NF-kappaB. *FASEB Journal*, *16*(13), 1811-1813. doi:10.1096/fj.02-0168fje
- Lebel, M., Kingma, I., Grose, J. H., & Langlois, S. (1998). Hemodynamic and hormonal changes during erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, *9*(1), 97-104.
- Lee-Huang, S. (1984). Cloning and expression of human erythropoietin cDNA in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *81*(9), 2708-2712.
- Lee, S. M., Nguyen, T. H., Park, M. H., Kim, K. S., Cho, K. J., Moon, D. C., Kim, H. Y., Yoon, D. Y., & Hong, J. T. (2004). EPO receptor-mediated ERK kinase and NF-kappaB activation in erythropoietin-promoted differentiation of astrocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *320*(4), 1087-1095. doi:10.1016/j.bbrc.2004.06.060
- Leist, M., Ghezzi, P., Grasso, G., Bianchi, R., Villa, P., Fratelli, M., Savino, C., Bianchi, M., Nielsen, J., Gerwien, J., Kallunki, P., Larsen, A. K., Helboe, L., Christensen, S., Pedersen, L. O., Nielsen, M., Torup, L., Sager, T., Sfacteria, A., Erbayraktar, S., Erbayraktar, Z., Gokmen, N., Yilmaz, O., Cerami-Hand, C., Xie, Q. W., Coleman, T., Cerami, A., & Brines, M. (2004). Derivatives of erythropoietin that are tissue protective but not erythropoietic. *Science*, *305*(5681), 239-242. doi:10.1126/science.1098313
- Levine, E. A., Rosen, A. L., Sehgal, L. R., Gould, S. A., Egrie, J. C., Sehgal, H. L., & Moss, G. S. (1989). Treatment of acute postoperative anemia with recombinant human erythropoietin. *Journal of Trauma*, *29*(8), 1134-1138; discussion 1138-1139.
- Leyland-Jones, B., Bondarenko, I., Nemsadze, G., Smirnov, V., Litvin, I., Kokhraidze, I., Abshilava, L., Janjalia, M., Li, R., Lakshmaiah, K. C., Samkharadze, B., Tarasova, O., Mohapatra, R. K., Sparyk, Y., Polenkov, S., Vladimirov, V., Xiu, L., Zhu, E., Kimelblatt, B., Deprince, K., Safonov, I., Bowers, P., & Vercammen, E. (2016). A Randomized, Open-Label, Multicenter, Phase III Study of Epoetin Alfa Versus Best Standard of Care in Anemic Patients With Metastatic Breast Cancer Receiving Standard Chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, *34*(11), 1197-1207. doi:10.1200/jco.2015.63.5649
- Li, F. Q., Chong, Z. Z., & Maiese, K. (2004). Erythropoietin on a tightrope: Balancing neuronal and vascular protection between intrinsic and extrinsic pathways. *Neuro-Signals*, *13*(6), 265-289. doi:10.1159/000081963
- Li, J., Chen, J., & Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, *25*(1), 9-18. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2006.09.007>
- Li, Y., Juul, S. E., Morris-Wiman, J. A., Calhoun, D. A., & Christensen, R. D. (1996). Erythropoietin receptors are expressed in the central nervous system of mid-trimester human fetuses. *Pediatric Research*, *40*(3), 376-380. doi:10.1203/00006450-199609000-00002
- Lima, M. H., Caricilli, A. M., de Abreu, L. L., Araujo, E. P., Pelegrinelli, F. F., Thirone, A. C., Tsukumo, D. M., Pessoa, A. F., dos Santos, M. F., de Moraes, M. A., Carnevali, J. B., Velloso, L. A., & Saad, M. J. (2012). Topical insulin accelerates wound healing in diabetes by enhancing the AKT and ERK pathways: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *PloS One*, *7*(5), e36974. doi:10.1371/journal.pone.0036974

- Lipsic, E., van der Meer, P., Henning, R. H., Suurmeijer, A. J., Boddeus, K. M., van Veldhuisen, D. J., van Gilst, W. H., & Schoemaker, R. G. (2004). Timing of erythropoietin treatment for cardioprotection in ischemia/reperfusion. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, *44*(4), 473-479.
- Liu, X., Shen, J., Jin, Y., Duan, M., & Xu, J. (2006). Recombinant human erythropoietin (rhEPO) preconditioning on nuclear factor-kappa B (NF-kB) activation & proinflammatory cytokines induced by myocardial ischaemia-reperfusion. *Indian Journal of Medical Research*, *124*(3), 343-354.
- Liu, Y., Petreaca, M., Yao, M., & Martins-Green, M. (2009). Cell and molecular mechanisms of keratinocyte function stimulated by insulin during wound healing. *BMC Cell Biology*, *10*(1), 1-15. doi:10.1186/1471-2121-10-1
- Lui, S. F., Law, C. B., Ting, S. M., Li, P., & Lai, K. N. (1991). Once weekly versus twice weekly subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clinical Nephrology*, *36*(5), 246-251.
- Lund, A., Lundby, C., & Olsen, N. V. (2014). High-dose erythropoietin for tissue protection. *European Journal of Clinical Investigation*, *44*(12), 1230-1238. doi:10.1111/eci.12357
- Machens, H.-G. (2011). *Clinical Study Protocol: A Multicenter Study on Regenerative Effects of Erythropoietin in Burn and Scaled Injuries*. Study Protocol. Klinik für Plastische Chirurgie und Handchirurgie. Universitätsklinikums rechts der Isar.
- Machens, H.-G. (2017). Innovative Therapien der Wundheilung. In N. Pallua (Ed.), *Plastische Chirurgie - Forschung, Handchirurgie, Rhinoplastik, Gesichtstransplantation* (pp. 177-197). Heidelberg: Springer.
- Machens, H.-G., Günter, C., & Bader, A. (2013). Skin. In G. Steinhoff (Ed.), *Regenerative Medicine: From Protocol to Patient* (pp. 1117-1135). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Maiese, K., Chong, Z. Z., & Shang, Y. C. (2008). Raves and risks for erythropoietin. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, *19*(2), 145-155. doi:10.1016/j.cytogfr.2008.01.004
- Mak, R. H. (1996). Effect of recombinant human erythropoietin on insulin, amino acid, and lipid metabolism in uremia. *Journal of Pediatrics*, *129*(1), 97-104.
- Mak, R. H. (1998). Metabolic effects of erythropoietin in patients on peritoneal dialysis. *Pediatric Nephrology*, *12*(8), 660-665.
- Malzer, R. (2009). Erstversorgung am Unfallsort. In L.-P. Kamolz, D. N. Herndon, & M. G. Jeschke (Eds.), *Verbrennungen: Diagnose, Therapie und Rehabilitation des thermischen Traumas* (pp. 25-30). Vienna: Springer.
- Marret, E., Kurdi, O., Zufferey, P., & Bonnet, F. (2005). Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on patient-controlled analgesia morphine side effects: meta-analysis of randomized controlled trials. *Anesthesiology*, *102*(6), 1249-1260.
- Maschio, G. (1995). Erythropoietin and systemic hypertension. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, *10* (Suppl 2), 74-79.
- Mausberg, A. K., Meyer Zu Horste, G., Dehmel, T., Stettner, M., Lehmann, H. C., Sheikh, K. A., & Kieseier, B. C. (2011). Erythropoietin ameliorates rat experimental autoimmune neuritis by inducing transforming growth factor-beta in macrophages. *PloS One*, *6*(10), e26280. doi:10.1371/journal.pone.0026280

- McGwin, G., Jr., George, R. L., Cross, J. M., Reiff, D. A., Chaudry, I. H., & Rue, L. W., 3rd. (2002). Gender differences in mortality following burn injury. *Shock*, *18*(4), 311-315.
- Miyake, T., Kung, C. K., & Goldwasser, E. (1977). Purification of human erythropoietin. *Journal of Biological Chemistry*, *252*(15), 5558-5564.
- Moore, E. C., Pilcher, D., Bailey, M., & Cleland, H. (2014). Women are more than twice as likely to die from burns as men in Australia and New Zealand: an unexpected finding of the Burns Evaluation And Mortality (BEAM) Study. *Journal of Critical Care*, *29*(4), 594-598. doi:10.1016/j.jcrc.2014.03.021
- Morton, L. M., & Phillips, T. J. (2016). Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *74*(4), 589-605; quiz 605-586. doi:10.1016/j.jaad.2015.08.068
- Moyé, L. A. (2003). *Multiple Analyses in Clinical Trials: Fundamentals for Investigators*. New York, NY: Springer New York.
- Mullonkal, C. J., & Toledo-Pereyra, L. H. (2007). Akt in ischemia and reperfusion. *Journal of Investigative Surgery*, *20*(3), 195-203. doi:10.1080/08941930701366471
- Nairz, M., Schroll, A., Moschen, A. R., Sonnweber, T., Theurl, M., Theurl, I., Taub, N., Jamnig, C., Neutrauer, D., Huber, L. A., Tilg, H., Moser, P. L., & Weiss, G. (2011). Erythropoietin contrastingly affects bacterial infection and experimental colitis by inhibiting nuclear factor-kappaB-inducible immune pathways. *Immunity*, *34*(1), 61-74. doi:10.1016/j.immuni.2011.01.002
- Nairz, M., Sonnweber, T., Schroll, A., Theurl, I., & Weiss, G. (2012). The pleiotropic effects of erythropoietin in infection and inflammation. *Microbes and Infection*, *14*(3), 238-246. doi:10.1016/j.micinf.2011.10.005
- Najjar, S. S., Rao, S. V., Melloni, C., Raman, S. V., Povsic, T. J., Melton, L., Barsness, G. W., Prather, K., Heitner, J. F., Kilaru, R., Gruberg, L., Hasselblad, V., Greenbaum, A. B., Patel, M., Kim, R. J., Talan, M., Ferrucci, L., Longo, D. L., Lakatta, E. G., & Harrington, R. A. (2011). Intravenous erythropoietin in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: REVEAL: a randomized controlled trial. *JAMA*, *305*(18), 1863-1872. doi:10.1001/jama.2011.592
- Nekoui, A., & Blaise, G. (2017). Erythropoietin and Nonhematopoietic Effects. *American Journal of the Medical Sciences*, *353*(1), 76-81. doi:10.1016/j.amjms.2016.10.009
- Neusser, M., Tepel, M., & Zidek, W. (1993). Erythropoietin increases cytosolic free calcium concentration in vascular smooth muscle cells. *Cardiovascular Research*, *27*(7), 1233-1236.
- Niu, H. S., Chang, C. H., Niu, C. S., Cheng, J. T., & Lee, K. S. (2016). Erythropoietin ameliorates hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. *Drug Design, Development and Therapy*, *10*, 1877-1884. doi:10.2147/dddt.s105867
- O'Keefe, G. E., Hunt, J. L., & Purdue, G. F. (2001). An evaluation of risk factors for mortality after burn trauma and the identification of gender-dependent differences in outcomes. *Journal of the American College of Surgeons*, *192*(2), 153-160.
- Ohuri, K., Miura, T., Tanno, M., Miki, T., Sato, T., Ishikawa, S., Horio, Y., & Shimamoto, K. (2008). Ser9 phosphorylation of mitochondrial GSK-3beta is a primary mechanism of cardiomyocyte protection by erythropoietin against oxidant-induced apoptosis.

- American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 295(5), H2079-2086. doi:10.1152/ajpheart.00092.2008
- Ortega, L. M., & Contreras, G. (2009). The clinical impact of the physiological effects of erythropoietin and erythropoietin-stimulating agents on the incidence of malignancy, and hypertension: beyond anaemia. *Nefrologia*, 29(4), 288-294. doi:10.3265/Nefrologia.2009.29.4.5282.en.full
- Oryan, A., & Alemzadeh, E. (2017). Effects of insulin on wound healing: A review of animal and human evidences. *Life Sciences*, 174(Suppl C), 59-67. doi:10.1016/j.lfs.2017.02.015
- Ott, I., Schulz, S., Mehilli, J., Fichtner, S., Hadamitzky, M., Hoppe, K., Ibrahim, T., Martinoff, S., Massberg, S., Laugwitz, K. L., Dirschinger, J., Schwaiger, M., Kastrati, A., & Schmig, A. (2010). Erythropoietin in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized, double-blind trial. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 3(5), 408-413. doi:10.1161/circinterventions.109.904425
- Ottomann, C., & Hartmann, B. (2004). Die Pathophysiologie des Verbrennungstraumas. *Intensivmedizin und Notfallmedizin*, 41(6), 380-387. doi:10.1007/s00390-004-0510-8
- Parsa, C. J., Matsumoto, A., Kim, J., Riel, R. U., Pascal, L. S., Walton, G. B., Thompson, R. B., Petrofski, J. A., Annex, B. H., Stamler, J. S., & Koch, W. J. (2003). A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. *Journal of Clinical Investigation*, 112(7), 999-1007. doi:10.1172/jci18200
- Patel, N. S., Nandra, K. K., Brines, M., Collino, M., Wong, W. F., Kapoor, A., Benetti, E., Goh, F. Y., Fantozzi, R., Cerami, A., & Thiemermann, C. (2011). A nonerythropoietic peptide that mimics the 3D structure of erythropoietin reduces organ injury/dysfunction and inflammation in experimental hemorrhagic shock. *Molecular Medicine*, 17(9-10), 883-892. doi:10.2119/molmed.2011.00053
- Pauzenberger, R., Sternat, N., Radtke, C., & Iderer, I. A. (2017). Gender-specific differences and burn outcome. *Burns*, 43(4), 889-890. doi:10.1016/j.burns.2017.01.029
- Peck, M. D. (2011). Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors. *Burns*, 37(7), 1087-1100. doi:10.1016/j.burns.2011.06.005
- Pidcoke, H. F., Wade, C. E., & Wolf, S. E. (2007). Insulin and the burned patient. *Critical Care Medicine*, 35(Suppl 9), S524-530. doi:10.1097/01.ccm.0000278065.72486.31
- Pierre, E. J., Barrow, R. E., Hawkins, H. K., Nguyen, T. T., Sakurai, Y., Desai, M., Wolfe, R. R., & Herndon, D. N. (1998). Effects of insulin on wound healing. *Journal of Trauma*, 44(2), 342-345.
- Posluszny, J. A., Jr., Muthumalaiappan, K., Kini, A. R., Szilagyi, A., He, L. K., Li, Y., Gamelli, R. L., & Shankar, R. (2011). Burn injury dampens erythroid cell production through reprioritizing bone marrow hematopoietic response. *Journal of Trauma*, 71(5), 1288-1296. doi:10.1097/TA.0b013e31822e2803
- Puoci, F., Piangiolo, C., Givigliano, F., Parisi, O. I., Cassano, R., Trombino, S., Curcio, M., Iemma, F., Cirillo, G., Spizzirri, U. G., Restuccia, D., Muzzalupo, R., & Picci, N. (2012). Ciprofloxacin-Collagen Conjugate in the Wound Healing Treatment. *Journal of Functional Biomaterials*, 3(2), 361-371. doi:10.3390/jfb3020361

- Raine, A. E. (1988). Hypertension, blood viscosity, and cardiovascular morbidity in renal failure: implications of erythropoietin therapy. *Lancet*, 1(8577), 97-100.
- Ramadori, P., Ahmad, G., & Ramadori, G. (2010). Cellular and molecular mechanisms regulating the hepatic erythropoietin expression during acute-phase response: a role for IL-6. *Laboratory Investigation*, 90(9), 1306-1324. doi:10.1038/labinvest.2010.85
- Reinke, J. M., & Sorg, H. (2012). Wound Repair and Regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35-43.
- Rezaeian, F., Wettstein, R., Amon, M., Scheuer, C., Schramm, R., Menger, M. D., Pittet, B., & Harder, Y. (2008). Erythropoietin protects critically perfused flap tissue. *Annals of Surgery*, 248(6), 919-929. doi:10.1097/SLA.0b013e31818f678e
- Rezaeian, F., Wettstein, R., Egger, J. F., Sandmann, F., Rucker, M., Tobalem, M., Vollmar, B., Menger, M. D., & Harder, Y. (2010). Erythropoietin-induced upregulation of endothelial nitric oxide synthase but not vascular endothelial growth factor prevents musculocutaneous tissue from ischemic damage. *Laboratory Investigation*, 90(1), 40-51. doi:10.1038/labinvest.2009.117
- Ribatti, D., Presta, M., Vacca, A., Ria, R., Giuliani, R., Dell'Era, P., Nico, B., Roncali, L., & Dammacco, F. (1999). Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Blood*, 93(8), 2627-2636.
- Robinson, H., Monafu, W. W., Saver, S. M., & Gallagher, N. I. (1973). The role of erythropoietin in the anemia of thermal injury. *Annals of Surgery*, 178(5), 565-572.
- Robson, M. C., Steed, D. L., & Franz, M. G. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current Problems in Surgery*, 38(2), 72-140. doi:10.1067/msg.2001.111167
- Roche Pharma AG. (2015). *GEBRAUCHSINFORMATION: INFORMATION FÜR DEN ANWENDER NeoRecormon® Multidose 50.000 I.E.*
- Lyophilisat und Lösungsmittel zur Herstellung einer Injektionslösung Epoetin beta.* Retrieved from <https://www.roche.de/dok/NeoRecormon-reg-Multidose-50000-fachinfo-0-na-attach.pdf>.
- Rogiers, P., Zhang, H., Leeman, M., Nagler, J., Neels, H., Melot, C., & Vincent, J. L. (1997). Erythropoietin response is blunted in critically ill patients. *Intensive Care Medicine*, 23(2), 159-162.
- Rossert, J. (2005). Erythropoietin-induced, antibody-mediated pure red cell aplasia. *European Journal of Clinical Investigation*, 35(Suppl 3), 95-99. doi:10.1111/j.1365-2362.2005.01536.x
- Rowan, M. P., Niece, K. L., Rizzo, J. A., & Akers, K. S. (2017). Wound Penetration of Cefazolin, Ciprofloxacin, Piperacillin, Tazobactam, and Vancomycin During Negative Pressure Wound Therapy. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 6(2), 55-62. doi:10.1089/wound.2016.0698
- Roy, D. C., Tomblyn, S., Burmeister, D. M., Wrice, N. L., Becerra, S. C., Burnett, L. R., Saul, J. M., & Christy, R. J. (2015). Ciprofloxacin-Loaded Keratin Hydrogels Prevent Infection and Support Healing in a Porcine Full-Thickness Excisional Wound. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 4(8), 457-468. doi:10.1089/wound.2014.0576

- Sakanaka, M., Wen, T. C., Matsuda, S., Masuda, S., Morishita, E., Nagao, M., & Sasaki, R. (1998). In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(8), 4635-4640.
- Saray, A., Ozakpinar, R., Koc, C., Serel, S., Sen, Z., & Can, Z. (2003). Effect of chronic and short-term erythropoietin treatment on random flap survival in rats: an experimental study. *Laryngoscope*, 113(1), 85-89. doi:10.1097/00005537-200301000-00016
- Sawyer, S. T., Krantz, S. B., & Sawada, K. (1989). Receptors for erythropoietin in mouse and human erythroid cells and placenta. *Blood*, 74(1), 103-109.
- Schaefer, R. M., Leschke, M., Strauer, B. E., & Heidland, A. (1988). Blood rheology and hypertension in hemodialysis patients treated with erythropoietin. *American Journal of Nephrology*, 8(6), 449-453.
- Schumacher, M., & Schulgen, G. (2008). *Methodik klinischer Studien: Methodische Grundlagen der Planung, Durchführung und Auswertung* (3., überarbeitete Auflage ed.). Berlin; Heidelberg: Springer.
- Schwentker, A., & Billiar, T. R. (2003). Nitric oxide and wound repair. *Surgical Clinics of North America*, 83(3), 521-530. doi:10.1016/s0039-6109(02)00207-4
- Sereno, M., Garcia-Cabezas, M. A., De Castro, J., Cejas, P., Saenz, E. C., Belda-Iنيesta, C., Feijoo, J. B., Larrauri, J., Nistal, M., & Baron, M. G. (2006). Immunohistochemical expression of p53, Bcl-2, COX-2, C-erb-B2, EPO-R, beta-catenin, and E-cadherin in non tumoral gastric mucous membrane. *European Journal of Histochemistry*, 50(4), 285-292.
- Shakespeare, P. (2001). Burn wound healing and skin substitutes. *Burns*, 27(5), 517-522. doi:[https://doi.org/10.1016/S0305-4179\(01\)00017-1](https://doi.org/10.1016/S0305-4179(01)00017-1)
- Silva, M., Grillot, D., Benito, A., Richard, C., Nunez, G., & Fernandez-Luna, J. L. (1996). Erythropoietin can promote erythroid progenitor survival by repressing apoptosis through Bcl-XL and Bcl-2. *Blood*, 88(5), 1576-1582.
- Simon, A. M., Manigrasso, M. B., & O'Connor, J. P. (2002). Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(6), 963-976. doi:10.1359/jbmr.2002.17.6.963
- Sinclair, A. M., Coxon, A., McCaffery, I., Kaufman, S., Paweletz, K., Liu, L., Busse, L., Swift, S., Elliott, S., & Begley, C. G. (2010). *Functional erythropoietin receptor is undetectable in endothelial, cardiac, neuronal, and renal cells* (Vol. 115).
- Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746. doi:10.1056/nejm199909023411006
- Solling, C. (2012). Organ-protective and immunomodulatory effects of erythropoietin--an update on recent clinical trials. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 110(2), 113-121. doi:10.1111/j.1742-7843.2011.00820.x
- Sorg, H., Harder, Y., Krueger, C., Reimers, K., & Vogt, P. M. (2013). The nonhematopoietic effects of erythropoietin in skin regeneration and repair: from basic research to clinical use. *Medicinal Research Reviews*, 33(3), 637-664. doi:10.1002/med.21259

- Sorg, H., Krueger, C., Schulz, T., Menger, M. D., Schmitz, F., & Vollmar, B. (2009). Effects of erythropoietin in skin wound healing are dose related. *FASEB Journal*, 23(9), 3049-3058. doi:10.1096/fj.08-109991
- Sorg, H., Kuhbier, J. W., Menger, B., Reimers, K., Harder, Y., & Vogt, P. M. (2010). [The role of erythropoietin in improvement of wound healing]. *Chirurg*, 81(11), 993-998. doi:10.1007/s00104-010-1978-3
- Sörgel, F., & Kinzig, M. (1993). The chemistry, pharmacokinetics and tissue distribution of piperacillin/tazobactam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 31(Suppl A), 39-60. doi:10.1093/jac/31.suppl_A.39
- Souza, A. C., Volpini, R. A., Shimizu, M. H., Sanches, T. R., Camara, N. O., Semedo, P., Rodrigues, C. E., Seguro, A. C., & Andrade, L. (2012). Erythropoietin prevents sepsis-related acute kidney injury in rats by inhibiting NF-kappaB and upregulating endothelial nitric oxide synthase. *American Journal of Physiology: Renal Physiology*, 302(8), F1045-1054. doi:10.1152/ajprenal.00148.2011
- Spies, M., & Vogt, P. M. (2007). Verbrennungen. In D. Henne-Bruns (Ed.), *Duale Reihe Chirurgie* (3., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage ed., pp. 906-923). Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Spruance, S. L., Reid, J. E., Grace, M., & Samore, M. (2004). Hazard Ratio in Clinical Trials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(8), 2787-2792.
- Stadelmann, W. K., Digenis, A. G., & Tobin, G. R. (1998). Impediments to wound healing. *American Journal of Surgery*, 176(2A Suppl), 39s-47s.
- Steppich, B., Groha, P., Ibrahim, T., Schunkert, H., Laugwitz, K. L., Hadamitzky, M., Kastrati, A., & Ott, I. (2017). Effect of Erythropoietin in patients with acute myocardial infarction: five-year results of the REVIVAL-3 trial. *BMC Cardiovascular Disorders*, 17(1), 38. doi:10.1186/s12872-016-0464-3
- Still, J. M., Jr., Belcher, K., Law, E. J., Thompson, W., Jordan, M., Lewis, M., Saffle, J., Hunt, J., Purdue, G. F., Waymack, J. P., & et al. (1995). A double-blinded prospective evaluation of recombinant human erythropoietin in acutely burned patients. *Journal of Trauma*, 38(2), 233-236.
- Stoss S., F. J., Pierer G. (2005). Die Verbrennungswunde – Erstversorgung und Therapieprinzipien. *WundForum*, 12(2), 10-16.
- Sugawa, M., Sakurai, Y., Ishikawa-Ieda, Y., Suzuki, H., & Asou, H. (2002). Effects of erythropoietin on glial cell development; oligodendrocyte maturation and astrocyte proliferation. *Neuroscience Research*, 44(4), 391-403.
- Tamion, F., Le Cam-Duchez, V., Menard, J. F., Girault, C., Coquerel, A., & Bonmarchand, G. (2005). Serum erythropoietin levels in septic shock. *Anaesthesia and Intensive Care*, 33(5), 578-584.
- Tan, J. S., Wishnow, R. M., Talan, D. A., Duncanson, F. P., & Norden, C. W. (1993). Treatment of hospitalized patients with complicated skin and skin structure infections: double-blind, randomized, multicenter study of piperacillin-tazobactam versus ticarcillin-clavulanate. The Piperacillin/Tazobactam Skin and Skin Structure Study Group. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37(8), 1580-1586.

- Tassler, H., Cullmann, W., & Elhardt, D. (1993). Therapy of soft tissue infections with piperacillin/tazobactam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 31 Suppl A, 105-112.
- Taylor, J. E., McLaren, M., Henderson, I. S., Belch, J. J., & Stewart, W. K. (1992). Prothrombotic effect of erythropoietin in dialysis patients. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 7(3), 235-239.
- Tobalem, M., Harder, Y., Rezaeian, F., & Wettstein, R. (2013). Secondary burn progression decreased by erythropoietin. *Critical Care Medicine*, 41(4), 963-971. doi:10.1097/CCM.0b013e318275cee7
- Tobalem, M., Harder, Y., Schuster, T., Rezaeian, F., & Wettstein, R. (2012). Erythropoietin in the prevention of experimental burn progression. *British Journal of Surgery*, 99(9), 1295-1303. doi:10.1002/bjs.8847
- Tobiasen, J., Hiebert, J. M., & Edlich, R. F. (1982). The abbreviated burn severity index. *Annals of Emergency Medicine*, 11(5), 260-262.
- Tramontano, A. F., Muniyappa, R., Black, A. D., Blendea, M. C., Cohen, I., Deng, L., Sowers, J. R., Cutaia, M. V., & El-Sherif, N. (2003). Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 308(4), 990-994.
- Trupkovic, T., & Giessler, G. (2008). Das Verbrennungstrauma - Teil 1: Pathophysiologie, präklinische Versorgung und Schockraummanagement. *Der Anaesthetist*, 57(9), 898-907. doi:<https://doi.org/10.1007/s00101-008-1428-5>
- Tuvdendorj, D., Zhang, X. J., Chinkes, D. L., Aarsland, A., Kulp, G. A., Jeschke, M. G., & Herndon, D. N. (2011). Intensive insulin treatment increases donor site wound protein synthesis in burn patients. *Surgery*, 149(4), 512-518. doi:10.1016/j.surg.2010.10.021
- van den Berghe, G., Wouters, P., Weekers, F., Verwaest, C., Bruyninckx, F., Schetz, M., Vlasselaers, D., Ferdinande, P., Lauwers, P., & Bouillon, R. (2001). Intensive insulin therapy in critically ill patients. *New England Journal of Medicine*, 345(19), 1359-1367. doi:10.1056/NEJMoa011300
- van der Meer, P., Lipsic, E., Henning, R. H., Boddeus, K., van der Velden, J., Voors, A. A., van Veldhuisen, D. J., van Gilst, W. H., & Schoemaker, R. G. (2005). Erythropoietin Induces Neovascularization and Improves Cardiac Function in Rats With Heart Failure After Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 46(1), 125-133. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2005.03.044>
- van Iperen, C. E., Gaillard, C. A., Kraaijenhagen, R. J., Braam, B. G., Marx, J. J., & van de Wiel, A. (2000). Response of erythropoiesis and iron metabolism to recombinant human erythropoietin in intensive care unit patients. *Critical Care Medicine*, 28(8), 2773-2778.
- Vaziri, N. D., & Zhou, X. J. (2009). Potential mechanisms of adverse outcomes in trials of anemia correction with erythropoietin in chronic kidney disease. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 24(4), 1082-1088. doi:10.1093/ndt/gfn601
- Villa, P., Bigini, P., Mennini, T., Agnello, D., Laragione, T., Cagnotto, A., Viviani, B., Marinovich, M., Cerami, A., Coleman, T. R., Brines, M., & Ghezzi, P. (2003). Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *Journal of Experimental Medicine*, 198(6), 971-975. doi:10.1084/jem.20021067

- Vincent, J. L., Spapen, H. D., Creteur, J., Piagnerelli, M., Hubloue, I., Diltor, M., Roman, A., Stevens, E., Vercammen, E., & Beaver, J. S. (2006). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of once-weekly subcutaneous epoetin alfa in critically ill patients: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Critical Care Medicine*, 34(6), 1661-1667. doi:10.1097/01.ccm.0000217919.22155.85
- Walden, A. P., Young, J. D., & Sharples, E. (2010). Bench to bedside: A role for erythropoietin in sepsis. *Critical Care (London, England)*, 14(4), 227. doi:10.1186/cc9049
- Wang, C., Wang, J., & Feng, J. (2016). Local application of low-dose insulin in improving wound healing after deep burn surgery. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(4), 2527-2530. doi:10.3892/etm.2016.3645
- Wang, X. Q., & Vaziri, N. D. (1999). Erythropoietin depresses nitric oxide synthase expression by human endothelial cells. *Hypertension*, 33(3), 894-899.
- Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870. doi:10.1152/physrev.00031.2002
- Williams, D. T., & Harding, K. (2003). Healing responses of skin and muscle in critical illness. *Critical Care Medicine*, 31(Suppl 8), S547-557. doi:10.1097/01.ccm.0000081430.34066.1d
- Woo, S., & Jusko, W. J. (2007). Interspecies comparisons of pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human erythropoietin. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 35(9), 1672-1678. doi:10.1124/dmd.107.015248
- World Health Organization. (2017, August 2017). Burns - fact sheet. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/>
- Wu, X., Shen, Q. T., Oristian, D. S., Lu, C. P., Zheng, Q., Wang, H. W., & Fuchs, E. (2011). Skin stem cells orchestrate directional migration by regulating microtubule-ACF7 connections through GSK3beta. *Cell*, 144(3), 341-352. doi:10.1016/j.cell.2010.12.033
- Zeng, M., Zhi, Y., Liu, W., Zhang, W., & Xu, J. (2016). Clinical study on local application of low-dose insulin for promoting wound healing after operation for deep burns. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(5), 3221-3226. doi:10.3892/etm.2016.3749
- Zhang, X. J., Wu, X., Wolf, S. E., Hawkins, H. K., Chinkes, D. L., & Wolfe, R. R. (2007). Local insulin-zinc injection accelerates skin donor site wound healing. *Journal of Surgical Research*, 142(1), 90-96. doi:10.1016/j.jss.2006.10.034
- Zhang, Y. Y., Wang, L., Dey, S., Alnaeeli, M., Suresh, S., Rogers, H., Teng, R. F., & Noguchi, C. T. (2014). Erythropoietin Action in Stress Response, Tissue Maintenance and Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(6), 10296-10333. doi:10.3390/ijms150610296
- Zhao, J., Li, G., Zhang, Y., Su, X., & Hang, C. (2011). The potential role of JAK2/STAT3 pathway on the anti-apoptotic effect of recombinant human erythropoietin (rhEPO) after experimental traumatic brain injury of rats. *Cytokine*, 56(2), 343-350. doi:10.1016/j.cyto.2011.07.018

Ziegler, A., Lange, S., & Bender, R. (2007a). Überlebenszeitanalyse: Die Cox-Regression. [Survival analysis: Cox regression]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 132(S 01), e42-e44. doi:10.1055/s-2007-959039

Ziegler, A., Lange, S., & Bender, R. (2007b). Überlebenszeitanalyse: Eigenschaften und Kaplan-Meier Methode. [Survival analysis: Properties and Kaplan-Meier method]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 132(S 01), e36-e38. doi:10.1055/s-2007-959038

6 Anhang

6.1 Abkürzungen

ABSI	Abbreviated Burn Severity Index
Akt	Proteinkinase B
art. HT	arterielle Hypertonie
Bcl	B-cell lymphoma
CFU-Es	Colony-Forming Units-Erythroid
CRF	Prüfbögen (case report form)
e/iNOS	endotheliale/ induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
ECM	extrazelluläre Matrix
EGF	Epidermal Growth Factor
EPO	Erythropoetin
EPOR	EPO-Rezeptor (allgemein)
(EPOR) ₂	EPO-Rezeptor (Homodimer)
FGF	Growth Factor
FGFs	Fibroblast Growth Factors
GM-CSF	Granulozyten und Makrophagen stimulierender Faktor
Hb	Hämoglobin
HIF	Hypoxie induzierbarer Transkriptionsfaktor
Hkt	Hämatokrit
HR	Hazard Ratio
IE	Interaktionseffekt
IGF-1	Insulin-like Growth Factor-1
IL	Interleukine
ITT	Intention-to-Treat
IU	internationale Einheiten (Units)
JAK	Janus Kinasen
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KOF	verbrannte Körperoberfläche in Prozent
L-NAME	L-Nitro-L-Arginin Methyl Ester
LVEF	linksventrikulären Ejektionsfraktion
Max	Maximum
MD	Median
Min	Minimum
MMPs	Metalloproteasen
MOV	Multiorganversagen
NaCl	Natriumchlorid

NASRs	nichtsteroidale Antirheumatika
NO	Stickstoffmonoxid
PCI	perkutaner Koronarintervention
PDGF	Platelet-derived Growth Factor
PI-3K	Phosphonositid-3-Kinase
Pip-Taz	Piperacillin-Tazobactam
RBC	Red blood cell count
Reep	Reepithelialisierung
rh	rekombinant
SD	Standardabweichung
SGDS	Spalthautentnahmestelle (<i>spli skin donor graft</i>)
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment Score
STATs	Signal transducers and activators of transcription
TGF- β	Transforming Growth Factor beta
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
VEGF	Vascular Epithel Growth Factor
ZNS	zentrales Nervensystem
β cR	EPO-Rezeptor (Heterodimer)

6.2 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Anatomische Struktur der Haut.....	3
Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Wundheilungsphasen.....	4
Abbildung 3: Verbrennungsgrade	9
Abbildung 4: Bestimmung der Körperoberfläche nach Wallace und Lund-Browder	11
Abbildung 5: Pleiotrope Wirkung von EPO	23
Abbildung 6: Signalwege von EPO	26
Abbildung 7: Wirkung von EPO in der Wundheilung.....	31
Abbildung 8: Überblick des Studienprotokolls.....	39
Abbildung 9: Wunddokumentation entsprechend der Abfrage in den Prüfbögen (CRF).....	40
Abbildung 10: Beispiel einer erstellten Arbeitsmappe Generierung der Status-Variable	46
Abbildung 11: Beispiel Arbeitsmappe Begleitmedikamente	47
Abbildung 12: Flussdiagramm EPO-in-Burns Studie	58
Abbildung 13: Ereigniszeitkurven 50 % Reepithelialisierungsgrad (SGDS).....	61
Abbildung 14: Therapieeffekt risikoadjustiert für 50 % Reepithelialisierung der SGDS.....	62
Abbildung 15: Ereigniszeitkurven 75 % Reepithelialisierungsgrad (SGDS).....	63
Abbildung 16: Therapieeffekt risikoadjustiert für 75 % Reepithelialisierung der SGDS	64
Abbildung 17: Ereigniszeitkurven 100% Reepithelialisierungsgrad (SGDS).....	65
Abbildung 18: Therapieeffekt risikoadjustiert für 100 % Reepithelialisierung der SGDS.....	66
Abbildung 19: Ereigniszeitkurven 50 % Reepithelialisierungsgrad (SDW).....	68
Abbildung 20: Ereigniszeitkurven 75 % Reepithelialisierungsgrad (SDW).....	69
Abbildung 21: Ereigniszeitkurven 100% Reepithelialisierungsgrad (SDW)	70

Abbildung 22: Therapieeffekte EPO vs. Placebo der SDW	71
Abbildung 23: Ereigniszeitkurven 50 % Reepithelialisierungsgrad (TDW)	72
Abbildung 24: Ereigniszeitkurven 75 % Reepithelialisierungsgrad (TDW)	73
Abbildung 25: Ereigniszeitkurven 100 % Reepithelialisierungsgrad (TDW).....	74
Abbildung 26: Therapieeffekte EPO vs. Placebo der TDW	75
Abbildung 27: HRs der Subgruppenschichten „Insulin“ vs. „kein Insulin“	77
Abbildung 28. Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+I, P+I, E und P	78
Abbildung 29: HRs der Subgruppenschichten „NSARs>1“ vs. „NSARs≤1“	80
Abbildung 30: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+NSARs>1, P+ NSARs>1, E und P....	81
Abbildung 31: HRs der Subgruppenschichten „VPs“ vs. „keine VPs“	83
Abbildung 32: Ereigniszeitkurven der vier Gruppe E+VPs, P+VPs, E und P.....	84
Abbildung 33: HRs der Subgruppenschichten „Pip-Taz“ vs. „kein Pip-Taz“	87
Abbildung 34: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Pip-Taz, P+Pip-Taz, E und P	88
Abbildung 35: HRs der Subgruppenschichten „Chinolone“ vs. „keine Chinolone“	90
Abbildung 36: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Chinolone, P+Chinolone, E, P	91
Abbildung 37: HRs der Subgruppenschichten „Sepsis“ vs. „keine Sepsis“	93
Abbildung 38: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Sepsis, P+Sepsis, E und P.....	94
Abbildung 39: HRs der Subgruppenschichten „art. HT“ vs. „keine art. HT“	96
Abbildung 40: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+art.HT, P+art.HT, E und P	97
Abbildung 41: HRs der Subgruppenschichten „Insulin“ vs. „kein Insulin“	99
Abbildung 42: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Insulin, P+Insulin E und P	100
Abbildung 43: HRS der Subgruppenschichten „Insulin“ vs. „kein Insulin“	102
Abbildung 44: Ereigniszeitkurven der vier Gruppen E+Insulin, P+Insulin, E und P	103
Abbildung 45: Serum-EPO-Level.....	106
Tabelle 1: Wundtypen	7
Tabelle 2: ABSI-Score	12
Tabelle 3: The Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA).....	13
Tabelle 4: Steckbrief EPO und EPO-Rezeptor	21
Tabelle 5: Wachstumsfaktoren und EPO-Wirkung.....	32
Tabelle 6: Liste aller Begleitmedikamente	47
Tabelle 7: Liste der Vorerkrankungen nach ICD-10	48
Tabelle 8: Nebendiagnosen nach ICD-10/ ergriffene Maßnahmen	51
Tabelle 9: Liste der ausgewählten Subgruppen.....	53
Tabelle 10: Demographie und Basischarakteristika	59
Tabelle 11: Verteilung der KOF in den zwei Behandlungsarmen	59
Tabelle 12: Überblick der Ergebnisse des 50 % Reepithelialisierungsgrads der SGDS	60

Tabelle 13: 50 % Reepithelialisierungsgrad	61
Tabelle 14: Überblick der Ergebnisse des 75% Reepithelialisierungsgrads der SGDS	62
Tabelle 15: 75 % Reepithelialisierungsgrad	63
Tabelle 16: Überblick der Ergebnisse des 100 % Reepithelialisierungsgrads der SGDS	65
Tabelle 17: 100 % Reepithelialisierungsgrad	66
Tabelle 18: Überblick der Ergebnisse des 50 % Reepithelialisierungsgrads der SDW	67
Tabelle 19: Überblick der Ergebnisse des 75 % Reepithelialisierungsgrads der SDW	68
Tabelle 20: Überblick der Ergebnisse des 100 % Reepithelialisierungsgrads der SDW	69
Tabelle 21: Überblick der Ergebnisse des 50 % Reepithelialisierungsgrads der TDW	72
Tabelle 22: Überblick der Ergebnisse des 75 % Reepithelialisierungsgrads der TDW	73
Tabelle 23: Überblick der Ergebnisse des 100 % Reepithelialisierungsgrads der TDW	74
Tabelle 24: Auswahl der Subgruppen	75
Tabelle 25: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	76
Tabelle 26: Mediane Reepithelialisierungszeiten der SGDS in den vier Gruppen	79
Tabelle 27: Effekt (HR) von Insulin	79
Tabelle 28: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	79
Tabelle 29: Mediane Reepithelialisierungszeiten der SGDS in den vier Gruppen	82
Tabelle 30: Effekt (HR) von NSARs>1	82
Tabelle 31: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	82
Tabelle 32: Mediane Reepithelialisierungszeit der SGDS in den vier Gruppen	85
Tabelle 33: Effekt (HR) der Vasopressoren	85
Tabelle 34: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	86
Tabelle 35: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen	88
Tabelle 36: Effekt (HR) von Pip-Taz	89
Tabelle 37: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	89
Tabelle 38: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen	91
Tabelle 39: Effekt (HR) von Chinolonen	92
Tabelle 40: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	92
Tabelle 41: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen	94
Tabelle 42: Effekt (HR) von Sepsis auf die Reepithelialisierung der SGDS	95
Tabelle 43: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	95
Tabelle 44: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen	97
Tabelle 45: Effekt (HR) einer arteriellen Hypertonie	98
Tabelle 46: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	98
Tabelle 47: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen	100
Tabelle 48: Effekt (HR) von Insulin	101
Tabelle 49: Anzahl der Patienten mit entsprechendem Reepithelialisierungsgrad	101

Tabelle 50: Mediane Reepithelialisierungszeit in den vier Gruppen 103

Tabelle 51: Effekt (HR) von Insulin 104

6.3 Ergänzende Tabelle zu Kapitel 1.3.5

Jahr	Autor	Tier	Wundmodell	Dosierung und Dauer der EPO-Gabe Ergebnisse/ beobachtete Wirkung
1999	Fatouros (1)	Ratte	Darm-anastomosen	500 IU/kg KG s.c., 22 Tage (15 Tage prä-op. bis sieben Tagen post-op.) Verbesserte Wundzugfestigkeit, verbesserte Oxygenierung, Fibroblastenstimulation
2002	Buemi (2)	Ratte	Ischämisches Lappenmodell	300 IU/kg KG s.c., 7 Tage post-op. Anti-inflammatorisch (Neutrophilenmodulation), vasoproliferativ, Nekrosereduktion
2003	Haroon (3)	Hamster	Fibringefüllte Kammern in Subkutangewebe	10-500 IU/ kg KG topisch, 6 Tage Verbesserte Bildung von Granulationsgewebe, vermehrte Proliferation und Migration von Endothelzellen, EpoR-Expression auf Makrophagen, gesteigerte iNOS und NO-Synthese,
2003	Saray (4)	Ratte	Lappenmodell (McFarlane Typ)	50/100/150 IU/kg KG s.c., Langzeit (3 Wochen prä-op.) bzw. Kurzzeit (1 Woche post-op.) Beste Resultate bei 50/100 IU/kg KG Kurzzeit, signifikanter Hkt-Anstieg, erhöhter sys. RR unter EPO-Gabe, schlechteres Lappenüberleben bei Langzeit-Gabe
2004	Buemi (5)	Ratte	Schnittwunde und ischämisches Lappenmodell	400 IU/kg KG s.c., 10 Tage Pro-angiogenetisch (vermehrte VEGF-Expression), vermehrte Kollagenbildung
2004	Galeano (6)	Maus	Schnittwunde Diabetische Tiere	400 IU/kg KG s.c., 12 Tage Erhöhte Wundreifestigkeit, pro-angiogenetisch (vermehrte VEGF-, CD 31-Expression)
2006	Galeano (7)	Maus	Verbrennung (Grad 2b)	400 IU/kg KG s.c., 14 Tage Schnellerer Wundverschluss, verbesserte Reepithelialisierung, pro- angiogenetisch (vermehrte VEGF-, CD 31-Expression), iNOS, vermehrte eNOS und NO-Synthese
2006	Sayan (8)	Maus	Schnittwunde	500 IU/kg KG s.c., 7 Tage Erhöhte Wundreifestigkeit, vermehrte VEGF-Expression, vermehrte Kollagenbildung, verminderter oxidativer Stress
2007	Contaldo (9)	Maus	Lappenmodell (Ischämie/ Reperfusion)	5000 IU/kg KG i.p., 24h/ 1h vor induzierter Ischämie Erhaltene Kapillarperfusion (eNOS), reduzierte Inflammation (Leukozyten-Endothel-Interaktion), induzierte Angiogenese, EPOR-Expression

2008	Rezaeian (10)	Maus	Lappenmodell	500 IU/kg KG i.p., je drei Gaben prä-op./ prä- und post-op./ post-op. Pro- angiogenetisch (VEGF), anti-inflammatorisch (Leukozytenmodulation), anti-apoptotisch, prä-op.: verbesserte Kapillarperfusion (iNOS), verbessertes Lappenüberleben
2009	Sorg (11)	Maus	Tiefe dermale Wunde (Full dermal thickness wound)	400/ 5000 IU/kg KG i.p., 12 Tage post-op., 5000 IU/kg KG post-op., einmalige Gabe Dosisabhängige verbesserte Reepithelialisierung, reduzierte Wundzellularität, gesteigerte Gefäßreifung
2009	Erbayrakter (12)	Ratte	Verschiedene Wundmodelle (Lappenplastik, dermale Stanzwunde, ischämischer Ulcus, Zökumperforation)	Verschiedene Dosierungsregime Schnellerer Wundverschluss/-heilung, Anti-inflammatorische Wirkung durch reduzierte TNF α -Serumlevel
2009	Harder (13)	Maus	Muskulokutaner Lappen mit Teilnekrose	500/ 5000 IU/kg KG i.p., 24h prä-op. anschließend 3 Tage post-op. Dosisabhängige Nekrosereduktion um 10-35 % unter EPO, pro- angiogenetisch, verminderte Leukozyten-Endothel-Interaktion, verminderte Zellapoptose, Hkt-Anstieg
2009	Contaldo (14)	Hamster	Lappenmodell (Ischämie)	5000 IU/kg KG i.p., vor Ischämie-Induktion, (zusätzlich: L-NAME) Verbesserte Mikrozirkulation, verminderte Apoptose, reduzierte Inflammation (Leukozytenmodulation), NO-vermittelte Gewebeprotektion (eNOS)
2010	Hamed (15)	Ratte	Diabetische Tiere, Tiefe dermale Wunde	600/3000 IU/ml topisch, 12 Tage Verkürzung der Abheilungsdauer ab Tag 6, VEGF-Expression, anti-apoptotisch (vermehrt Bcl-x ₂ -Expression)
2010	Rezaeian (16)	Maus	Lappenmodell (Ischämie)	500 IU/ kg KG i.p., drei Gaben: 30 min prä- und 30 min/ 24 h post-op; (zusätzlich: L-NAME, Bevacizumab) Verbesserte Kapillarperfusion und Lappenüberleben (eNOS), verbesserte Angiogenese (VEGF), verminderte Zellapoptose
2011	Contaldo (17)	Maus	Subkutane Kammern (Entzündung)	1000 IU/kg KG i.p., vor TNF α -induzierte Entzündung Gewebeprotektion, anti-inflammatorisch (eNOS, anti-TNF- α), Leukozyten- und Mastzellenmodulation
2011	Hamed (18)	Maus	Diabetische Tiere, Tiefe dermale Wunde	3000 IU/ml (mit/ohne Fibronectin) topisch, 12 Tage Verkürzung der Abheilungsdauer ab Tag 4, anti-inflammatorisch (verminderte IL-1, IL-6, und TNF- α Levels in diabetischen Wunden), Granulationsgewebe (eNOS-Expression)

2012	Bader (19)	Maus	Verbrühung	400 IU/kg KG lokal s.c., 7 bzw. 14 Tage Qualitativ und quantitativ bessere Wundheilung, schnellere Reepithelialisierung, Nachweis EPOR (unabhängig von EPO-Gabe)
2012	Tobalem (20)	Ratte	Verbrennung	500 IU/kg KG i.p., 45min/ 6h nach Trauma, anschließen für 5 Tage Vom Zeitpunkt der Administration abhängige Reduktion des Nachbrennens und Reepithelialisierungszeit, vermehrte iNOS-Expression, verminderte Leukozytenanzahl
2013	Rezaeian (21)	Maus	Lappenmodell (Ischämie)	500 IU/kg KG i.p., 10x prä-op. oder 10x post-op. Vermehrte eNOS-Expression, verbesserte Angiogenese, Leukozytenmodulation, prä-op.: reduziert Nekrose, verbessert Kapillarperfusion, jede Gruppe: Hb-, Hkt-Anstieg ab Tag 10
2013	Tobalem (22)	Ratte	Verbrennung (burn comb model)	500/ 2500 IU/kg KG i.p. 45 min nach Trauma - > für 5 Tage Hkt-Anstieg ab Tag 4, Nekrosereduktion (signifikant unter EPO 500), reduziertes Nachbrennen, anti-inflammatorisch (Leukozytenmodulation), vermehrte Angiogenese (CD 31), verkürzte Wundheilung unter EPO 500
2015	Arslantas (23)	Ratte	Lappenmodell	400 IU/kg KG i.p. 10 Tage post-op. Verbesserte Wundheilung und Reepithelialisierung an Tag 5
2015	Giri (24)	Maus/ Ratte	Verbrennung	Maus: 352 IU/kg KG s.c. (via Pumpe), 7 Tage; Ratte: 150 IU/g topisch, jeden zweiten Tag für 7 Tage Verbesserste Reepithelialisierung, verbesserte Vaskularisierung, vermehrte Expression von Stammzell-Markern (CD 31, 90, 71)
2015	Irrera (25)	Maus	Verbrennung	400 IU/kg KG s.c. für 3, 6 und 12 Tage (vergleich EPO- α , Derivat EPO-Z, Placebo) Verbesserte Reepithelialisierung, pro-angiogenetisch (VEGF- und CD 31-Expression, Endothelzellproliferation)
2017	Hamed (26)	Schwein	Verbrennung	Verschiedene Gels zur topischen Anwendung: u.a. 2,000 IU/g EPO (high-dose EPO); 500 IU/g EPO (low-dose EPO); 2,000 IU/g EPO und 300 μ g/g Fibronectin jeden zweiten Tag für 14 Tage Stimulation der Angiogenese und Bildung extrazellulärer Matrix durch AQP3-abhängige Mechanismen führen zu einer schnelleren Wundheilung

Tabelle gestaltet auf Grundlagen von (27) und (28)

1. Fatouros MS, Vekinis G, Bourantas KL, Mylonakis EP, Scopelitou AS, Malamou-Mitsis VD, Kappas AM. Influence of growth factors erythropoietin and granulocyte macrophage colony stimulating factor on mechanical strength and healing of colonic anastomoses in rats. *Eur J Surg*. 1999;165(10):986-92.
2. Buemi M, Vaccaro M, Sturiale A, Galeano MR, Sansotta C, Cavallari V, Floccari F, D'Amico D, Torre V, Calapai G, Frisina N, Guarneri F, Vermiglio G. Recombinant human erythropoietin influences revascularization and healing in a rat model of random ischaemic flaps. *Acta Derm Venereol*. 2002;82(6):411-7.
3. Haroon ZA, Amin K, Jiang X, Arcasoy MO. A novel role for erythropoietin during fibrin-induced wound-healing response. *Am J Pathol*. 2003;163(3):993-1000.
4. Saray A, Ozakpinar R, Koc C, Serel S, Sen Z, Can Z. Effect of chronic and short-term erythropoietin treatment on random flap survival in rats: an experimental study. *Laryngoscope*. 2003;113(1):85-9.
5. Buemi M, Galeano M, Sturiale A, Ientile R, Crisafulli C, Parisi A, Catania M, Calapai G, Impala P, Aloisi C, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A, Tuccari G, Frisina N. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and healing of ischemic skin wounds. *Shock*. 2004;22(2):169-73.
6. Galeano M, Altavilla D, Cucinotta D, Russo GT, Calo M, Bitto A, Marini H, Marini R, Adamo EB, Seminara P, Minutoli L, Torre V, Squadrito F. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. *Diabetes*. 2004;53(9):2509-17.
7. Galeano M, Altavilla D, Bitto A, Minutoli L, Calo M, Lo Cascio P, Polito F, Giugliano G, Squadrito G, Mioni C, Giuliani D, Venuti FS, Squadrito F. Recombinant human erythropoietin improves angiogenesis and wound healing in experimental burn wounds. *Crit Care Med*. 2006;34(4):1139-46.
8. Sayan H, Ozacmak VH, Guven A, Aktas RG, Ozacmak ID. Erythropoietin stimulates wound healing and angiogenesis in mice. *J Invest Surg*. 2006;19(3):163-73.
9. Contaldo C, Meier C, Elsherbiny A, Harder Y, Trentz O, Menger MD, Wanner GA. Human recombinant erythropoietin protects the striated muscle microcirculation of the dorsal skinfold from postischemic injury in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293(1):H274-83.
10. Rezaeian F, Wettstein R, Amon M, Scheuer C, Schramm R, Menger MD, Pittet B, Harder Y. Erythropoietin protects critically perfused flap tissue. *Ann Surg*. 2008;248(6):919-29.
11. Sorg H, Krueger C, Schulz T, Menger MD, Schmitz F, Vollmar B. Effects of erythropoietin in skin wound healing are dose related. *FASEB J*. 2009;23(9):3049-58.
12. Erbayraktar Z, Erbayraktar S, Yilmaz O, Cerami A, Coleman T, Brines M. Nonerythropoietic tissue protective compounds are highly effective facilitators of wound healing. *Mol Med*. 2009;15(7-8):235-41.
13. Harder Y, Amon M, Schramm R, Contaldo C, Metzkwow E, Matzen A, Rucker M, Vollmar B, Menger MD. Erythropoietin reduces necrosis in critically ischemic myocutaneous tissue by protecting nutritive perfusion in a dose-dependent manner. *Surgery*. 2009;145(4):372-83.
14. Contaldo C, Elsherbiny A, Lindenblatt N, Plock JA, Trentz O, Giovanoli P, Menger MD, Wanner GA. Erythropoietin enhances oxygenation in critically perfused tissue through modulation of nitric oxide synthase. *Shock*. 2009;31(6):599-606.
15. Hamed S, Ullmann Y, Masoud M, Hellou E, Khamaysi Z, Teot L. Topical erythropoietin promotes wound repair in diabetic rats. *J Invest Dermatol*. 2010;130(1):287-94.
16. Rezaeian F, Wettstein R, Egger JF, Sandmann F, Rucker M, Tobalem M, Vollmar B, Menger MD, Harder Y. Erythropoietin-induced upregulation of endothelial nitric oxide synthase but not vascular endothelial growth factor prevents musculocutaneous tissue from ischemic damage. *Lab Invest*. 2010;90(1):40-51.

17. Contaldo C, Lindenblatt N, Elsherbiny A, Hogger DC, Borozadi MK, Vetter ST, Lang KS, Handschin AE, Giovanoli P. Erythropoietin requires endothelial nitric oxide synthase to counteract TNF-[alpha]-induced microcirculatory dysfunction in murine striated muscle. *Shock*. 2011;35(3):315-21.
18. Hamed S, Ullmann Y, Egozi D, Daod E, Hellou E, Ashkar M, Gilhar A, Teot L. Fibronectin potentiates topical erythropoietin-induced wound repair in diabetic mice. *J Invest Dermatol*. 2011;131(6):1365-74.
19. Bader A, Ebert S, Giri S, Kremer M, Liu S, Nerlich A, Gunter CI, Smith DU, Machens H-G. Skin regeneration with conical and hair follicle structure of deep second-degree scalding injuries via combined expression of the EPO receptor and beta common receptor by local subcutaneous injection of nanosized rhEPO. *International journal of nanomedicine*. 2012;7:1227-37.
20. Tobalem M, Harder Y, Schuster T, Rezaeian F, Wettstein R. Erythropoietin in the prevention of experimental burn progression. *Br J Surg*. 2012;99(9):1295-303.
21. Rezaeian F, Wettstein R, Scheuer C, Schenck TL, Egana JT, Machens H-G, Menger MD, Harder Y. Long-term preconditioning with erythropoietin reduces ischemia-induced skin necrosis. *Microcirculation*. 2013;20(8):693-702.
22. Tobalem M, Harder Y, Rezaeian F, Wettstein R. Secondary burn progression decreased by erythropoietin. *Crit Care Med*. 2013;41(4):963-71.
23. Arslantas MK, Arslantas R, Tozan EN. Effects of systemic erythropoietin on ischemic wound healing in rats. *Ostomy Wound Manage*. 2015;61(3):28-33.
24. Giri P, Ebert S, Braumann UD, Kremer M, Giri S, Machens H-G, Bader A. Skin regeneration in deep second-degree scald injuries either by infusion pumping or topical application of recombinant human erythropoietin gel. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9:2565-79.
25. Irrera N, Bitto A, Pizzino G, Vaccaro M, Squadrito F, Galeano M, Stagno d'Alcontres F, Stagno d'Alcontres F, Buemi M, Minutoli L, Colonna MR, Altavilla D. Epoetin Alpha and Epoetin Zeta: A Comparative Study on Stimulation of Angiogenesis and Wound Repair in an Experimental Model of Burn Injury. *Biomed Res Int*. 2015;2015:968927.
26. Hamed S, Ullmann Y, Egozi D, Keren A, Daod E, Anis O, Kabha H, Belokopytov M, Ashkar M, Shofti R, Zaretsky A, Schlesinger M, Teot L, Liu PY. Topical Erythropoietin Treatment Accelerates the Healing of Cutaneous Burn Wounds in Diabetic Pigs Through an Aquaporin-3-Dependent Mechanism. *Diabetes*. 2017;66(8):2254-65.
27. Sorg H, Harder Y, Krueger C, Reimers K, Vogt PM. The nonhematopoietic effects of erythropoietin in skin regeneration and repair: from basic research to clinical use. *Med Res Rev*. 2013;33(3):637-64.
28. Gunter CI, Rezaeian F, Harder Y, Lohmeyer JA, Egert S, Bader A, Schilling AF, Machens H-G. Erythropoietin in der Plastischen Chirurgie. *Handchir Mikrochir Plast Chir*. 2013;45(2):108-19.

7 Publikationen und Poster

Ilg F., Günter C.I., Dornseifer U., Dunda S., Grieb G., Pallua N., Mailänder P., Kestel A., Ernert C., Siemers F., Steen M., Ninkovic M., Sievers R., Reichert B., Thamm O.C., Spilker G., Schaller H.-E., Ryu S.M., Menke H., Jelkmann W., Neugebauer E., Ohmann C., Hapfelmeier A., Egert-Schwender S., Bader A., Machens H.-G.

“Subgroup analysis of regenerative effects of erythropoietin in 84 patients with burn and scald injuries”

Posterpräsentation: 16th European Burns Association (EBA) Congress, Hannover, Deutschland, 2015

Günter C.I., Machens H.-G., Ilg F.P., Hapfelmeier A., Jelkmann W., Egert-Schwender S., Giri S., Bader A., „Epo in Burns“ Study Group

„EPO in Burns“ Study Group: Dunda S., Grieb G., Wolter T., Pallua N., Namdar T., Ottomann C., von Wild T., Mailänder P., Thamm O.C., Dornseifer U., Lonc D., Ninkovic M., Siemers F., Sievers R., Reichert B., Ernert C., Steen M., Schaller H.E., Otte M., Hartmann B., Ryu S.-M., Pierson T., Ohmann C., Neugebauer E.

“A Randomized Controlled Trial: Regenerative Effects, Efficacy and Safety of Erythropoietin in Burn and Scalding Injuries”

Clinical Trial, *Frontier in Pharmacology - Pharmaceutical Medicine and Outcomes Research*, 2018, 9(951), doi: 10.3389/fphar.2018.00951

Günter C.I., Ilg F.P., Hapfelmeier A., Egert-Schwender S., Jelkmann W., Giri S., Bader A., Machens H.-G.

Relation between Gender and Concomitant Medications with Erythropoietin-Treatment on Wound Healing in Burn Patients. Post hoc Subgroup-Analysis of the Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial "EPO in Burns"

Original Research, *Front. Pharmacol. - Pharmaceutical Medicine and Outcomes Research*

Submitted on: 09. Sep 2018, Edited by: Jean-Paul Deslypere
accepted for publication (in press)

Manuscript ID: 423958

8 Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. Hans-Günter Machens, danke ich sehr für die Überlassung des außerordentlich interessanten Themas dieser Arbeit. Die Möglichkeit an der Auswertung einer so qualitativ hochwertigen und langfristig geplanten Studie, wie „EPO in Burns“, mitwirken zu können hat mich auf meinem akademischen Weg als Ärztin bereichert und mir einen tiefer gehenden Einblick in die klinische Forschung ermöglicht.

Meiner Mentorin, Frau Dr. rer. nat. Silvia Egert-Schwender, danke ich für die hilfreiche und konstruktive Begleitung während der Ausarbeitung dieser Dissertation und bei der Erstellung verschiedener Manuskripte für Vorträge und Veröffentlichungen. Ihr kritischer Blick und ihre Anregungen haben mir stets geholfen.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. med. Dr. med. univ. Christina Günter, die mich von Beginn an bei der Ausarbeitung der Dissertation betreut und beraten hat. Ihre Unterstützung reichte weit über die fachlichen Ratschläge und Supervision hinaus. In vielen Stunden wertvoller Diskussionen habe ich durch sie Freude und Begeisterung am wissenschaftlichen Arbeiten entwickelt. Ihre Expertise und klinische Erfahrung haben mir bei der Erstellung der Dissertation wesentlich geholfen. Ich werde unsere freundschaftliche Zusammenarbeit sehr vermissen.

Für die ausgezeichnete statistische Beratung danke ich Herrn Dr. rer. nat. Alexander Hapfelmeier. Die Ausarbeitung der verwendeten Methoden in dieser Arbeit hat meine Freude an der Mathematik wiederbelebt. Mein Dank gilt hier auch den Mitarbeitern des Münchner Studienzentrums. Während der Datenbankerstellung erhielt ich stets hilfreiche Antworten auf meine Fragen.

Abschließend bedanke ich mich herzlich bei meinen Eltern, meiner Schwester und meinen Freunden für ihre Ermutigungen, konstruktiven Vorschläge und Korrekturen während der intensiven Arbeitsphasen. Ihre Unterstützung hat zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

9 Lebenslauf

Wurde gemäß Promotionsordnung entfernt.