

**Aus der Universitätsfrauenklinik und Poliklinik am Klinikum Südstadt Rostock  
Direktor: Prof. Dr. med. habil. Bernd Gerber**

**Randomisierte, monozentrische, placebo-kontrollierte Studie zur  
Wundheilung nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen.  
Einfluss von Propolis als naturheilkundliches Ergänzungspräparat  
zu herkömmlichen Methoden des Wundverschlusses durch Naht.**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Universität Rostock

Vorgelegt von:

Juliane Schöler

aus Berlin

Rostock, 2021

Dekan: Prof. Dr. med. Univ. E.C. Reisinger

**Dekan: Prof. Dr. med. habil. Emil C. Reisinger**

- 1. Gutachter/in: Prof. Dr. med. K. Kraft**
- 2. Gutachter/in: PD Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter**
- 3. Gutachter/in: PD Dr. med. M. Reinhold**
- 4. Gutachter/in: Prof. Dr. med. Dipl. Chem. J. Schubert**
- 5. Gutachter/in: Prof. Dr. med. E. Güresir**

Jahr der Einreichung: 2021  
Jahr der Verteidigung: 2023

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>5</b>
1.1	PHYSIOLOGIE DER WUNDHEILUNG	5
1.2	FIBROBLASTEN	6
1.3	CHIRURGISCHE NAHT- UND KNOTENTECHNIK	7
1.4	NARBENBEURTEILUNG	9
1.5	POSTOPERATIVE WUNDHEILUNGSSTÖRUNGEN UND IHRE FOLGEN	10
1.6	PROPOLIS	12
1.6.1	<i>Propolis als Heilmittel und seine Historie</i>	12
1.6.2	<i>Chemische Zusammensetzung des Propolis</i>	13
1.6.3	<i>Biologische Effekte von Propolis</i>	13
<b>2</b>	<b>ZIELSTELLUNG</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>PATIENTEN, MATERIAL &amp; METHODEN</b>	<b>20</b>
3.1	STUDIENDESIGN	20
3.2	PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	20
3.2.1	<i>Teil 1 – Experimenteller Teil</i>	20
3.2.2	<i>Teil 2 – Klinischer Teil</i>	32
3.3	DATENERFASSUNG/MESSPARAMETER	35
3.3.1	<i>Teil 1 – Experimenteller Teil</i>	35
3.3.2	<i>Teil 2 – Klinischer Teil</i>	36
3.4	DATENMANAGEMENT UND STATISTIK	36
3.5	ETHISCHE ASPEKTE	37
3.6	SPONSOREN	37
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>38</b>
4.1	TEIL 1 – EXPERIMENTELLER TEIL	38
4.1.1	<i>HPLC</i>	38
4.1.2	<i>Zellkulturen</i>	39
4.1.3	<i>Immunhistochemische Charakterisierung der Zellen (Fibroblasten)</i>	39
4.1.4	<i>Untersuchung des Nahtmaterials</i>	41
4.1.5	<i>Resorptionsverhalten der genutzten Nahtmaterialien im Medium</i>	42
4.1.6	<i>Resorptionsverhalten der genutzten Nahtmaterialien bei Zellkontakt</i>	46
4.1.7	<i>Metabolismus der Zellen bei Nahtmaterialkontakt</i>	49
4.1.8	<i>Zusammenfassung der experimentellen Ergebnisse</i>	53
4.2	TEIL 2 – KLINISCHER TEIL	53
4.2.1	<i>Vollständige Messparameter</i>	53

4.2.2	Narbenbeurteilung.....	61
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>65</b>
5.1	DIE STANDARDISIERUNG VON PROPOLIS-TINKTUREN.....	65
5.2	KAMILLIN-TINKTUR ALS PLACEBO.....	65
5.3	DIE KORRELATION VON WIRKUNG UND KONZENTRATION .....	66
5.4	DAS EINSATZGEBIET VON PROPOLIS .....	67
5.5	ALLERGIE, KONTAKTDERMATITIS UND PROPOLIS .....	67
5.6	WUNDAUFLAGEN ALS ALTERNATIVE ZUR PERIOPERATIVEN ANTIBIOTIKAPROPHYLAXE? .....	68
5.7	ANWENDUNG DER WUNDAUFLAGE .....	68
5.8	PATIENTENKOLLEKTIV.....	69
5.9	NAHTMATERIALIEN .....	69
5.10	METHODENKRITIK .....	70
5.10.1	<i>Experimenteller Teil.....</i>	<i>70</i>
5.10.2	<i>Klinischer Teil.....</i>	<i>71</i>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>AUSBLICK.....</b>	<b>74</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>75</b>
<b>9</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>84</b>
<b>10</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>89</b>
<b>11</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>90</b>
<b>12</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>91</b>
<b>13</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>92</b>
<b>14</b>	<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG .....</b>	<b>93</b>
<b>15</b>	<b>THESEN.....</b>	<b>94</b>
<b>16</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>95</b>
16.1	ERFASSUNGSBOGEN/ UNTERSUCHUNGSBLATT .....	95
16.2	PATIENTENINFORMATION UND EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG.....	98
16.3	ANLEITUNG ZUR ANLAGE DES PROPOLIS-OKKLUSIVVERBANDES.....	100

# Einleitung

## 1 Einleitung

Ein gutes klinisches Behandlungsergebnis und eine kosmetisch ansprechende Narbe nach (wirbelsäulen-) chirurgischen Eingriffen ist maßgeblich abhängig von einem komplikationslosen Hautverschluss. Bei der Heilung einer solchen Wunde kann es zu Wundheilungsstörungen, Infektionen, Schmerzen oder auch vermehrter Narbenbildung kommen. All dies sind Faktoren, die das Behandlungsergebnis negativ beeinflussen können. In der Folge kommt es zu einer geringeren Patientenzufriedenheit sowie auch höheren Behandlungskosten. Es ist daher von Interesse, die Wundheilung nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen zu verbessern. Propolis wird schon seit der Antike in verschiedenen Gebieten der Apitherapie eingesetzt - auch zur Verbesserung der Wundheilung (Martinotti, Ranzato, 2015). Es ist somit ein möglicher Kandidat zur Behandlung von Wunden.

### 1.1 Physiologie der Wundheilung

Bei der Wundheilung sind prinzipiell zwei unterschiedliche Mechanismen zu unterscheiden, die Reparation und die Regeneration.

Während der Reparation wird defektes oder fehlendes Gewebe durch unspezifisches Bindegewebe ersetzt, welches dann vernarbt. Die Knochenheilung nimmt hier insofern eine Sonderstellung ein, da die bindegewebige Matrix später gewebespezifisch (Knochenneubildung) umgebaut wird.

Alle übrigen Wunden heilen in der Regel nach den folgenden Gesetzmäßigkeiten (Reparation), die sich wiederum von der zeitlichen Abfolge in drei Phasen der Wundheilung gliedern lassen (Henne-Bruns D, Krüger U, 2012).

Exsudationsphase (ca. 4 Tage): Im Wundbereich sind Blut- und Lymphgefäße eröffnet. Durch Blutgerinnung und Vasokonstriktion wird der Blutaustritt gestoppt. Fibrin verklebt die Wunde. Es kommt zur Bildung von Wundschorf, folglich zur Abdeckung des Wundbettes und der Freisetzung von Wachstumsfaktoren und anderen Zytokinen aus den Blutplättchen. Granulozyten und Histiozyten phagozytieren abgestorbenes Gewebe und Keime. Makrophagen setzen ebenfalls diverse Zytokine frei, die zur Induktion der nächsten Phase führen (Lüllmann-Rauch, 2009).

Proliferationsphase (ca. 21 Tage (Siewert, Stein, 2012)): Ortsständige Fibroblasten produzieren Kollagenfasern und es kommt zum Einspross von Kapillaren. Das Ergebnis ist ein zellreiches und dicht kapillarisiertes Granulationsgewebe zur Überbrückung des Wundspaltes. Die Fibroblasten ordnen sich am Wundrand an und wandeln sich zu Myofibroblasten. Diese

## Einleitung

enthalten kontraktile Elemente, welche zur Verkleinerung des Wunddurchmessers beitragen (Lüllmann-Rauch, 2009).

Regenerationsphase (ca. 3 Monate): Es kommt zur Einwanderung von Epithelzellen und zur Apoptose der Myofibroblasten. Das Granulationsgewebe wird zu mechanisch belastbarem Bindegewebe umgebaut. Nach der Vernetzung und Stabilisierung des Gewebes verbleibt eine Bindegewebsnarbe (Lüllmann-Rauch, 2009).

### 1.2 Fibroblasten

Fibroblasten (Abb. 1) sind ortsständige Zellen des Binde- und Stützgewebes.

Morphologische Kennzeichen der Zellen sind ihr gestreckter Zelleib mit langen Ausläufern.

Ihre Hauptaufgabe liegt im Stoffwechsel der Bestandteile der extrazellulären Matrix. Hierbei sind sie sowohl für die Neusynthese als auch die Überwachung des Abbaus der Matrix verantwortlich (Lüllmann-Rauch, 2009). Es handelt sich also um sehr stoffwechselaktive Zellen und somit verfügen sie auch über entsprechend zahlreiche Rezeptoren für Zytokine und Hormone. Dabei handelt es sich unter anderem um Rezeptoren für die Wachstumsfaktoren TGF- $\beta$  (Transforming growth factor  $\beta$ ), EGF (Epidermal Growth Factor), PDGF (Platelet-derived growth factor) und Hormonrezeptoren, wie dem  $\alpha$ -Estrogenrezeptor und Progesteronrezeptor (Kawahara and Shimazu, 2003). All diese Rezeptoren sind Bestandteile der aktuellen Forschung im Zusammenhang mit Fibroblasten, Zellproliferation und Wundheilung (Kawahara, Shimazu, 2003; Li, 2018).

Als modifizierter Fibroblast, dem Myofibroblast, bildet dieser aktiv extrazelluläre Matrix und hat große Ähnlichkeit mit einer glatten Muskelzelle. Er weist sowohl die für Muskelzellen typischen Myofilamente, als auch glattmuskeltypisches  $\alpha$ -Aktin und Kontraktilität auf. Diese Kontraktilität spielt eine entscheidende Rolle in der Physiologie der Wundheilung, da es durch sie zu einer aktiven Verschmälerung des Wundspaltes kommt (Lüllmann-Rauch, 2009).

Teil des passiven Stützgerüsts des Bindegewebes sind die Intermediärfilamente. Je nach Lokalisation und Ursprung gibt es bei diesen eine große biochemische Vielfalt. Zellen mesenchymaler Herkunft, wie beispielsweise Fibroblasten, sind an der Bildung der Intermediärfilamente beteiligt. Sie bilden die Vimentinfilamente. Vimentin kann somit als Marker für die Charakterisierung der Fibroblasten experimentell genutzt werden (Kühnel, 2002; Lüllmann-Rauch, 2009).

## Einleitung

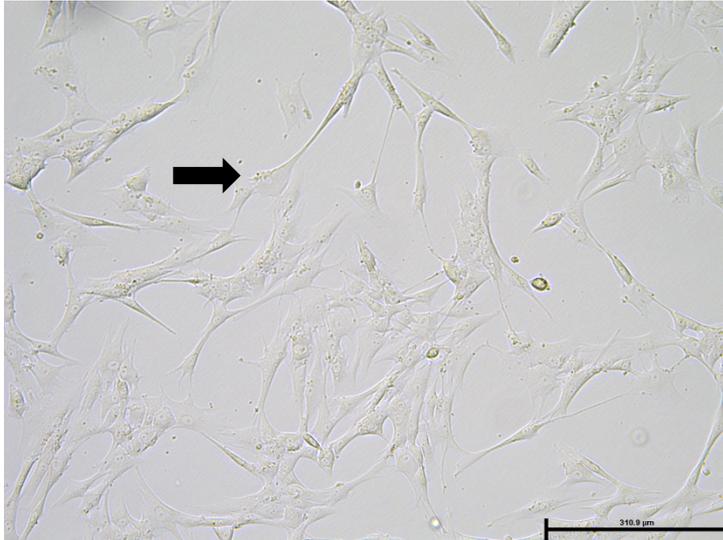


Abbildung 1 Fibroblasten 10fach vergrößert, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.

### 1.3 Chirurgische Naht- und Knotentechnik

Die chirurgische Naht- und Knotentechnik spielen beim Wundverschluss eine entscheidende Rolle. Prinzipiell können Einzelnähte, fortlaufende Nähte oder unterschiedliche medizinische Wundkleber verwendet werden.

Auch die Beschaffenheit des Nahtmaterials ist von großer Bedeutung. Im Laufe der Entwicklung wurde Nahtmaterial natürlicher Herkunft (Fäden aus Därmen von Schafen und Rindern [Catgut], Seide und Zwirn) und synthetisch hergestellte Polymere, wie u.a. Fäden aus Polyamid [Nylon, Peron], Polyolefine und Polyester verwendet. Dazu gehören auch resorbierbare Polymere auf der Basis von Polyglykolsäure nebst Stahldraht oder Hautklammern aus anorganischem Material.

Es besteht die Möglichkeit Nahtmaterial anhand seiner Stärke zu klassifizieren. Maßgeblich dabei sind je nach Land das metrische System (Normierungsvorschriften der Europäischen Pharmakopöe (EP)) oder die bis heute noch gebräuchliche Stärkebezeichnungen der United States Pharmacopeia (USP).

Als Alternative zum mechanischen Wundverschluss stehen sterile topische Hautkleber (Dermabond®, LiquiBand® etc.) zur Verfügung (Wachter *et al.*, 2010; Ando *et al.*, 2014; Ilgenfritz Neto *et al.*, 2017).

Polyhexanidhaltige Wundgels (Lavanid®) dienen als mikrobakterielle Barriere, haben eine reinigende Wirkung und befeuchten die Wunde, sodass sie als konservierender Verband zur Minimierung des Risikos der Keimverschleppung aus der Umgebung der Wunde und vor einem Keimeintritt von außen schützen (Rothenberger *et al.*, 2016).

Eine Gewebenaht soll zum einen die beiden zu vereinigenden Gewebe adaptieren und zugleich eine ausreichende Durchblutung garantieren. Optimale Bedingungen dafür herrschen,

## Einleitung

wenn die Wundränder exakt, spannungsfrei und ohne Hohlrumbildung miteinander vereint werden.

Zu unterscheiden lassen sich generell die Einzelknopf- von der fortlaufenden Naht, wobei beide Techniken ihre eigenen Vor- und Nachteile aufweisen und entsprechend ihrer Vorzüge zum Einsatz kommen.

Die Einzelknopfnaht (Abb. 2) bringt eine höhere Sicherheit mit sich und hat den Vorteil, dass sie sich partiell eröffnen lässt. Die fortlaufende Naht (Abb. 3 und 4) zeichnet sich durch ihre schnelle Durchführbarkeit und einen dichten Wundverschluss bei gleichmäßiger Verteilung der Kraftwirkung über die Wundstrecke aus (Petres, Rompel, 2008).

Bei der optimalen Nahttechnik sind die Nähte genügend weitgreifend und der Fadenabstand gleichmäßig.

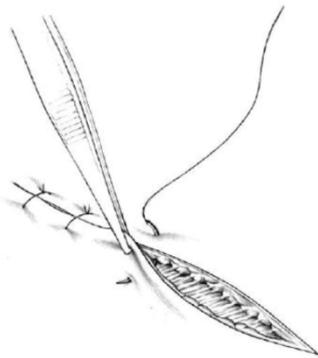


Abbildung 2 **Einzelknopfnaht**; Autor: Schumpelick et al. 2013, Operationsatlas Chirurgie 4. Auflage, Thieme Verlag.

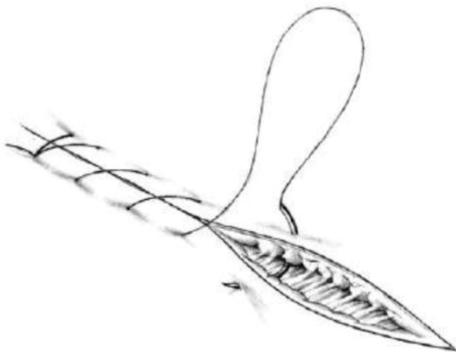


Abbildung 3 **Fortlaufende Naht**; Autor: Schumpelick et al. 2013, Operationsatlas Chirurgie 4. Auflage, Thieme Verlag.

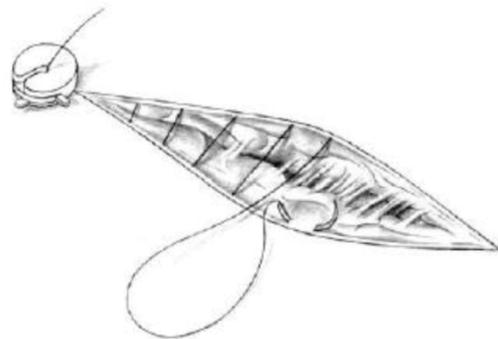


Abbildung 4 **Fortlaufende Intrakutannaht** (In dieser Studie angewendet); Autor: Schumpelick et al. 2013, Operationsatlas Chirurgie 4. Auflage, Thieme Verlag.

Trotz Anwendung einer optimalen Nahttechnik, kann durch die künstliche Verbindung der Gewebe nur ein Bruchteil der natürlichen Festigkeit erreicht werden, da sich die Kraft auf die Naht konzentriert und nicht auf das Hautfeld verteilen kann. Somit trägt auch weiterhin die Ruhigstellung der betroffenen Region zu einem besseren Ergebnis bei (Siewert, Stein, 2012).

# Einleitung

## 1.4 Narbenbeurteilung

Die subjektive und die objektive Beurteilung von Narben können auseinandergehen. Es kommt die Frage auf, wie sich eine Narbe korrekt beurteilen und ihr Zustand dokumentieren lässt.

Die Notwendigkeit eines anerkannten einheitlichen Hilfsmittels zur Beurteilung von Narben für die evidenzbasierte Medizin wurde lange von Dermatologen und plastischen Chirurgen diskutiert (Cromi *et al.*, 2010).

Zunächst entwickelte man für die Begutachtung von Verbrennungsnarben die rein objektive Vancouver Scar Scale (VSS), welche auch als Grundlage zur Beurteilung anderer Narbentypen verwendet wird (I. Stoffels *et al.*, 2010). Der Score besteht aus den vier Variablen: Vaskularität, Erhabenheit, Geschmeidigkeit und Pigmentierung. Dabei können Werte von 0 bis 14 erreicht werden, wobei 0 die normale Haut und 14 eine pathologisch veränderte Narbe darstellt. Es handelt sich derzeit um einen der meist genutzten Scar Assessment Scores (Draaijers *et al.*, 2004).

Die Symptome und der Einfluss der Narbe auf die Patientenzufriedenheit sind jedoch nicht zu vernachlässigende Komponenten, welche ein optimales Assessment erfassen sollte (Sullivan *et al.*, 1990; Mundy *et al.*, 2016).

Dazu kam es als ersten Schritt zu einer Anpassung der VSS. Die modifizierte VSS (mVSS) beurteilt somit auch subjektive Komponenten der Narbe wie Schmerz und Juckreiz (I. Stoffels *et al.*, 2010).

Weiterhin beschrieben Draaijers und Kollegen die Observer Scar Assessment Scale (OSAS), welche, wie die VSS auch, zur subjektiven Beurteilung der Narbe dient. Bei einer Vergleichsstudie zeigt sich bei der OSAS eine höhere Reliabilität, als bei der VSS (OSAS  $r=0.73$ , VSS  $r= 0.69$ ) (Draaijers *et al.*, 2004). Die OSAS stellt also ein gut geeignetes und zuverlässiges Tool zur Beurteilung von Narben dar (Draaijers *et al.*, 2004).

2004 entwickelte Draaijers *et al.* die Patient and Observer Scar Assessment Scale (POSAS), welche die subjektive Zufriedenheit des Patienten mit berücksichtigt (Cromi *et al.*, 2010; I Stoffels *et al.*, 2010). Die POSAS beinhaltet eine Beurteilung der Narbe selbst, narbenbezogener Symptome, und psychische Charakteristika der Narbe durch den Patienten, sowie eine objektive Beurteilung der Narbe durch den Arzt. Somit stellt die POSAS also eine Kombination aus den ursprünglichen Scores OSAS (Untersucher-Score) und PSAS (Patient Scar Assessment Scale) (Patienten-Score) dar (Draaijers *et al.*, 2004).

Der Arzt und der Patient beurteilen die betroffene Haut am selben Tag. Häufig gehen dabei die Wertungen durch den Arzt und den Patienten etwas auseinander. Durch den Patienten wird die Narbe meist schlechter beurteilt, als durch den Arzt. Dies kann an einer emotionalen Komponente, dem Selbstbild des Patienten oder an psychosozialen Faktoren liegen. Beispielsweise wird die Narbe bei einem Leidensdruck durch Juckreiz durch den Patienten

## Einleitung

schlechter beurteilt, als durch den Arzt, welcher dies objektiv nicht immer erfassen kann (Cromi *et al.*, 2010).

In sich zeigt die POSAS eine gute interne Konsistenz (Cronbach's  $\alpha = 0.86$  (observer),  $\alpha = 0.9$  (patient)) und Reliabilität (Gesamtscore:  $r = 0.96$ ,  $p < 0.001$ ) und beweist sich somit als geeignetes Tool (Mundy *et al.*, 2016).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es mittlerweile gute Messinstrumente zur Beurteilung von Narben gibt, die ständig weiterentwickelt werden. Den optimalen Score zu entwickeln ist jedoch noch Gegenstand der aktuellen Forschung.

Die VSS stellt ein etabliertes Tool dar, welches sich für die objektive Beurteilung einer Narbe eignet (Nedelec, Shankowsky, Tredget, 2000; Chan *et al.*, 2005; I. Stoffels *et al.*, 2010), während der PSAS der subjektiven Beurteilung der Narbe durch den Patienten dient (I. Stoffels *et al.*, 2010).

### 1.5 Postoperative Wundheilungsstörungen und ihre Folgen

Postoperative Wundheilungsstörungen und Infektionsraten nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen werden in der Literatur zwischen 0 % bis 12,7 % angegeben (Barker *et al.*, 2002; Fang *et al.*, 2005; Demura *et al.*, 2009; Pull Ter Gunne, Cohen, 2009; Wachter *et al.*, 2010; Boody *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2018).

Die Wundheilung kann durch verschiedene lokale sowie auch systemische Störfaktoren negativ beeinflusst werden.

Lokal spielt vor allem die Hypoxie eine tragende Rolle. Durch Mikro- und Makroangiopathien wird das Gewebe einem hypoxischen Milieu ausgesetzt. Unter chronisch hypoxischen Bedingungen kommt es nachweislich zu einer erniedrigten Zellproliferation, was eine verzögerte Wundheilung zur Folge hat. Weitere lokale Störfaktoren stellen Fremdkörper, Wundödeme, starker lokaler Druck und Wundinfektionen dar.

Systemisch ist unter anderem die Stoffwechsellage des Patienten für das Ergebnis ausschlaggebend.

Hierbei entscheidend ist beispielsweise der Ernährungszustand. Bei stark kachektischen Patienten kommt es, werden diese nicht präoperativ alimentär vorbereitet, häufiger zu Wundheilungsstörungen (Henne-Bruns D, Krüger U, 2012; Siewert, Stein, 2012). Bei Patienten mit einem Diabetes mellitus ist ebenfalls bekannt, dass die Rate an postoperativen Wundheilungsstörungen deutlich erhöht ist (Henne-Bruns D, Krüger U, 2012; Siewert, Stein, 2012).

Tumorpatienten nehmen hierbei noch eine Sonderstellung ein. Sie weisen zum einen häufig eine Kachexie auf, zum anderen kommt es durch den Einsatz von Zytostatika zu einer geringeren Zellproliferation, was sich auch auf die Wundheilung auswirkt (Henne-Bruns D, Krüger U, 2012; Siewert, Stein, 2012).

## Einleitung

Ähnliche Probleme zeigen auch Patienten mit medikamentöser Immunsuppression, welche ebenfalls eine verzögerte Zellproliferation aufweisen (Henne-Bruns D, Krüger U, 2012; Siewert, Stein, 2012).

Charakteristika der Wundheilungsstörungen sind nach Meseci et al. eine lokale Entzündung, eine exzessive Fibroblasten-Proliferation und anormale Ablagerungen von Proteinen der extrazellulären Matrix (Meseci et al., 2017).

Mögliche Folgen sind hypertrophe Narben (Keloide), psychische Beeinträchtigungen und vermehrte Behandlungskosten als Folge verlängerter Krankenhausaufenthalte oder Revisionseingriffe (Khasa I, Harrison B, 2016; Mundy et al., 2016; Atkinson et al., 2017; Patel et al., 2017).

Narben und Wundheilungsstörungen wirken sich also auf verschiedene Bereiche der Gesundheit aus, haben einen Einfluss auf das physische und psychische Befinden sowie die Behandlungskosten. Den Patienten interessiert vor allem das ästhetische Ergebnis und das Wohlbefinden. Das sind Aspekte, die in der plastischen Chirurgie häufig im Vordergrund stehen (Brown et al., 2008; Mundy et al., 2016).

Wirtschaftlich betrachtet stellen postoperative Wundheilungsstörungen ebenfalls ein großes Problem dar. Wenn Infektionen der Wunde auftreten, sind verlängerte Krankenhausaufenthalte und kostenintensive Folgeoperationen häufig die Folge. Patel et al. zeigten, dass es bei einer postoperativen Wundinfektion zu einer Verdopplung der anfallenden Behandlungskosten pro Patient kommt (Patel et al., 2017).

Infektionen nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen werden meist durch Staphylokokkus aureus, einschließlich der Methicillin-resistenten Form (MRSA), verursacht (Patel et al., 2017). Weitere häufige Ursachen für Wundheilungsstörungen sind folgende pathogene Keime: Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Echeria Coli und Staphylokokkus epidermidis (Berretta, Nascimento, Bueno, de Oliveira Lima Leite Vaz, et al., 2012).

Trotz des standardisierten Einsatzes von Antibiotika zur perioperativen Prophylaxe in der Wirbelsäulenchirurgie sind postoperative Wundinfektionen nicht vollkommen vermeidbar. So denn es zu einer Infektion kommt, treten diese gehäuft innerhalb der ersten 30 Tage auf (Patel et al., 2017).

Postoperative Wundinfektionen treten häufiger nach längerer OP-Dauer auf (Patel et al., 2017). Die Größe des chirurgischen Zugangs, die Lokalisation, der Einsatz von Implantaten (Fremdkörpern), sowie technisch aufwändigerer komplexere Eingriffe sind weitere Faktoren mit einem Einfluss auf die Wundheilung (Patel et al., 2017).

## Einleitung

Die Prävention und effektive Behandlung von postoperativen Wundheilungsstörungen und –infektionen sind daher unverändert von großem Interesse für die Patienten, den Therapeuten und für die Kostenträger.

### 1.6 Propolis

#### 1.6.1 Propolis als Heilmittel und seine Historie

Bei Propolis handelt es sich um ein Naturprodukt „hergestellt“ von der Honigbiene *Apis mellifera*.

Die Arbeiterbienen sammeln verschiedene pflanzliche Materialien mit ihren Hinterläufen ein, zerkauen diese und geben diesem Gemisch somit Enzyme ihres Speichels und Bienenwachs bei. Die von den Bienen dafür angeflogenen Pflanzen sind in Europa unter anderem Pappeln, Weiden, Koniferen, Birken, Ulmen, Buchen, Erlen und Rosskastanienbäume. Pappeln und Koniferen stellen jedoch die Hauptquelle des europäischen Propolis dar und sorgen für den charakteristisch hohen Gehalt an wirkungsvollen Flavonolen. Gesammelt werden von den Bienen dabei Sekrete, die aktiv von Pflanzen sezerniert und Substanzen, die aus pflanzlichen Wunden abgegeben werden. Dabei handelt es sich um lipophile Materialien auf Blättern und Knospen, Schleim, Pflanzengummi, Harze und Kautschukmilch. Nach der Verarbeitung all dieser Komponenten durch die Arbeiterbienen, kommt es somit zu der klebrigen, harzigen Masse von Propolis (Bankova, de Castro, Marcucci, 2000; Henshaw *et al.*, 2014; Martinotti, Ranzato, 2015). Eine Bienenkolonie kann auf diese Weise pro Jahr bis zu 150-200 g Propolis produzieren.



Abbildung 5 Propolis in seiner Rohform [Urheberrecht: ©photocrew - stock.adobe.com].

Seit Jahrhunderten wird Propolis als natürliches Heilmittel gegen verschiedene Beschwerden und Krankheitsbilder eingesetzt. Aufzeichnungen zufolge wurde das Bienenharz schon im

## Einleitung

alten Ägypten, in Persien und von den Römern zur Linderung vieler Beschwerden und zur Einbalsamierung verwendet.

Der Name Propolis ist nicht botanischer Natur, sondern wurde von Aristoteles geprägt. Er setzt sich zusammen aus den griechischen Worten „Pro“ (vor) und „Polis“ (Stadt) und bedeutet somit übertragen „Verteidiger der Stadt“. Davon lässt sich auch die Funktion von Propolis für die Bienenkolonien ableiten. Im Bienenstock kommt es an den inneren Wänden zum Schutz vor Eindringlingen wie beispielsweise Schlangen und Eidechsen, Witterung und zur Prävention von Pilz- und Bakterienwachstum zum Einsatz (Martinotti, Ranzato, 2015).



Abbildung 6 Handelsübliche Propolis-Tropfen; Fa. Aleavedis Naturprodukte GmbH, (PZN: 10757589).

### 1.6.2 Chemische Zusammensetzung des Propolis

Die chemische Zusammensetzung variiert je nach geographischer Lage und Bienenstamm. Hierbei spielt zum einen eine wichtige Rolle, welche Pflanzen die Biene in ihrem Einzugsgebiet anfliegen kann. Zum anderen wurden Variationen der Zusammensetzung des Propolis beobachtet, welches zwar aus derselben Region stammt, jedoch von einer anderen *Apis mellifera* Subspezies gesammelt wurde (Martinotti, Ranzato, 2015).

### 1.6.3 Biologische Effekte von Propolis

Die biologischen Effekte von Propolis und seinen Inhaltsstoffen wurden bereits in einigen Studien untersucht und belegt (Kilicoglu, Kilicoglu, Erdemli, 2008; Berretta, Nascimento, Bueno, Leite Vaz, *et al.*, 2012; Henshaw *et al.*, 2014; Pasupuleti *et al.*, 2017).

## Einleitung

Das weit gefächert Wirkspektrum von Propolis ist in erster Linie auf die Polyphenole, einer der wesentlichen Wirkstoffgruppen und Hauptbestandteil des Propolis, zurückzuführen.

Polyphenole haben durch verschiedene Mechanismen eine antioxidative Wirkung. Zum einen greifen sie an unterschiedlichen Punkten selbst in die ROS-Kaskade (reactive oxygen species) ein, welche eine wichtige Rolle sowohl in der physiologischen als auch in der pathologischen Induktion der Zellapoptose und somit im Zellzyklus spielt (Simon, Haj-Yehia, Levi-Schaffer, 2000), zum anderen zeigen sie eine synergistische Wirkung mit anderen Antioxidantien (Martinotti, Ranzato, 2015). Olczyk und Mitarbeiter postulieren, dass durch die antioxidative Wirkung von Propolis möglicherweise freie Radikale in Haut und Narbengewebe abgefangen werden, die Wundheilungsstörungen begünstigen (Olczyk, Wisowski, *et al.*, 2013). Zudem beugt Propolis der Lipidperoxidation und Zellnekrosen vor (Olczyk, Komosinska-Vassev, *et al.*, 2013; Martinotti, Ranzato, 2015).

Die stärkste antioxidative Wirkung zeigt Propolis, welches die Flavonoide Kaempferol und Kaffeesäurephenylester (CAPE) enthält (Castaldo, Capasso, 2002; Olczyk, Wisowski, *et al.*, 2013).

Die in Propolis enthaltenen Polyphenole wirken antiinflammatorisch und beeinflussen die Zellproliferation und Apoptose (hauptsächlich Kaffeesäure, Kaffeesäurephenylester, Artepillin C, Quercetin, Resveratrol, Galangin, Genistein, Apigenin), inhibieren Zykline, welche den Zellzyklus arretieren (Genistein, Quercetin, Chrysin, Apigenin, Kaempferol, Luteolin) und zeigen durch Wirkung an Estrogenrezeptoren eine antiproliferative Wirkung (Galangin, Genistein, Resveratrol) (Martinotti, Ranzato, 2015).

Eine solide Evidenz, welche die antimikrobiellen Eigenschaften von Propolis stützt, existiert bereits (Henshaw *et al.*, 2014).

In Wunden reduziert Propolis die Anzahl an Bakterien. Größtenteils geschieht dies über seine bakteriostatische Wirkung vor allem gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*. Es zeigt zudem eine große inhibitorische Wirkung gegenüber *E.Coli*, *Staphylokokkus aureus* und *Bacillus subtilis*, welche gemeinsam die häufigsten Erreger für Wundinfektionen darstellen. Zudem kommt es zu einer Inhibition der Proliferation von Viren und von Pilzen wie beispielsweise *Candida albicans* (Grange, Davey, 1990; Tosi *et al.*, 1996; Marcucci *et al.*, 2001; Miltyk *et al.*, 2014).

Es wird davon ausgegangen, dass Propolis die Wirkung systemischer Antibiotika lokal unterstützt, potenziert und besonders bei infizierten Wunden Vorteile bringt (Henshaw *et al.*, 2014). Die antimikrobielle Wirkung wird vor allem auf die Flavonoide Pinozembrin, Galangin und Pinobanksin zurückgeführt, wobei sich gezeigt hat, dass Propolis mit Pappeln als pflanzliche Quelle die effizientesten antimikrobiell, d.h. gegen pathogene Bakterien wirkt (Martinotti, Ranzato, 2015).

## Einleitung

Die antibakterielle Wirkung des Harzes zeigt sich mehr bei Gram-positiven Erregern, als bei Gram-negativen (Grange, Davey, 1990). Pinocembrin, eine Wirkstoffkomponente von Propolis, wirkt vor allem auf Streptokokken, Apigenin auf die bakterielle Glycosyltransferase und P-Coumarinsäure und Artepillin C auf *Helicobacter pylori* (Marcucci *et al.*, 2001; Martinotti, Ranzato, 2015). Zusammengefasst sind die Flavonoide des Propolis für die antibakterielle Wirkung verantwortlich. Seine Wirkung auf bestimmte Erreger variiert somit je nach Zusammensetzung dieser (Tab. 1).

Im Zusammenhang mit der Wundheilung werden Propolis antiseptische, antibakterielle, antimykotische, adstringente, spasmolytische, antientzündliche, anästhetische, antioxidative, antifungale, antiulzeröse, antikarzinogene und immunmodulatorische Effekte nachgesagt.

Es zeigt eine sehr geringe Inzidenz an Unverträglichkeiten, ist nicht toxisch und weist ein geringes Nebenwirkungsprofil auf (Rocha *et al.*, 2013; Henshaw *et al.*, 2014; Martinotti, Ranzato, 2015).

Studien zeigten, dass die lokale Applikation von Propolis die Rate der Wundheilung und Reepithelialisierung bei Nagern steigert und die Infiltration von neutrophilen Granulozyten mindert, während der Influx von Makrophagen normalisiert wird (Henshaw *et al.*, 2014; Martinotti, Ranzato, 2015).

In der initialen Phase der Wundheilung stimuliert das Bienenharz signifikant die Produktion von Komponenten der Extrazellulären Matrix, gefolgt von einer Reduktion dieser in der späteren Phase. Somit wird ein Gleichgewicht für einen regulierten Ablauf der Wundheilung geschaffen (Sehn *et al.*, 2009; Martinotti, Ranzato, 2013; Toreti *et al.*, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, Wisowski, Mencner, Stojko, Ewa M Kozma, 2014).

Eine weitere Stellschraube der Wundheilung ist die Inflammation. Es konnte in vorausgegangenen Studien (Castaldo, Capasso, 2002; Sawicka *et al.*, 2012; Kuropatnicki, Szliszka, Krol, 2013) gezeigt werden, dass der im Propolis enthaltene Kaffeesäurephenylester (CAPE) potenziell in der Lage ist, die pro-inflammatorische Matrix-Metalloproteinase 9 (MMP-9) zu hemmen, wodurch eine antiinflammatorische Wirkung erzielt wird (Castaldo, Capasso, 2002; Sawicka *et al.*, 2012; Kuropatnicki, Szliszka, Krol, 2013).

Tabelle 1 Biologische Wirksamkeit der Komponente von Propolis) zeigt eine Übersicht über die Komponenten von Propolis und ihre biologische Wirksamkeit.

Propolis ist ein nützliches Produkt und findet vor allem in der komplementären Medizin und Apitherapie breite Anwendung. Viele Patienten sind gegenüber der Anwendung von Naturprodukten, wie dem Bienenharz, aufgeschlossen. Diese weist zudem geringe Kosten auf und stört den täglichen Ablauf im Klinikalltag nicht (Henshaw *et al.*, 2014).

## Einleitung

Der Tenor in der aktuellen Literatur ist, dass Propolis zur Verbesserung der Wundheilung beiträgt (De Almeida *et al.*, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, *et al.*, 2013; Henshaw *et al.*, 2014; Olczyk, Komosinska-Vassev, Wisowski, Mencner, Stojko and Ewa M Kozma, 2014; Afkhamizadeh *et al.*, 2018; Krupp *et al.*, 2019; Mujica *et al.*, 2019). Untersucht wurde dies bereits in verschiedenen Einsatzgebieten. Besonders zum Einsatz kam Propolis bei der Therapie von diabetischen Fußulcera beim Menschen, wo es vor allem in der frühen Phase der Heilung einen Vorteil brachte (Henshaw *et al.*, 2014; Afkhamizadeh *et al.*, 2018; Mujica *et al.*, 2019). Auch bei venösen Beinulcera zeigte sich eine Verbesserung der Wundheilung durch den Einsatz von Propolis (Kucharzewski, Kózka, Urbanek, 2013a).

Des Weiteren untersuchten mehrere Arbeitsgruppen bereits seine unterstützende Wirkung der Wundheilung bei Verbrennungswunden (De Almeida *et al.*, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, *et al.*, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, Wisowski, Mencner, Stojko, Ewa M Kozma, 2014; Krupp *et al.*, 2019). Dort fand man heraus, dass Propolis im Wundbett der Verbrennungswunden die Akkumulation von Glykosaminoglykanen stimuliert, welche für die Granulation, Gewebewachstum und den Wundverschluss notwendig sind (Olczyk, Komosinska-Vassev, *et al.*, 2013).

Auch in der Zahnmedizin wurde Propolis bereits für verschiedene Einsatzmöglichkeiten untersucht (Akhavan-Karbassi *et al.*, 2016; Abbasi *et al.*, 2018; Ahangari, Naseri, Vatandoost, 2018). Hierbei ging es beispielsweise um die Verbesserung der Wundheilung bei oraler Mucositis in Folge einer Chemotherapie (Akhavan-Karbassi *et al.*, 2016), die Verbesserung der oralen Gesundheit mit unter anderem Vermeidung von Karies und Verbesserung der Wundheilung (Abbasi *et al.*, 2018). Außerdem wurde gezeigt, dass Propolis die Vitalität peridontaler ligamentärer Zellen unterstützt und die Aktivität von Osteoklasten inhibiert (Ahangari, Naseri, Vatandoost, 2018).

Alle diese Studien gehen von einer Verbesserung der Wundheilung durch Propolis aus.

Wundheilungsstörungen nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen wurden bereits in einigen Studien, z.B. (Pull Ter Gunne, Cohen, 2009; Pull Ter Gunne, Van Laarhoven, Cohen, 2010; Wachter *et al.*, 2010; Ando *et al.*, 2014; Boody *et al.*, 2015; Patel *et al.*, 2017), untersucht.

Studien zur Verbesserung der Wundheilung durch Propolis nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen wurden bisher noch keine veröffentlicht.

Fazit: Insgesamt handelt es sich bei Propolis um ein Naturprodukt mit unterschiedlichen Wirkstoffen, welches großes Potential zur Optimierung der Wundheilung nach chirurgischen Eingriffen hat. Seine medizinische Wirksamkeit konnte seit einigen Jahrzehnten erforscht und bereits in klinischen und experimentellen Arbeiten wissenschaftlich nachgewiesen werden (Tosi

## Einleitung

*et al.*, 1996; Kujumgiev *et al.*, 1999; Vynograd, Vynograd, Sosnowski, 2000; Castaldo, Capasso, 2002; Huleihel, Isanu, 2002; Scott R Gregory *et al.*, 2002; Gekker *et al.*, 2005; Nolkemper *et al.*, 2010; Berretta, Nascimento, Bueno, de Oliveira Lima Leite Vaz, *et al.*, 2012; Jastrzębska-Stojko *et al.*, 2013; Martinotti, Ranzato, 2013; Henshaw *et al.*, 2014; Takzaree *et al.*, 2016).

Tabelle 1 Biologische Wirksamkeit der Komponente von Propolis.

Biologische Wirksamkeit	Komponente	Referenz
<b>Antimikrobiell</b>	Pinocembrin, Apigenin, p-Coumarinsäure, Artepillin C, Galangin, Pinobanksin	Grange, Davey, 1990; Tosi <i>et al.</i> , 1996; Kujumgiev <i>et al.</i> , 1999; Bankova, de Castro, Marcucci, 2000; Marcucci <i>et al.</i> , 2001; FERNANDES JR. <i>et al.</i> , 2001; Castaldo, Capasso, 2002; Scott R. Gregory <i>et al.</i> , 2002; Sforcin, Orsi, Bankova, 2005; Scazzocchio <i>et al.</i> , 2006; Gonsales <i>et al.</i> , 2006; Pull Ter Gunne, Cohen, 2009; Sawicka <i>et al.</i> , 2012; Martinotti, Ranzato, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, <i>et al.</i> , 2013; Jastrzębska-Stojko <i>et al.</i> , 2013; Kuropatnicki, Szliszka, Krol, 2013; Milyk <i>et al.</i> , 2014; Olczyk, Komosinska-Vassev, Wisowski, Mencner, Stojko, Ewa M. Kozma, 2014; Henshaw <i>et al.</i> , 2014; Takzaree <i>et al.</i> , 2016; Corrêa <i>et al.</i> , 2017a
<b>Antiviral</b>	Galangin, Chrysin	Amoros <i>et al.</i> , 1992; Vynograd, Vynograd, Sosnowski, 2000; Huleihel and Isanu, 2002; Gekker <i>et al.</i> , 2005; Nolkemper <i>et al.</i> , 2010; Schnitzler <i>et al.</i> , 2010
<b>Antifungal</b>	nicht separat untersucht	Dobrowolski <i>et al.</i> , 1991; Kujumgiev <i>et al.</i> , 1999; Ota <i>et al.</i> , 2001

## Einleitung

<b>Antioxidativ</b>	Kaempferol, Kaffeesäurephenylester (CAPE)	Bankova, de Castro , Marcucci, 2000; Berretta, Nascimento, Bueno, de Oliveira Lima Leite Vaz, <i>et al.</i> , 2012; Olczyk, Wisowski, <i>et al.</i> , 2013
<b>Anti-Entzündlich</b>	Kaffeesäurephenylester (CAPE), Artepillin C, Quercetin, Resveratrol, Galangin, Genistein, Apigenin	Bankova, de Castro , Marcucci, 2000; Sehn <i>et al.</i> , 2009; Olczyk, Wisowski, <i>et al.</i> , 2013; Toreti <i>et al.</i> , 2013
<b>Anti-Tumorös</b>	Galangin,	Gwak <i>et al.</i> , 2011; Toreti <i>et al.</i> , 2013; Xuan <i>et al.</i> , 2014
<b>Wundheilungsfördernd</b>	nicht separat untersucht	Henshaw <i>et al.</i> , 2014; Martinotti, Ranzato, 2015, Sehn <i>et al.</i> , 2009; Martinotti, Ranzato, 2013; Toreti <i>et al.</i> , 2013; Olczyk, Komosinska- Vassev, Wisowski, Mencner, Stojko, Ewa M Kozma, 2014
<b>Antiproliferativ</b>	Galangin, Genistein, Resveratrol	Bankova, de Castro, Marcucci, 2000

# Zielstellung

## 2 Zielstellung

Das Ziel der Arbeit besteht darin, dass in einer klinischen Studie das Ergänzungspräparat Propolis getestet wird, um eine Weiterentwicklung in der Wundheilung zu erreichen. Der Fokus der Arbeit ist gerichtet auf eine Verbesserung der klinischen und kosmetischen Ergebnisse sowie auf die Patientenzufriedenheit, als auch die Senkung der Behandlungskosten.

Propolis ist schon seit der Antike in verschiedenen Anwendungsgebieten als Apitherapeutikum – auch bei der Behandlung von Wunden - im Einsatz (Martinotti, Ranzato, 2015).

In Kenntnis der aktuellen Literatur liegen bisher keine randomisierten, placebo-kontrollierten Studien zur Evaluation unterschiedlicher topisch applizierter Wundauflagen nach mehrschichtigem Wundverschluss bei wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen an der Brust- und Lendenwirbelsäule vor.

Diese Arbeit, eine Pilotstudie, untersucht eine naturheilkundliche Substanz (Propolis) mit Hilfe von Bindegewebszellen (Fibroblasten) in-vitro (Teil 1) und deren postoperative Anwendung in-vivo (Teil 2) im Zusammenhang mit der Wundheilung und Narbenbildung nach wirbelsäulenchirurgischen Operationen.

Man stellte die Hypothese auf, dass Propolis die Wundheilung verbessere.

Die Studie gliedert sich in zwei Teile, einen experimentellen, sowie einen klinischen Abschnitt. Der experimentelle Teil der Studie analysiert:

- 1.) Inhaltsstoffe und Eigenschaften der naturheilkundlichen topischen Substanz (Propolis)
- 2.) den Einfluss auf die Zellproliferation und -viabilität als wesentliche Voraussetzungen für eine intakte Wundheilung
- 3.) das verwendete Nahtmaterial und seine Interaktion mit den für die Wundheilung essenziellen Bindegewebszellen (Fibroblasten)

Im klinischen Teil der Arbeit wird die Frage beantwortet, ob postoperative Wundheilungsstörungen nach dreischichtigem chirurgischen Wundverschluss durch Propolis reduziert und bessere kosmetisch ansprechendere Ausheilungsergebnisse bei der Narbenbildung erzielt werden.

# Patienten, Material & Methoden

## 3 Patienten, Material & Methoden

### 3.1 Studiendesign

Es handelt sich um eine experimentelle Untersuchung mit einer randomisierten, prospektiv kontrollierten monozentrischen Studie.

### 3.2 Patienten, Material und Methoden

#### 3.2.1 Teil 1 – Experimenteller Teil

Ziel der experimentellen Studie war zunächst die Charakterisierung des verwendeten Propolis-Extraktes, gefolgt von der Untersuchung des Metabolismus der an der Wundheilung beteiligten Zellen (Zellproliferation, Zellviabilität, Zelltoxizität) in Anwesenheit von Propolis gegen eine Kontrollgruppe. Diese Untersuchung erweiterte man, indem der Metabolismus der Zellen nach Zugabe des jeweiligen Extraktes in Kombination mit dem Kontakt der Zellen zum verwendeten Nahtmaterial analysiert wurde.

Die Charakterisierung der eingesetzten Propolis-Lösung erfolgte mittels HPLC-Analyse. Zur Untersuchung des Metabolismus der Zellen während Nahtmaterialkontakts führte man zwei biologische Assays durch (CellTiter-Glo® Promega; MTT-Test Sigma Aldrich). Dabei wurde die Viabilität und Proliferation der Zellen nach Kontakt mit den Testsubstanzen und dem Nahtmaterial ermittelt.

##### 3.2.1.1 HPLC – Hochleistungsflüssigkeitschromatographie:

Zu Beginn der experimentellen Phase wurde eine qualitative Grobanalyse des Propolis mithilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) durchgeführt.

Diese rein qualitative Untersuchung des Propolis diente zum Nachweis therapeutisch wirksamer Bestandteile (Flavone).

Man verwendete hierbei ein HPLC-Gerät der Firma Knauer (Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH, Hegauer Weg 38, D-14163 Berlin). Bei der Säule handelte es sich um eine Vertex Säule (C18) mit einer Länge von 250 x 4 mm inklusive Vorsäule. Die zu untersuchenden Substanzen wurden bei dieser Methode mithilfe der Eluenten DMSO + 10 % Aqua dest. und Aqua dest. + 10 % Methanol in eine mobile Phase gebracht und mit einem Druck von 17,4 mPa bei Raumtemperatur in die C18-Säule gepumpt (Smartline Pump 1000 V 7603 10/2007).

In der Säule befand sich die stationäre Phase, hier bestehend aus einem Octadecysilan. Je nachdem, wie stark die Bestandteile der Substanz mit der stationären Phase wechselwirken,

## Patienten, Material & Methoden

verbleiben sie länger oder kürzer in der Säule, wobei der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Zurücklösung in die mobile Phase ist. Die Detektion der Retentionszeiten erfolgte durch einen UV- Detektor (254 nm) (UV Detector 2500 V7604 03/2007).

Verarbeitet wurden die Daten mit der Software ClarityChrom® V2.6.xx; V1670-2 11/2007.

Vor der Untersuchung kam es zur Verdünnung der zu untersuchenden Substanzen.

Die 15 %ige wässrige Propolis-Lösung wurde mit absolutem Alkohol auf eine Konzentration von 0,9375 % und das Placebo ebenso von einer 14,29 %igen auf eine 7,14 %ige Kamillin-Lösung verdünnt.

Um die Bestandteile qualitativ nachweisen zu können, verglich man die gemessenen Laufzeiten mit Standards, also bekannten Substanzen. Die hierbei gewählten Referenzen waren Rutin 3,05 mg/ml (gelöst in absolutem Alkohol und DMSO (1:1)), Quercetin 1,51 mg/ml (abs. Alkohol + DMSO (1:1)), Kaffeesäurephenylester 1,4 mg/ml (DMSO), Pinobanksin 1,4 mg/ml (DMSO) und Apigenin 1,4 mg/ml (DMSO).

Alle Substanzen injizierte man in jeweils zwei Läufen, um die Reproduzierbarkeit zu validieren. Vor der Injektion wurden diese stets im Wasserbad erwärmt und vermischt, um eine homogene Suspension zu schaffen. Im Falle des Placebos musste die Suspension ultraschallbehandelt und danach zentrifugiert werden (2 min, 1200 U/min, RT), um eine für die HPLC-Analyse geeignete Substanz zu schaffen.

Nach der Homogenisierung wurden pro Lauf jeweils 20 µl der zu testenden Substanz in die HPLC injiziert. Ein Lauf betrug stets 40 Minuten bei einer Flussrate von 1,0 ml/min.

### 3.2.1.2 Zellkultivierung:

Für die Untersuchungen des Propolis an Fibroblasten, wurden diese zunächst ausgesät und aufgezüchtet. Man verwendete sowohl kommerzielle Fibroblasten der Fa. PromCell, als auch primäre Zellen aus subepithelialen Geweben.

Die Zellen waren bis zum Untersuchungsbeginn bei -188 °C in einem K Series Cryostorage System in flüssigem Stickstoff gelagert. Um die Zellen zu resuspendieren und das DMSO, welches zur Lagerung zugesetzt war, auszuwaschen, versetzte man die Probe mit 10 ml DMEM +10 % FKS und durchmischte sie mit einem Vortex. Anschließend wurde die Suspension bei 1200 U/min für 6 min zentrifugiert. Nach dem Dekantieren des Überstands, versetzte man das Zellpellet mit 6 ml DMEM + 10 % FKS. Durch erneutes Durchmischen mittels Vortex vereinzelte man die Zellen wieder.

Nach der Resuspension folgte die Überführung (6 ml Zellsuspension) in Zellkulturflaschen (25 cm<sup>2</sup>). In diesen Flaschen wurden die Zellen mit Medium versorgt, um ihnen genug Nährstoffe zum Wachstum gewährleisten zu können. Durch einen Bakterienfilter (0,2 µm) war ein kontinuierlicher und physiologischer Gasaustausch stets möglich.

## Patienten, Material & Methoden

Das Nährmedium setzte sich aus Dulbecco's Modified Eagle Medium (C-C-Pro GmbH) + 4,5 g/l Glucose + L-Glutamin + 10 % Fetales Kälberserum + 625 µg Amphotericin B + 10 mg Penicillin-Streptomycin zusammen. Der pH-Wert von 7,5 wurde mit HCl eingestellt. Bei Penicillin und Streptomycin handelt es sich um Antibiotika, welche die bakterielle Besiedlung der Zellen verhindern sollen. Amphotericin B, als Fungizid, dient zur Prophylaxe eines Pilzbefalles. In Folge wurden die Zellen in einem Brutschrank bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> und wasserdampfgesättigter Atmosphäre inkubiert. Bei der regelmäßigen Zellpflege (3x wöchentlich) fand ein Mediumwechsel statt. Dabei pipettierte man das Medium in den Zellflaschen vorsichtig ab, spülte die Zellen mit 5 ml PBS, um das noch vorhandene FKS auf den Zellen zu entfernen und anschließend führte man frisches Nährmedium zu.

Je nach Entwicklungsstand und Konfluenz der Zellen wurde ein Mediumwechsel oder die Passage in eine größere Zellkulturflasche durchgeführt. Bei einer Konfluenz von 70-90 % erfolgte eine Passage der Zellen in größere Zellkulturflaschen.

Während dieses Prozesses wurde eine morphologische Verlaufsanalyse mittels Lichtmikroskopie durchgeführt und fotografisch festgehalten.

### 3.2.1.3 Zellpassage (Trypsinierung):

Zur Passage der Zellen entfernte man zunächst vorsichtig das Zellmedium aus der Kulturflasche. Die adhärennten Fibroblasten spülte man mit 5 ml PBS. Diese Spülflüssigkeit wurde verworfen.

Es folgte die Trypsinierung mit 5 ml Trypsinlösung (0,5 ml Trypsin + 4,5 ml PBS (1:10 verdünnt)). Trypsin, als Endopeptidase, löst die Peptidbindungen zwischen den Zellen und dem Zellkulturflaschenboden. Die Zellen inkubierten mit Trypsin für 2 min bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> und wasserdampfgesättigter Atmosphäre im Brutschrank.

Durch leichtes Klopfen an den Boden der Kulturflasche ließen sich nun die Zellen vorsichtig von diesem lösen. Die Reaktion der Trypsinlösung stoppte man mittels Zugabe der 1,5fachen Menge an Medium + 10 % FKS (bei 5 ml Trypsinlösung also 7,5 ml Medium / 10 % FKS). Die Zellsuspension wurde anschließend 6 min bei 20 °C und 1200 U/min zentrifugiert. Man dekantierte den Zellüberstand, löste die Zellen erneut in der entsprechenden Menge Nährmedium (hier 15 ml). Diese Zellsuspension konnte somit in eine nächstgrößere Zellkulturflasche überführt oder für den entsprechenden Versuch verwendet werden.

### 3.2.1.4 Lebendzellzählung

Um standardisierte Bedingungen in den Zellversuchen (Immunhistochemische Charakterisierung, Resorptionsverhalten mit Zellkontakt, MTT®-Assay, CellTiter-Glo®-Assay) zu gewährleisten, führte man vor Beginn dieser Versuche eine manuelle Zellzählung mit Hilfe einer Bürker-Zählkammer durch.

## Patienten, Material & Methoden

Das Zählnetz dieser Zählkammer beinhaltet 9 Großquadrate von je  $1 \text{ mm}^2$ . Diese Großquadrate sind jeweils durch Doppellinien (in  $0,05 \text{ mm}$  Abstand) in 16 Gruppenquadrate mit je  $0,2 \text{ mm}$  Seitenlänge unterteilt. Es entstehen somit Kleinstquadrate mit einer Fläche von  $0,0025 \text{ mm}^2$  (Abb. 7) (BRAND GMBH + CO KG ©, 2021).

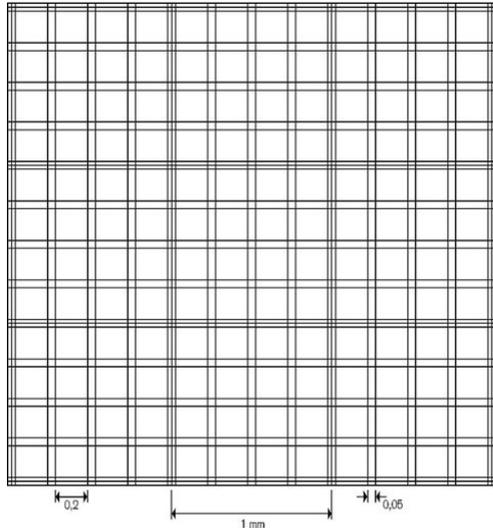


Abbildung 7 Zählnetz einer Bürker-Zählkammer zur Bestimmung der Zellzahl pro Volumeneinheit;  
Quelle: [www.brand.de/zaehlkammern](http://www.brand.de/zaehlkammern).

Zur Vorbereitung der Zellzählung überführte man  $20 \mu\text{l}$  Zellsuspension (gewonnen wie im Vorgang der Zellpassage/Trypsinierung 3.2.1.3) gemeinsam mit  $360 \mu\text{l}$  Medium + 10 % FKS in ein  $2 \text{ ml}$  Eppendorf®-Tube. Abschließend fügte man  $20 \mu\text{l}$  Trypanblau zum Anfärben der toten Zellen zur Suspension hinzu. Somit erreichte man eine Verdünnung von 1:20.

Das Trypanblau dient der Unterscheidung zwischen Lebendzellen und toten Zellen. Ist eine Zelle tot und somit seine Zellmembran beschädigt, kann der Farbstoff in die Zelle eindringen. Auf diese Weise gelang es lichtmikroskopisch gut zwischen lebenden und toten Zellen zu unterscheiden.

Es folgte die Vorbereitung der Zählkammer. Dazu wurden die Außenstege mit destilliertem Wasser befeuchtet und das Deckglas aufgeschoben. Das Auftreten von Newton'schen Ringen zwischen Außenstegen und Deckglas bestätigt dessen korrekte Lage und somit auch die korrekte Kammertiefe ( $0,1 \text{ mm}$ ) (Abb. 8 und 9).

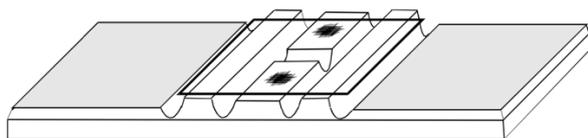


Abbildung 8 Aufbau einer Bürker-Zählkammer mit doppelem Zählnetz; Quelle:  
<https://www.marienfeld-superior.com>.

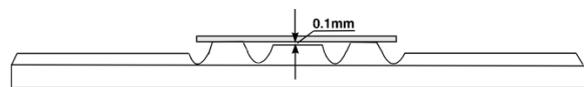


Abbildung 9 Aufbau einer Bürker-Zählkammer, Kammertiefe  $0,1 \text{ mm}$ , seitliche Ansicht;  
Quelle:  
<https://www.marienfeld-superior.com>.

## Patienten, Material & Methoden

Die Zählkammern befüllte man nun jeweils mit 10 µl der angefärbten Zellsuspension.

Mit Hilfe von Lichtmikroskopie konnten nun die vitalen Zellen in dem Bürkner-Zählnetz ausgezählt und anschließend die Zellzahl pro ml berechnet werden. Man zählte jeweils 5 x 5 Großquadrate aus.

Die entsprechende Formel für die Berechnung lautet:

$$\frac{\text{Zellen}}{\text{ml}} = \text{Zellzahl (aus 2 x 25 Quadraten)} \times 10 (= \text{Verdünnung}) \times 10^4 (= \text{Kammertiefe})$$

Um für den jeweiligen Versuch die gewünschte Zellzahl zu generieren, wurde die Zellsuspension dementsprechend verdünnt. Zählte man z.B. 4 Zellen, so entsprach dies einer Zellkonzentration von ca. 400.000 Zellen/ml. Bei einer Zielzellzahl von 100.000 Zellen/ml, z.B. zur Durchführung des MTT-Assays, musste die Suspension also im Verhältnis 1:4 verdünnt werden.

### 3.2.1.5 Immunhistochemische Charakterisierung der Zellen (Fibroblasten):

#### 3.2.1.5.1.1 *Testprinzip:*

Mit Hilfe immunhistochemischer Testverfahren können durch Antigen-Antikörper-Reaktionen Zellen charakterisiert werden. Zugegebene Antikörper binden dabei an Epitope von zellulären Antigenen. Marker, welche an den Antikörpern gebunden sind, können somit diese Epitope sichtbar machen.

#### 3.2.1.5.1.2 *Durchführung:*

Zur Charakterisierung der Fibroblasten wurden diese als Zellsuspension (300 000 Zellen/ml) in 12er-Well-Platten (300 µl/Well) überführt und dort für die immunhistochemische Untersuchung weiter kultiviert (48-72 h im Brutschrank bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> und wasserdampfgesättigter Atmosphäre). Nach Ausdifferenzierung der Zellen folgte die Immunhistochemie. Die Nachweisführung von Vimentin, α-Estrogenrezeptoren, Progesteronrezeptoren und eines Leerwertes erfolgte mittels Peroxidase-anti-Peroxidase-Technik (PAP).

Hierzu wusch man die Zellen zunächst in den Wells mit PBS (300 µl/Well, 3 x jeweils ca. 1 min) und danach fixierten sie anschließend mit 300 µl Formafix 4 % (30 min, RT). Nach erneutem Waschen der Zellen mit PBS (300 µl/Well, 3x jeweils ca. 1 min) kam es zu einer Inkubation mit 0,3 %igem Wasserstoffperoxid zur Blockade der endogenen Peroxidase. Hiermit werden falsch positiver Resultate durch endogene Enzymaktivität vermieden.

Als nächster Schritt inkubierte man die Zellen mit 200 µl Horse Serum pro Well (20 min RT). Dieses Serum verfügt über eine suffiziente Quantität endogener Proteine und sättigt, sowie

## Patienten, Material & Methoden

blockiert somit unspezifische Bindungsstellen der fixierten Zellen. Anschließend entfernte man das Horse Serum wieder; außer bei den Wells, welche die Negativproben, sprich den Leerwert, enthielten.

Folgend wurden 100 µl Antikörper-Lösung, welche man nach Vorschrift des Herstellers verdünnte (Tabelle 2 Verwendete Antikörper zur IHC-Untersuchung.), in die jeweiligen Wells pipettiert und die Zellen über Nacht im Kühlschrank bei 6 °C inkubiert. Zur Erstellung des Leerwertes fügte man einem Well keinen Antikörper hinzu.

Nachgewiesen werden sollten die Rezeptoren für Progesteron, Vimentin und  $\alpha$ -Estrogenrezeptoren.

Tabelle 2 Verwendete Antikörper zur IHC-Untersuchung.

	<i>Progesteron</i>	<i>Vimentin</i>	<i><math>\alpha</math>-Estrogen-Rezeptor</i>
<i>Hersteller</i>	Biorbyt	Dako	Biorbyt
<i>Produktbezeichnung</i>	PR Antibody orb178489	Ready-to-use N-Series Primary Antibody Code N1521	ER Antibody orb178430
<i>Wirt</i>	Hase	Maus	Hase
<i>Klonalität</i>	Monoklonal	Monoklonal	Monoklonal
<i>Verdünnung</i>	1:200	keine	1:200
<i>Isotyp</i>	IgG	IgG	IgG

Am Folgetag spülte man die Zellen erneut mit PBS (3x mit jeweils 300 µl PBS pro Well für ca. 1 min), nachdem der primäre Antikörper entfernt wurde.

Es folgte die Inkubation der Zellen mit jeweils 200 µl des sekundären Antikörpers (ImmPRESS™ UNIVERSAL REAGENT Anti-Mouse/Rabbit IgG) pro Well bei Raumtemperatur nach Vorschrift des Herstellers. Nach der Inkubation und erneuten Spülung der Zellen mit PBS (3x mit jeweils 300 µl PBS pro Well für ca. 1 min), erfolgte eine chemische Reaktion mittels LinRed, 200 µl/Well für 5-10 min in Dunkelheit, welche mit einem roten Farbumschlag einhergeht.

Die Reaktion wurde mit Leitungswasser gestoppt (300 µl/Well) und es erfolgte anschließend eine fotografische Dokumentation der Reaktion.

## Patienten, Material & Methoden

### 3.2.1.6 Untersuchung des Nahtmaterials:

#### 3.2.1.6.1 Lichtmikroskopie

Untersucht wurden die Fäden SERAFIT® 3/0, SERAFIT® 0 und SERAFIT® 1 der Firma Serag-Wiessner GmbH & Co. KG.

Vor Beginn der Untersuchungen des Nahtmaterials fertigte man mittels Digitalmikroskopie (Digitalmikroskop Leica DVM6, Leica Microsystems) bei 150 bzw. 180facher Vergrößerung Aufnahmen der verwendeten Fäden an.

#### 3.2.1.6.2 Resorptionsverhalten in Medium

Bei allen drei verwendeten Fäden handelt es sich laut Hersteller um resorbierbares Nahtmaterial. Um dies zu testen, wurden die Fäden in 2 cm langen Stücken in 6er Well-Platten mit handelsüblichem Alleskleber (UHU „Der Alleskleber“) fixiert (jeder Faden dreifach, je ein Faden pro Well) und mit 3 ml Medium (Dulbecco's Modified Eagle Medium (C-C-Pro GmbH), 4,5 g/l Glucose, L-Glutamin, alle Zusätze, 10 % FKS, pH 7,5) bedeckt. Die Platten wurden bei 37 °C, 5,0 % CO<sub>2</sub> und wasserdampfgesättigter Atmosphäre inkubiert und die Entwicklung wöchentlich mittels Lichtmikroskopie kontrolliert und dokumentiert (AxioCamMR3, 10x Vergrößerung).

#### 3.2.1.6.3 Resorptionsverhalten der Nahtmaterialien mit Zellkontakt

Es wurde zum einen eine Stoffwechselanalyse der Zellen nach 1-wöchigem Kontakt der Zellen mit dem Nahtmaterial, sowie zum anderen eine lichtmikroskopische Fotodokumentation des Wachstumsverhaltens der Zellen sowie des Resorptionsverhaltens der Fäden durchgeführt. Gegenstand der Untersuchung waren der Glucosegehalt, pH-Wert und Lactat-Wert des Mediums. Laktat nutzte man als Marker der Stoffwechselaktivität, welches beim Abbau der Fäden von den Fibroblasten produziert wird.

Hierzu bestückte man jeweils drei 12er-Well-Platten mit allen 3 zu untersuchenden Fäden (SERAFIT® 3/0, SERAFIT® 0 und SERAFIT® 1 der Firma Serag-Wiessner GmbH & Co. KG). Die Fäden schnitt man auf eine Länge von 2 cm zu und fixierte sie jeweils an deren Enden mit handelsüblichem Alleskleber (UHU „Der Alleskleber“) am Boden der Wells. Der Kleber härtete unter UV-Licht aus. Pro Well fügte man anschließend 2 ml Zellsuspension (100.000 Zellen/ml) hinzu.

Nach einer Woche fand ein halber Mediumwechsel statt. Dazu wurde 1 ml Medium pro Well abpipetiert und in ein Eppendorf-Tube überführt. Das entnommene Medium untersuchte man bezüglich seines pH-Wertes, Glucosegehaltes und Lactat-Wertes.

Den Wells fügte man jeweils 1 ml frisches Medium zu. Diesen halbe Mediumwechsel führte man wöchentlich, bis Ende der 3. Woche durch. Die Untersuchung von Glucosegehalt, Lactat- und pH-Wert fand ausschließlich nach der ersten Woche statt. Es erfolgten regelmäßige

## Patienten, Material & Methoden

lichtmikroskopische Fotodokumentationen der Fäden mit Zellkontakt.

### 3.2.1.7 Metabolismus der Zellen während Nahtmaterialkontakts:

Zur Untersuchung des Metabolismus der Zellen während der Nahtmaterialkontakte wurden zwei biologische Assays durchgeführt – das MTT-Test-Assay und das CellTiter-Glo®-Assay. Dabei ermittelte man die Viabilität und Proliferation der Zellen nach Kontakt mit den Testsubstanzen und dem Nahtmaterial.

Dazu überführten wir die Fibroblastensuspension (MTT-Assay: 100.000 Fibroblasten/ml, 100 µl /Well; CellTiter-Glo®-Assay: 300.000 Fibroblasten/ml, 100 µl /Well) in 96er-Well-Platten. In diesen Platten wurden Reihen mit dort platziertem (hier nicht fixiert), auf ca. 6 mm Länge zugeschnittenem, Nahtmaterial vorbereitet.

#### 3.2.1.7.1 MTT-Assay:

Zur Bestimmung der Zytotoxizität führte man einen MTT-Test der Fa. Sigma Aldrich durch.

##### 3.2.1.7.1.1 Testprinzip:

Dieser Test quantifiziert die Fähigkeit der Zelle zum Metabolismus und lässt somit Rückschlüsse auf dessen Proliferation, Viabilität und damit auch auf die Zytotoxizität des eingesetzten Extraktes zu (Gareis, 2006; Roche Diagnostics GmbH, 2016).

Grundprinzip des Tests ist die kolometrische Reaktion von MTT in der Zielzelle. MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazoliumbromid) ist membrangängig und wird von der Zelle aufgenommen. Dort wird es durch intrazelluläre Reduktasesysteme von dem vorerst gelben MTT in violette Formazankristalle umgesetzt. Diese Reduktion ist ein Maß für den Redox-Status einer Zellpopulation und läuft nur in lebenden Zellen ab. Somit können Rückschlüsse auf die Viabilität oder metabolische Aktivität der Zelle getroffen werden (Gareis, 2006; Roche Diagnostics GmbH, 2016).

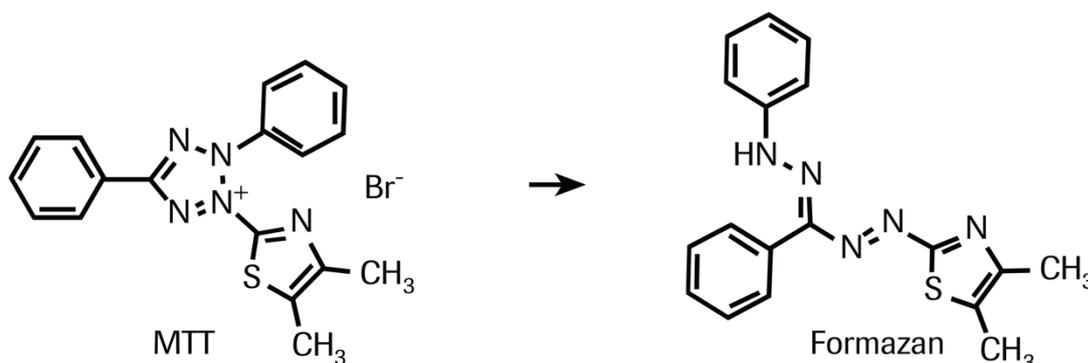


Abbildung 10 Metabolisation von MTT zu Formazan; Quelle: Testkitbeschreibung MTT-Test Roche GmbH.

## Patienten, Material & Methoden

### 3.2.1.7.1.2 Durchführung:

Zur Durchführung des MTT-Tests, wurde eine Zellsuspension mit 100.000 Fibroblasten/ml Suspension hergestellt. 100 µl Zellsuspension wurden pro Well ausgesät, die betroffenen Wells versah man vorher mit dem jeweiligen zu testenden Faden. Die Fäden entfernte man nach 3 Tagen Zellkontakt und vor Durchführung des MTT-Assays. Als Kontrollen wurden Estradiol (2,7 µg/µl; 1 µl/Well) (Positivkontrolle), Endoxifen (6,2 µg/µl; 1 µl/Well) und Tamoxifen 5,6 µg/µl; 1 µl/Well) (Negativkontrollen) verwendet (Abb.11).

Als Extrakte wurden Propolis (alkoholischer Propolis-Extrakt (0,1%), aufgrund besserer Löslichkeit abweichend von der klinischen Studie), das Placebo (Kamillin-Lösung (1 %)) und als Leerwert DMEM + 10 % FKS-Medium verwendet.

Den MTT Test führte man nach Vorgaben des Herstellers (Roche) durch mit jeweils drei 96er-Mikrotiter-Well-Platten pro Extrakt. Die Auswertung erfolgte mittels ELISA-Prinzip am Plattenreader von BIO-RAD.

## Patienten, Material & Methoden

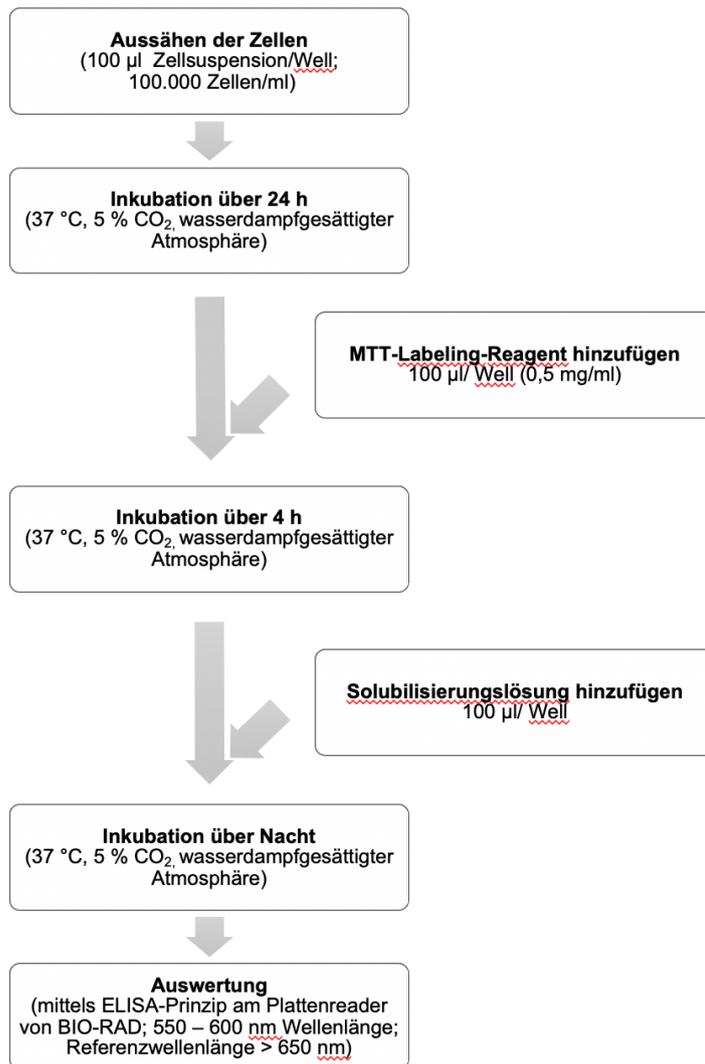


Abbildung 11 Fließschema: Testprinzip MTT-Assay Fa. Sigma Aldrich.

### 3.2.1.7.2 CellTiter-Glo®-Assay:

Als weiteren Test zur Viabilität und Zytotoxizität wurde der CellTiter-Glo®-Test der Firma Promega durchgeführt.

#### 3.2.1.7.2.1 Testprinzip:

Durch den ATP-Gehalt metabolisch aktiver Zellen, welcher mittels Luciferasereaktion bestimmt wird, kann auf die Viabilität der Zellen geschlossen werden (Moritz, Hanke, Kofer, 2012).

Während der Luciferasereaktion kommt es zur Umsetzung von Luciferin und in den Zellen enthaltenem ATP zu Oxyluciferin. Durch das CellTiter-Glo®-Reagenz werden die Zellen lysiert

## Patienten, Material & Methoden

und das in ihnen enthaltene ATP für die Reaktion freigesetzt. Das nun durch die Luciferasereaktion entstehende Lichtsignal verhält sich proportional zu der Menge an umgesetztem Luciferin, an freigesetztem ATP und somit auch zu der Anzahl an vitalen Zellen (Abb. 12).

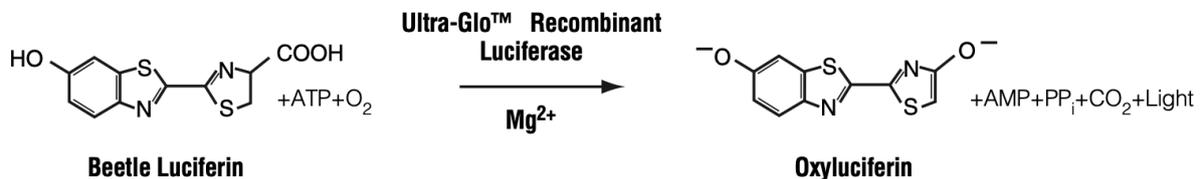


Abbildung 12 Luciferasereaktion im CellTiter-Glo®-Assay; die Mono-Oxygenierung von Luciferin wird in Anwesenheit von Mg<sup>2+</sup>, ATP und molekularem Sauerstoff katalysiert; durch die Reaktion entsteht ein Lichtsignal; Quelle: Promega CellTiter-Glo®-Testkitbeschreibung.

### 3.2.1.7.2.2 Durchführung:

Die Durchführung des Tests erfolgte mit einer Zellsuspension von 300.000 Fibroblasten/ml Suspension.

100 µl Zellsuspension wurden pro Well ausgesät. Die betroffenen Wells versah man vorher mit dem jeweiligen zu testenden Faden. Diesen entfernte man nach 3 Tagen Zellkontakt und vor Durchführung des CellTiter-Glo®-Assays. Als Kontrollen wurden Estradiol (2,7 µg/µl; 1 µl/Well) (Positivkontrolle), Endoxifen (6,2 µg/µl; 1 µl/Well) und Tamoxifen (5,6 µg/µl; 1 µl/Well) (Negativkontrollen) verwendet.

Als Extrakte verwendete man Propolis (alkoholischer Propolis-Extrakt (0,1 %) aufgrund besserer Löslichkeit abweichend von der klinischen Studie), das Placebo (Kamillin-Lösung (1 %)) und als Leerwert DMEM + 10 % FKS-Medium.

Der CellTiter-Glo® Test wurde nach Vorgaben des Herstellers (Promega) mittels Lumineszenz durchgeführt, mit jeweils drei 96er-Mikrotiter-Well-Platten pro Extrakt. Die Auswertung erfolgte mittels ELISA am GloMAX® von der Fa. Promega (Abb. 13).

## Patienten, Material & Methoden

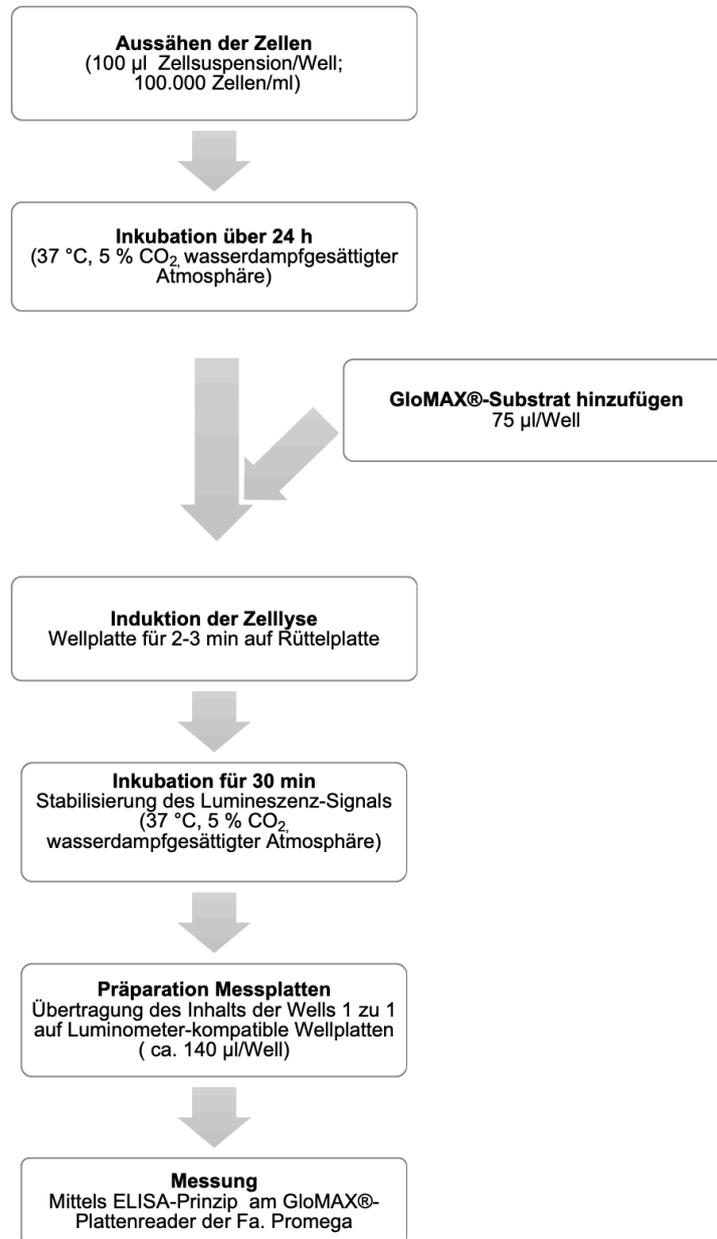


Abbildung 13 Fließschema: Testprinzip des CellTiter-Glo®-Assays, Fa. Promega.

## Patienten, Material & Methoden

### 3.2.2 Teil 2 – Klinischer Teil

Erfasst wurden insgesamt 33 konsekutive Patienten nach offenen chirurgischen Primäreingriffen an der Brust- und Lendenwirbelsäule, welche man alternierend durch eine permutierte Blockbildung mit variabler Blocklänge (Schulz KF, 2007) zwei Gruppen zuordnete. Es befanden sich n=17 Patienten in der Propolis- und n=16 Patienten in der Placebo-Gruppe.

Mit Hilfe des Krankenhausinformationssystems (KIS) und Bildverarbeitungssystems (PACS) wurden klinische Parameter entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien erfasst.

Die Auswertung der postoperativen Heilergebnisse erfolgte mit Hilfe validierter Scores durch einen unabhängigen, an der Primärbehandlung (Wirbelsäulenchirurgie) unbeteiligten Studienmitarbeiter. Betreut wurde diese Studie von dem aktuell fortgebildeten und lizenzierten Prüfarzt PD Dr. med. habil. Maximilian Reinhold (Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität).

In die Studie eingeschlossen wurden ausschließlich erwachsene, mündige Patienten vom 18. bis 85. Lebensjahr, bei denen eine operationspflichtige Erkrankung der Brust- und Lendenwirbelsäule mit Notwendigkeit für eine elektive Operation bestand.

Minderjährige (<18 Jahre) und nicht einwilligungsfähige, erwachsene Patienten wurden ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren das Bestehen eines Diabetes mellitus (mit Hämoglobin A1c > 6%), einer systemischen Grunderkrankung (z.B. Infekt, Tumor), einer Cortison- oder immunsuppressiven Therapie (z.B. bei Autoimmunerkrankungen) einer bekannten Allergie oder Überempfindlichkeit auf Nahtmaterial oder Propolis und Patienten mit bekannter Keloid-Bildung.

Als Abbruchkriterium galt für die einzelnen Studienteilnehmerinnen/ -teilnehmer eine neu aufgetretene Unverträglichkeit auf Propolis, sowie eine revisionspflichtige Wundheilungsstörung unklarer Genese.

Die OP-Vorbereitung beinhaltete das Vorreinigen der Haut mit Alkoholtupfern, mehrfaches typisches steriles Waschen und das Abkleben mit loban-OP-site-Folie. Es folgte eine standardisierte intrakutane Instillation von Lokalanästhetikum mit Epinephrin (1:200.000) und eine Hautinzision mit chirurgischem Skalpell. Die Blutstillung gewährleistete man mit einer gezielten Koagulation mit bipolarer Pinzette. Die Wundränder wurden alle 20 min angefeuchtet. Alle Operationen und der Wundverschluss führte standardisiert stets derselbe Operateur durch.

Der dreischichtige Wundverschluss bestand aus Einzelknopfnähten der thorakolumbalen Faszie mit einem gefärbten, geflochtenen, beschichteten und resorbierbaren Nahtmaterial der Stärke USP 1 (SERAFIT®), eine fortlaufende Subkutannaht mit einem gefärbten,

## Patienten, Material & Methoden

geflochtenen, beschichteten und resorbierbaren Nahtmaterial USP 0 (SERAFIT®), einer intrakutan fortlaufenden Naht mit einem ungefärbten, monofilen, beschichteten und resorbierbaren Faden der Stärke USP 3-0 (SERAFIT®) und dem Verband gemäß der Randomisierung in eine der Gruppen 1 oder 2.

Zur Vermeidung postoperativer Serom-/Hämatomentstehung legte man in allen Behandlungsgruppen mindestens eine subfasziale Redondrainage, deren Liegedauer und Fördermenge bis man zu dessen Entfernung dokumentierte. Im Falle einer oberflächlichen Wundheilungsstörung wurden Patienten mit einem Polyhexanid-haltigem Wundgel (Lavanid®) bis zum Abschluss der sekundären Wundheilung weiterbehandelt oder erhielten eine operative chirurgische Wundrevision bei tiefen Wundheilungsstörungen oder Infekten. Diese Patienten schloss man anschließend von der Studie aus.

Bei dem verwendeten Verband handelte es sich um einen Okklusivverband mit feuchter Kompresse. Hierbei deckte man die Wunde mit sterilen Gazin® Mullkompressen (2-lagig) ab, welche in **Gruppe 1 mit Propolistropfen** und in **Gruppe 2 mit Placebotropfen** getränkt waren. Anschließend applizierte man einen OPSITE FLEXIFIX® Folienverband zum Wundverschluss (Okklusivverband). Pro 5 cm Wundlänge kamen 35 Tropfen Propolis- oder Placebo-lösung zur Anwendung (Anhang 15.3 Anleitung zur Anlage eines Propolis-Okklusivverbandes, S. 100).

Die Dokumentation des Operationsverlaufs erfolgte gemäß dem Erfassungsbogen (Anhang 15.1 Erfassungsbogen / Untersuchungsblatt, S. 95-97).

Es fand eine standardisierte Fotodokumentation der Wunde zu zwei Zeitpunkten, unmittelbar postoperativ (im Operationssaal) und zur Nachuntersuchung in der 13. postoperativen Woche statt. Die Fotodokumentation führte man bei gleichen Lichtverhältnissen und gleicher Konfiguration der Fotokamera (Aufnahmemodus, Weißabgleich, Verschlusszeiten) und gleichem Abstand zur Hautoberfläche durch.

Die Propolistropfen bezog man über die Hausapotheke des Klinikums Südstadt von der Firma Aleavedis Naturprodukte GmbH (PZN: 10757589). Es handelt sich um eine 15 % wässrige, alkoholfreie Lösung, die als Wirkstoff pro 1 ml Lösung 150 mg Propolis enthält. Als Hilfsstoffe sind gereinigtes Wasser und Propylenglycol zu nennen.

Propolis ist ein Naturprodukt, welches in einer Vielzahl von Anwendungsgebieten zu finden ist. Es kommt sowohl als Kosmetikum, als Nahrungsergänzungsmittel also auch als Homöopathikum zum Einsatz. Es gilt wie auch Honig, Gelée Royale und Pollen als Apitherapeutikum, jedoch nicht als Arzneimittel.

## Patienten, Material & Methoden

Die Placebo-Lösung wurde in der Krankenhausapotheke eigens hergestellt und für die Anwendung im Rahmen der Studie bereitgestellt.

Es handelt sich dabei um eine 1:7 verdünnte Kamillin-Lösung (14,29 %). Demnach enthält das Placebo pro 60 ml Lösung 8,58 g Kamillin-Konzentrat (8,22 g Kamillin-Auszug, 6,68 Vol. % Ethanol) und 51,42 g Aqua conservata (enthält gereinigtes Wasser, Propylhydroxybenzoat (12,8 mg) und Methylhydroxybenzoat (38,6 mg)).

Bei dem Kamillin-Konzentrat handelt es sich um ein nichtverschreibungspflichtiges pflanzliches Arzneimittel, welches, wie vorangehend beschrieben, in dieser Studie verdünnt verwendet wurde.

Laut Aussage des leitenden Krankenhausapothekers war bei der geringen Konzentration des Kamillin-Konzentrats eine Wirkung auf die Fibroblasten, bezüglich der Wundheilung, aus pharmakologischer Sicht auszuschließen.

Die Propolis- und Placebo-Lösungen wurden für jeden Patienten nach entsprechender Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung zur Studienteilnahme verblindet in einheitlichen Tropfampullen bereitgestellt und während des Krankenhausaufenthaltes einmal täglich bei den Verbandswechseln von den behandelnden Ärzten und Pflegepersonal nach Anleitung aufgetragen.

Die Zuteilung der Patienten und dessen Überwachung erfolgte durch die Studienleitung.

Niemand außer der Studienleitung setzte man somit davon in Kenntnis, welche Behandlung (ob Propolis oder Placebo) der Proband erhielt. Die Kriterien der doppelten Verblindung wurden eingehalten und umgesetzt.

Nach der Entlassung aus der stationären Behandlung gab man den Studienteilnehmerinnen/-teilnehmern die jeweiligen Lösungen in ausreichender Menge für eine Anwendungsdauer von insgesamt 30 Tagen ab OP mit.

Zur korrekten Anwendung wies man entweder Angehörige in den Verbandswechsel ein oder gab den Patienten die genaue Anleitung und das Material für den weiterbehandelnden Hausarzt oder Pflegepersonal mit (Anhang 15.3; Anleitung zur Anlage des Propolis-Okklusivverbandes, S.100).

Der Heilungsverlauf, mögliche Komplikationen und das kosmetische Ergebnis (Narbenbildung) wurden in der 13. postoperativen Woche nachuntersucht, mit Hilfe validierter Scores (modifizierter Vancouver Scar Scale (VSS) (I. Stoffels *et al.*, 2010) und Patient Scar Assessment Scale (PSAS) nach Draaijers (Draaijers *et al.*, 2004)) evaluiert und vom Patienten und Prüfarzt beurteilt.

## Patienten, Material & Methoden

Die objektive Beurteilung der Narbe erfolgte durch den Prüfarzt mittels modifizierter Vancouver Scar Scale (VSS) (I. Stoffels *et al.*, 2010).

Das subjektive Ergebnis und somit die Patientenzufriedenheit erfasste man mit dem Patient Scar Assessment Scale (PSAS) nach Draaijers (Draaijers *et al.*, 2004) erfasst. Die Narbe am Rücken wurde dem Patienten dazu mit Hilfe eines Spiegels oder Kamerabildes sichtbar gemacht.

Die modifizierte Vancouver Scar Scale beinhaltet als Beurteilungsskala 4 Variablen: Vaskularität, Erhabenheit (Narbendicke), Pigmentierung und Geschmeidigkeit der Narbe. Jede Variable beurteilt man von 0 bis 5 Punkte, wobei 0 die normale Haut repräsentiert. Die Summe der addierten Punktwerte ergibt das Gesamtergebnis des Scores (0-14 Punkte).

Die Patient Scar Assessment Scale beinhaltet 6 Variablen: Narbenspezifischer Schmerz, Juckreiz, Farbe der Narbe, Konsistenz (Steifheit) der Narbe, Narbendicke und Unregelmäßigkeiten der Narbe. Jede Variable wird von 1 bis 10 Punkte beurteilt, wobei 1 die normale Haut repräsentiert. Die Summe der addierten Punktwerte ergibt das Gesamtergebnis des Scores (6-60 Punkte).

Sekundäre Behandlungsergebnisse umfassten gemäß Erfassungsbogen die OP-Dauer, Blutverlust, Fördermenge der Redondrainage/n, Krankenhausaufenthaltsdauer, Wundinfektionen, Allgemeinzustand des Patienten (mittels ASA-Klassifikation und Karnowsky-Index) und mögliche Komplikationen im Zusammenhang der Wundheilung (Wunddehiszenz, Wundhämatom, Serombildung) (Anhang 15.1 Erfassungsbogen/ Untersuchungsblatt, S. 95-97).

### 3.3 Datenerfassung/Messparameter

#### 3.3.1 Teil 1 – Experimenteller Teil

Die mittels HPLC erworbenen Daten wurden mit Unterstützung von Prof. Dr. Udo Jeschke (Forschungslabor der Frauenklinik, Universitätsmedizin München) anhand von Referenzdaten ausgewertet.

Die Untersuchung des Nahtmaterials, sowie die immunhistochemische Charakterisierung der Fibroblasten führte zu einer optischen Auswertung.

Die Ergebnisse des Metabolismus der Zellen – MTT-Test sowie CellTiter-Glo, wurden in Excel tabellarisch erfasst und statistisch mithilfe von IBM SPSS statistics 25 ausgewertet. Hierbei kam es zunächst zu einer rein deskriptiven statistischen Auswertung. Anschließend wurden die erhobenen Werte mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests einer Stichprobe (optimiert nach Lilliefors) auf Normalverteilung (NV) geprüft. War das Modell der NV nicht anwendbar ( $p$ -Wert  $< 0,05$ ), wurde der Mann-Whitney-U-Test (MWU-Test) als nichtparametrisches Verfahren zum Mittelwertvergleich zweier unabhängiger Gruppen genutzt. Bei Gruppengleichheit wählte man

## Patienten, Material & Methoden

den t-Test für unabhängige Stichproben als parametrisches Verfahren aus. Das Signifikanzniveau lag jeweils bei  $p < 0,05$ . Wurde dies unterschritten, wurde die Nullhypothese ( $H_0$ ) der Gruppengleichheit verworfen und alternativ von einem Unterschied der Gruppen ausgegangen.

### 3.3.2 Teil 2 – Klinischer Teil

Mit Hilfe eines Erfassungsbogens (Anhang 15.1 Erfassungsbogen/ Untersuchungsblatt, (S. 95-97)) hielt man relevante klinische Befunde und Diagnosen fest. Unter Einsatz dieses und des Krankenhausinformationssystems (KIS) wurden patientenspezifische Daten systematisch mittels Microsoft Excel tabellarisch erfasst und anschließend statistisch mithilfe von IBM SPSS Statistics 25 ausgewertet.

Zusätzlich festgehaltene und errechnete Daten umfassten Geschlecht, Alter, Body mass index (BMI), Raucherstatus (in PY), präoperative Laborwerte (Blutbild, Entzündungsparameter) und Nebendiagnosen der Patienten.

Neben der üblichen intraoperativen Routinedokumentation (OP-Bericht, BV-Bilder, Materialliste) bestimmte man die Lokalisation / Region (BWS, LWS), Level (T1-S1), OP-Umfang (Anzahl der operierten Wirbelkörper/ Bewegungssegmente), Diagnose (Art), Antibiotika-prophylaxe (ja/nein), OP-Dauer, Blutverlust (ml), Inzisionslänge (cm), prä-/postoperative Laborwerte (Blutbild, Entzündungsparameter).

In der frühen postoperativen Phase und weiteren Nachsorge im Verlauf kam es zur Erfassung der Fördermengen in den Wunddrainagen (Liegedauer (d), Fördermenge (ml)), der Wundkondition bei Entlassung, Komplikationen (Art und Ursache (z.B. Wundheilungsstörungen, Infektionen u.a.)), notwendigen Folgeeingriffen (Zeitpunkt, Grund der Maßnahme) und zur Narbenbeurteilung anhand des modifizierten Vancouver Scar Scales (VSS) und Patient Scar Assessment Scale (PSAS) (van de Kar AL, Corion LUM, Smeulders MJC, Draaijers LJ, van der Horst CMAM, van Zuijlen PPM, 2005; Truong *et al.*, 2007; Daykan *et al.*, 2017) nach 12 Wochen.

### 3.4 Datenmanagement und Statistik

Bei den Erhebungs- und Fragebögen handelt es sich um eine papierbezogene Case Report Form (CRF), die der behandelnden Arzt, die Doktorandin und der Patienten ausfüllte.

Die erfassten Daten wurden mit Hilfe eines Tabellenkonfigurationsprogrammes (Microsoft Excel) übertragen und für die statistische Auswertung mit Software (IBM SPSS 25) vorbereitet, verwaltet und ausgewertet.

## Patienten, Material & Methoden

Alle für die Studie erforderlichen Dokumente unterlagen der Geheimhaltung und waren vor dem Zugriff Unbefugter geschützt.

Zur Untersuchung quantitativer Parameter verwendete man folgende Tests:

1) Mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests einer Stichprobe (optimiert nach Lillefors) erfolgte die Überprüfung auf Normalverteilung (NV).

2.1) War das Modell der NV nicht anwendbar ( $p$ -Wert  $< 0,05$ ), nutzte man den Mann-Whitney-U-Test (MWU-Test) als nichtparametrisches Verfahren zum Mittelwertvergleich zweier unabhängiger Gruppen.

2.2) Bei Vorliegen einer NV wählte man den t-Test für unabhängige Stichproben als parametrisches Verfahren aus. Das Signifikanzniveau lag jeweils bei  $p < 0,05$ . Wurde dies unterschritten, verwarf man die Nullhypothese ( $H_0$ ) der Gruppengleichheit und ging alternativ von einem Unterschied der Gruppen aus.

Mittelwert-Vergleiche erfolgten bei den Scores VSS und PSAS.

Das Vorliegen einer Korrelation zwischen dem objektiven (VSS) und dem subjektiven Resultat (PSAS) der Narbe untersuchte man mittels Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (Spearman's Rho) und Kendalls-Tau-b.

### 3.5 Ethische Aspekte

Vor Beginn der Studie erfolgte eine Anzeige bei der Ethikkommission der UMR. Der Antragscode der EK lautet A 2018-0066. Das positive Votum der Ethikkommission lag am 20.04.2018 mit folgendem Aktenzeichen (A2018-0066) vor.

Eine Probandenversicherung lag über das Klinikum Südstadt vor.

### 3.6 Sponsoren

Die klinisch-experimentellen Untersuchungen wurden am Klinikum Südstadt Rostock, akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Rostock in Kooperation mit dem Forschungslabor der Universitätsfrauenklinik der UMR durchgeführt.

Das Nahtmaterial stellte die Firma Serag-Wiessner GmbH & Co. KG mit Firmensitz in 95119 Naila, Deutschland, zur Verfügung. Die Propolistinktur war ein kommerziell erhältliches Naturprodukt. Die Untersuchungen finanzierten das Klinikum Südstadt Rostock und die Universitätsmedizin Rostock.

# Ergebnisse

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Teil 1 – experimenteller Teil

#### 4.1.1 HPLC

Die Untersuchung der Propolis-Lösung zeigte qualitativ die Flavone Apigenin, Kaffeesäurephenylester (CAPE) und Pinobanksin (Abbildung 14).

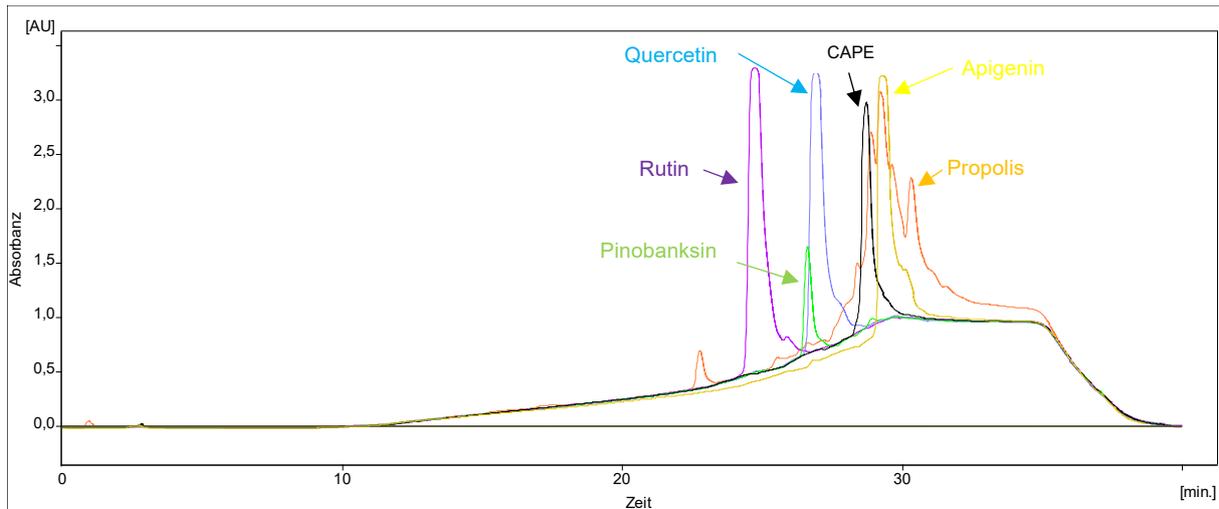


Abbildung 14 Propolis und Referenzen (Orange: Propolis, Violett: Rutin, Blau: Quercetin, Grün: Pinobanksin, Schwarz: CAPE, Gelb: Apigenin).

In der verdünnten Placebo-Lösung (Kamillin-Lösung) wurden die Flavone Kaffeesäurephenylester und Rutin aufgezeigt (Abbildung 15).

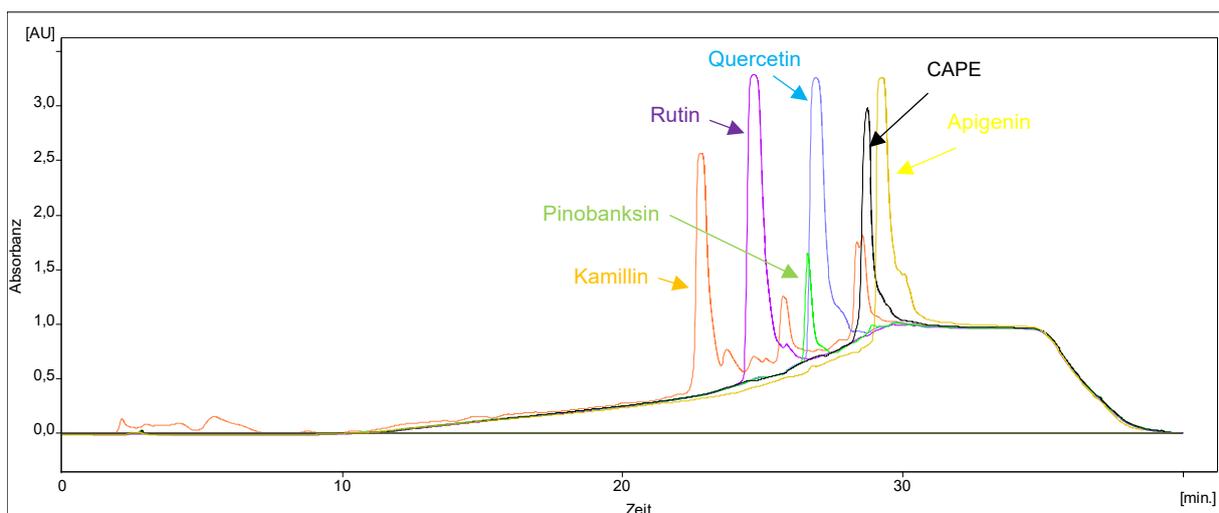


Abbildung 15 Placebo und Referenzen (Orange: Kamillin, Violett: Rutin, Blau: Quercetin, Grün: Pinobanksin, Schwarz: CAPE, Gelb: Apigenin).

## Ergebnisse

### 4.1.2 Zellkulturen

Im Verlauf fand eine lichtmikroskopischen Fotodokumentation des Wachstums der kultivierten Fibroblasten statt. Diese wuchsen arttypisch mit einem gestreckten Zelleib und langen Ausläufern. Dabei kam es zur Ausbildung eines netzartigen Zellteppichs (Abb. 16).

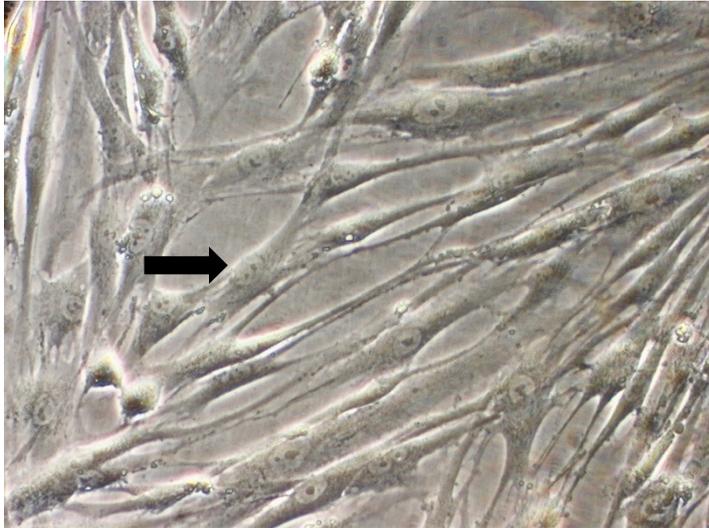


Abbildung 16 Fibroblasten im Monolayer, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

### 4.1.3 Immunhistochemische Charakterisierung der Zellen (Fibroblasten)

Mit der Durchführung der immunhistochemischen Charakterisierung der Fibroblasten bestätigte sich die Annahme, auf der Zelloberfläche der Fibroblasten Rezeptoren für Vimentin, Progesteron und  $\alpha$ -Estrogen vorzufinden. Bei allen drei verwendeten Antikörpern kam es zu einer positiven Farbreaktion (Abb. 18-20).



Abbildung 17 IHC der humanen Fibroblasten: Negativ-Kontrolle, 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.

## Ergebnisse

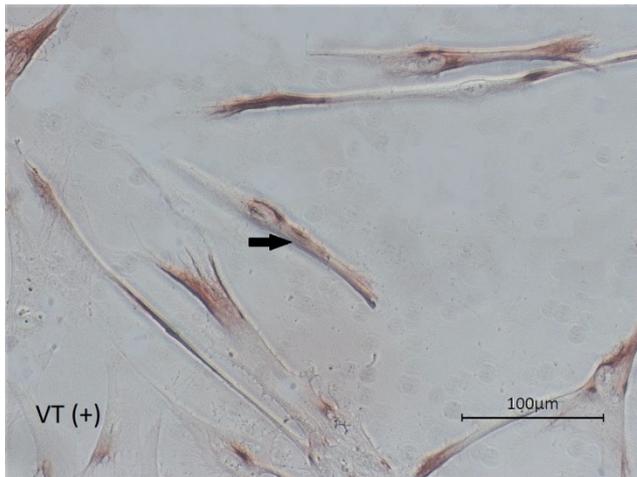


Abbildung 18 IHC der humanen Fibroblasten: Vimentinrezeptor (VT), 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3, Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.

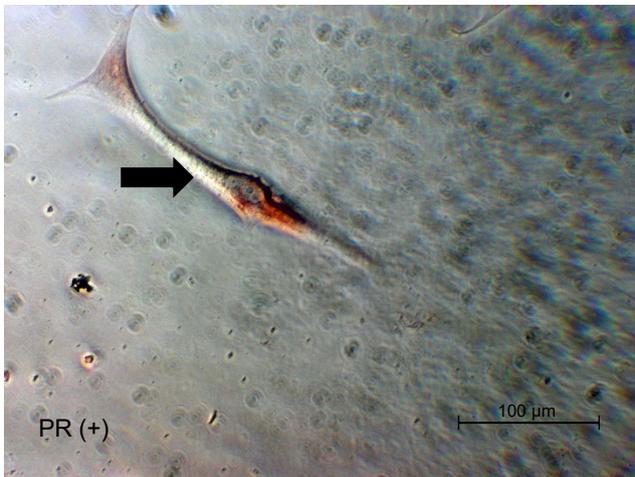


Abbildung 19 IHC der humanen Fibroblasten: Progesteronrezeptor (PR), 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3, Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.

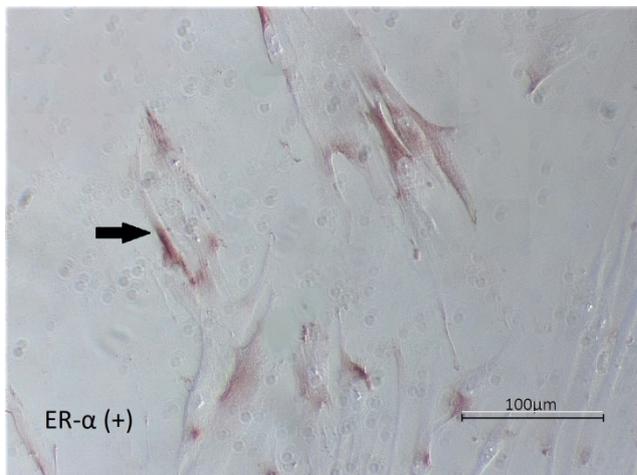


Abbildung 20 IHC der humanen Fibroblasten: alpha-Estrogenrezeptor (ER- $\alpha$ ), 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.

# Ergebnisse

## 4.1.4 Untersuchung des Nahtmaterials

### 4.1.4.1 Lichtmikroskopie

Die digitalmikroskopische Untersuchung des Nahtmaterials erbrachte die folgenden Aufnahmen. Es zeigte sich bei dem Faden SERAFAST 3|0 die durch das Monofilament entstandene glatte Oberfläche des Fadens und eine homogene Binnenstruktur (Abb. 21). Bei den Fäden SERAFIT 0 und SERAFIT 1 ließ sich die geflochtene Struktur gut darstellen (Abb. 22-23).

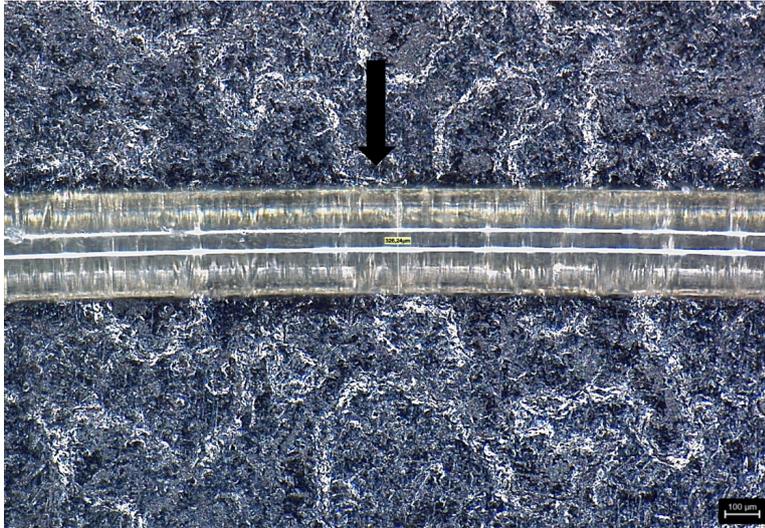


Abbildung 21 SERAFAST® 3|0 150fach vergrößert, Leica Digitalmikroskop DVM 6, Foto: Dr. Uwe Schöler.

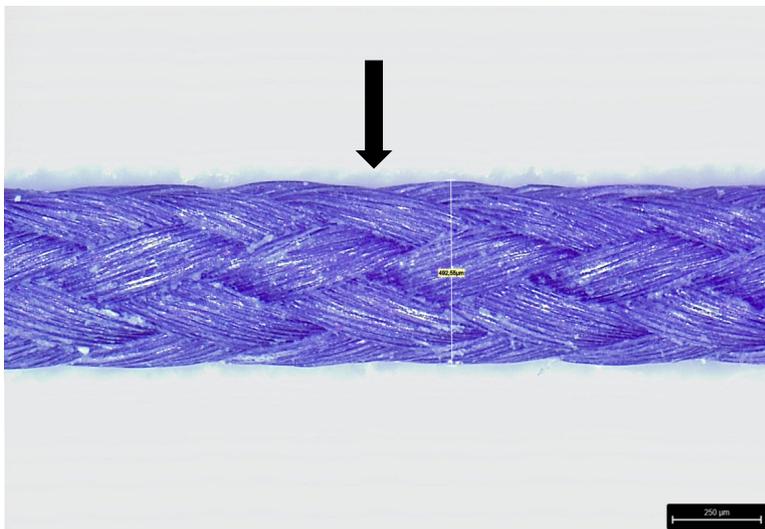


Abbildung 22 SERAFIT® 0 180fach vergrößert, Leica Digitalmikroskop DVM6, Foto: Dr. Uwe Schöler.

## Ergebnisse

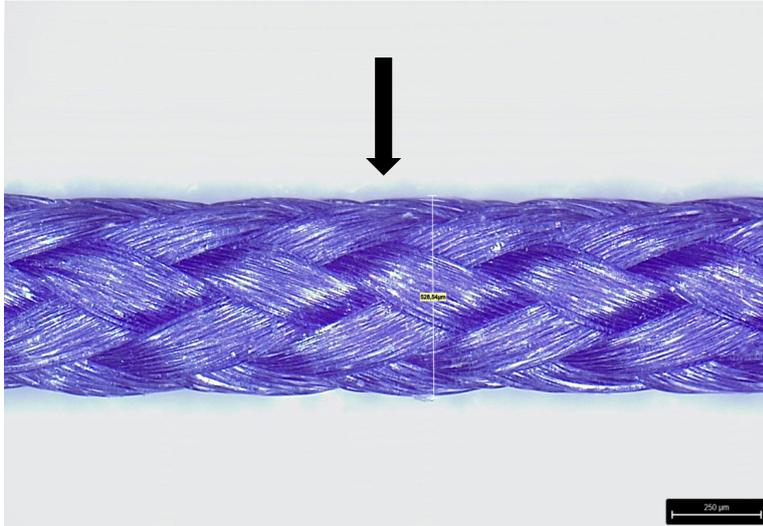


Abbildung 23 SERAFIT® 1 180fach vergrößert, Leica Digitalmikroskop DVM6, Foto: Dr. Uwe Schöler.

### 4.1.5 Resorptionsverhalten der genutzten Nahtmaterialien im Medium

Zur Beurteilung des Zerfallverhaltens der Fäden, wurden diese in ein Zellmedium (DMEM + 10% FKS) gelegt und im Verlauf über 10 Wochen lichtmikroskopisch evaluiert. Dabei verhielten sich die Fäden wie vom Hersteller angegeben (SERAFAST® 3/0 aufgelöst nach ca. 90-120 Tagen, SERAFIT® 0 ca. 60-90 Tage, SERAFIT® 1 ca. 60-90 Tage).

#### SERAFAST® 3/0:

Ab Woche 6 ist eine Auflösung der Struktur des Fadens zu erkennen. Der Faden wurde in Woche 7 und 8 zunehmend brüchiger (Abb. 24) und verlor ab Woche 10 seine ursprüngliche Struktur (Abb. 25).

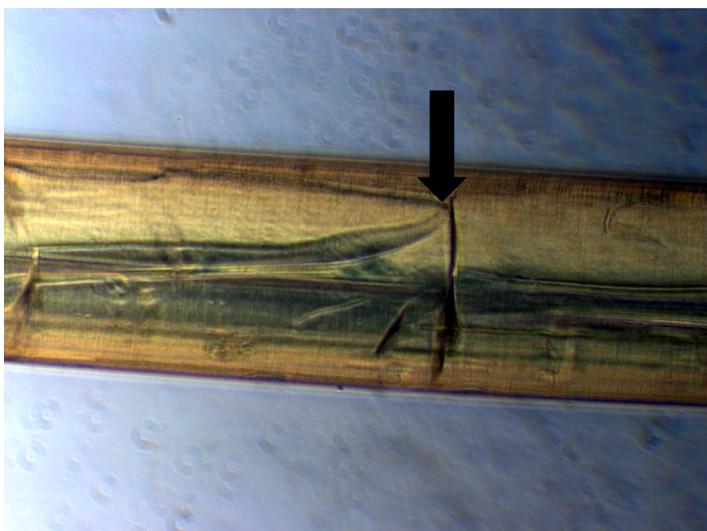


Abbildung 24 SERAFAST® 3/0 nach 7 Wochen - Zunehmend brüchige Struktur, 10x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

## Ergebnisse

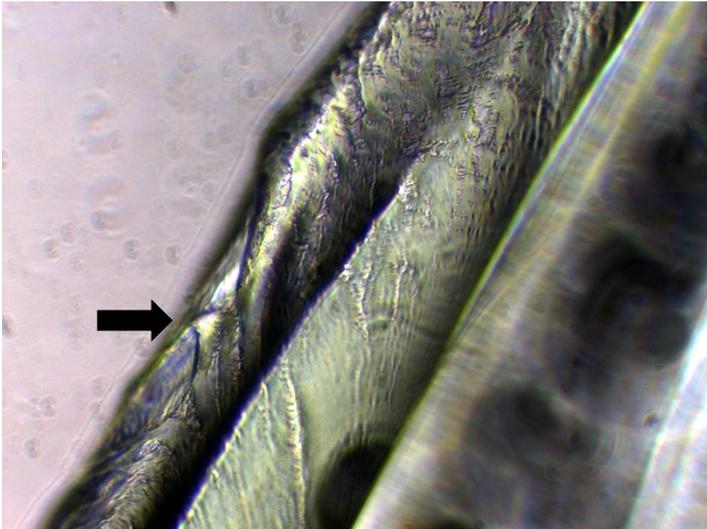


Abbildung 25 SERAFIT® 3/0 nach 10 Wochen - Verlust der ursprünglich homogenen Struktur; 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

### SERAFIT® 0:

Ab Woche 5 stellte sich ein Verlust des Farbstoffes des Fadens ein, wodurch die Struktur auch (durchlicht-)lichtmikroskopisch sichtbar wurde (Abb. 26). Ab Woche 6 kam es zur Auflösung der ursprünglichen Struktur des Fadens mit Brüchen vor allem der außenliegenden Filiae (Abb. 27). In Woche 10 sah man den Bruch der Stränge, aus denen der Faden geflochten ist (Abb. 28).

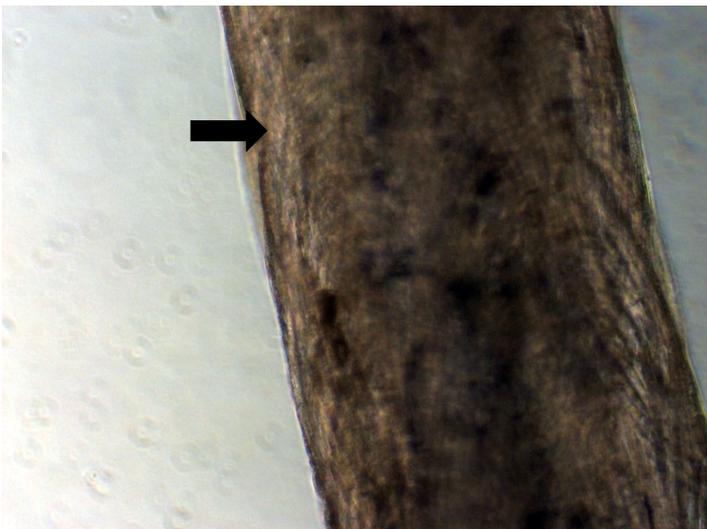


Abbildung 26 SERAFIT® 0 nach 5 Wochen - Zunehmender Verlust des Farbstoffes, 10x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

## Ergebnisse

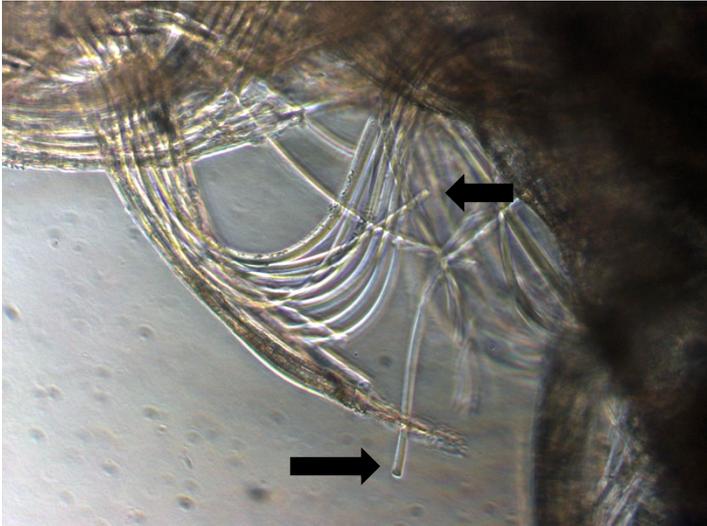


Abbildung 27 SERAFIT® 0 nach 6 Wochen – Brüche der Filiae, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.



Abbildung 28 SERAFIT® 0 nach 10 Wochen - Bruch der Stränge des Fadens, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

### SERAFIT® 1:

Auch bei diesem Faden trat zunächst der Verlust der Färbung des Fadens auf. Nach 5 Wochen war eine Auflockerung der ursprünglichen Struktur zu sehen (Abb. 29). Diese Auflockerung nahm ständig zu. In Woche 8 kam es zum Bruch von Strängen (Abb. 30). Ab der 10. Woche sah man mikroskopisch eine klar aufgelockerte Binnenstruktur des Fadens (Abb. 31).

## Ergebnisse

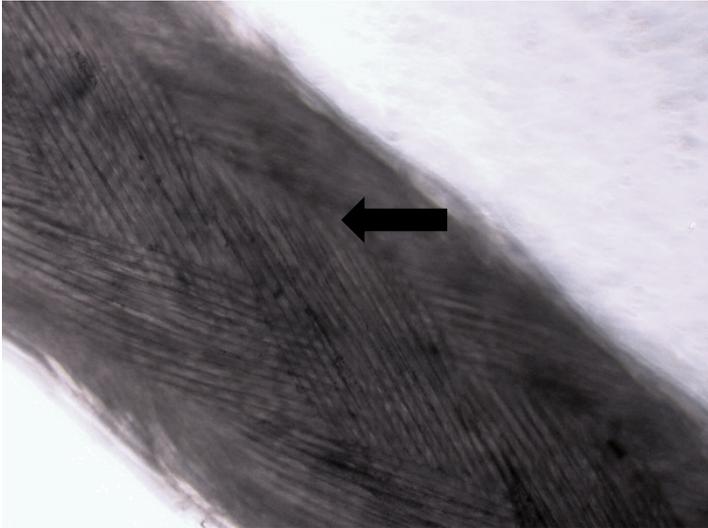


Abbildung 29 SERAFIT® 1 nach 5 Wochen - Verlust der Nahtmaterialfarbe und damit Sichtbarwerden der Binnenstruktur, 10x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

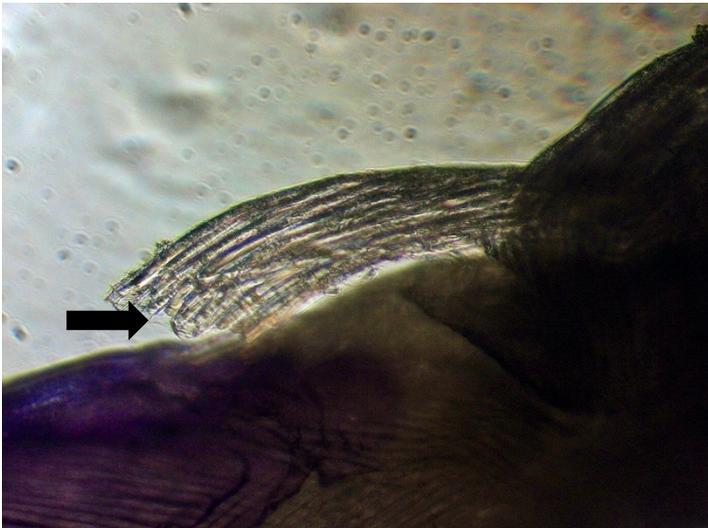


Abbildung 30 SERAFIT® 1 nach 8 Wochen - Bruch von Strängen, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.

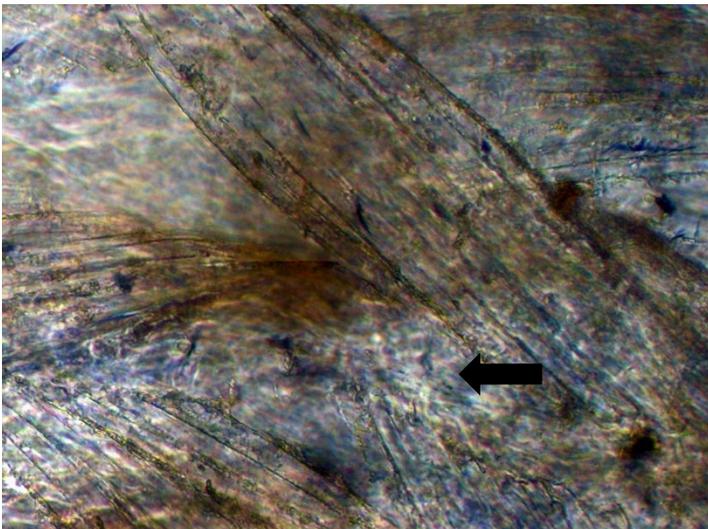


Abbildung 31 SERAFIT® 1 nach 10 Wochen - Auflockerung der Binnenstruktur, 20x vergrößert Kamera: AxioCamMR3.

## Ergebnisse

### 4.1.6 Resorptionsverhalten der genutzten Nahtmaterialien bei Zellkontakt

Es zeigte sich, dass alle untersuchten Fäden komparabel von den Fibroblasten resorbiert wurden, sprich die Werte für Glucose, pH und Laktat waren in allen Gruppen ähnlich. Alle Werte wurden dreifach bestimmt. Es handelt sich bei den dargestellten Werten um Mittelwerte, wobei keine Ausreißer vorlagen.

Der Ausgangswert des Laktats (Gruppe Medium blande) ist im Diagramm nicht vermerkt, da bei Abwesenheit von Zellen kein Metabolismus zu erwarten war (Abb. 32). Bei Vorliegen unabhängiger Stichproben wurde zur Untersuchung der Signifikanz der Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt.

Ein Unterschied der Gruppen (Signifikanzniveau  $p=0,05$ ) ist nur in der Messung des Laktates signifikant ( $p=0,045$  2-seitige Signifikanz).

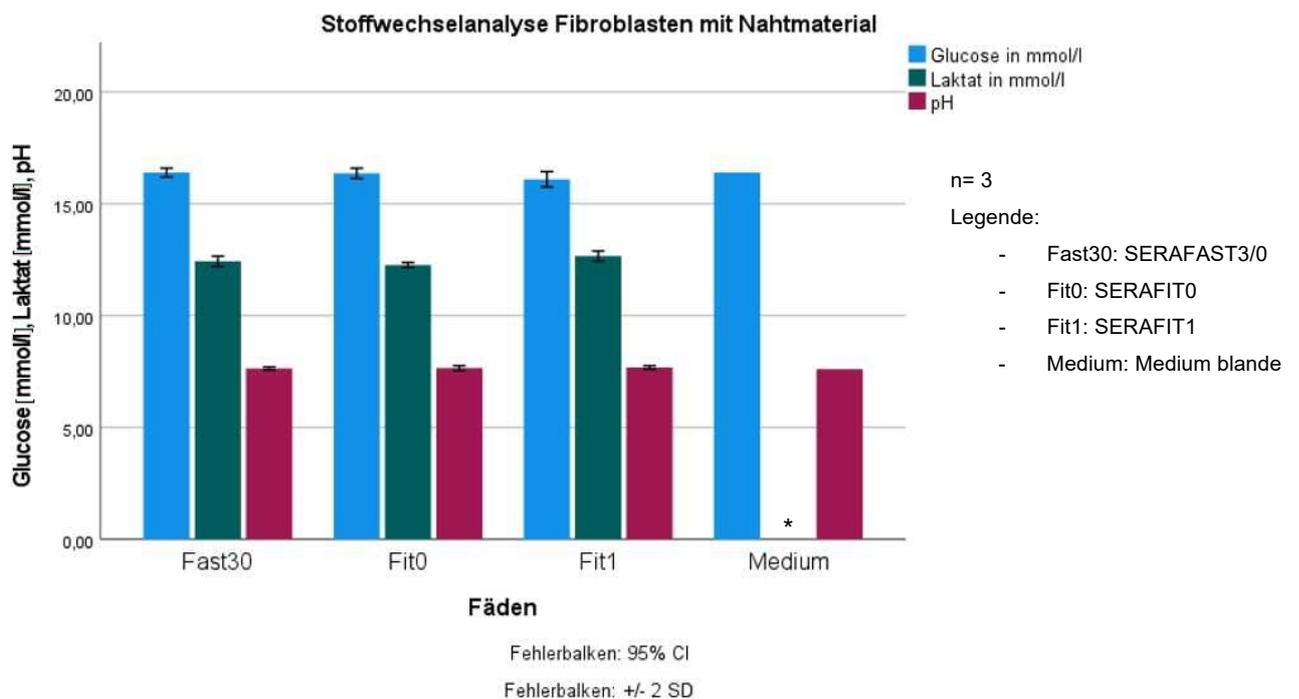


Abbildung 32 Stoffwechselanalyse Fibroblasten und Nahtmaterial;  $n=3$ ;  
2-seitige-Signifikanzen: Glucose  $p=0,186$ , Lactat  $p=0,045$ , pH  $p=0,522$ ;  
(Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben).

## Ergebnisse

### 4.1.6.1 Wachstumsverhalten der Fibroblasten am verwendeten Nahtmaterial

Die Fotodokumentation des Wachstumsverhaltens der Fibroblasten an und auf dem jeweiligen Faden (SERAFIT® 3/0, SERAFIT® 0, SERAFIT® 1) fand jeweils an Tag 1, 4, 9, 16, 18 und 21 statt.

Es wurde zur Darstellung exemplarisch der Tag 16 gewählt, da an diesem das Wachstumsverhalten besonders gut zu sehen war.

Abb. 33 zeigt Fibroblasten und den Faden SERAFIT® 3/0. Die Zellen wachsen mit ihren langgestreckten Zellkörpern über die gesamte Oberfläche des Fadens.

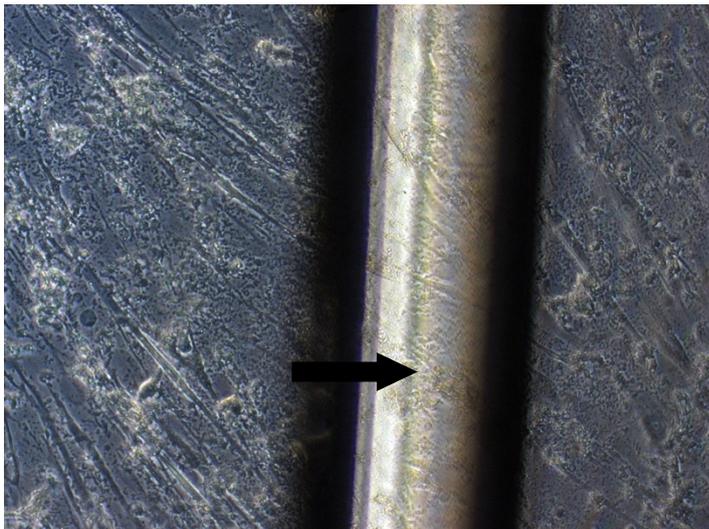


Abbildung 33 SERAFIT® 3/0 mit Fibroblastenbewuchs nach 16 Tagen AxioCamMR3 10x vergrößert.

Auf Abb. 34 sind Fibroblasten und der Faden SERAFIT® 0 zu sehen. Durch die Färbung des Fadens lässt sich das Wachstum der Zellen auf dem Faden nicht mittels Lichtmikroskopie (Durchlicht) beurteilen. Es ist jedoch zu sehen, dass die Zellkörper gerichtet auf den Faden zu wachsen.

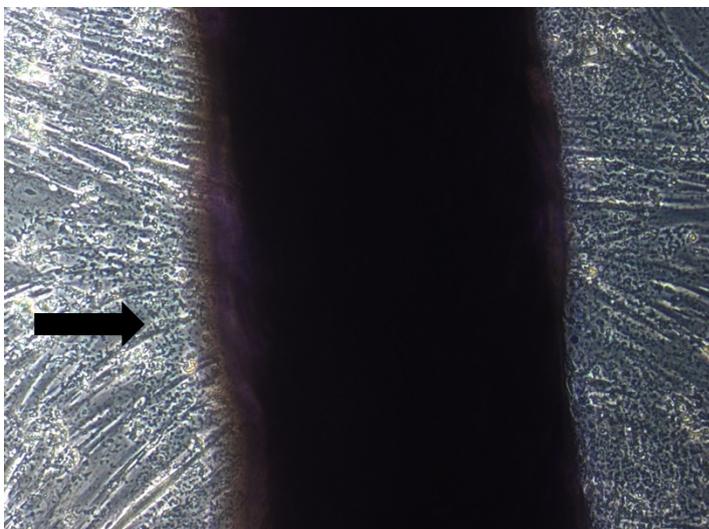


Abbildung 34 SERAFIT® 0 mit Fibroblasten nach 16 Tagen AxioCamMR3 10x vergrößert.

## Ergebnisse

Abb. 35 stellt Fibroblasten und den Faden SERAFIT® 1 dar. Auch hier gilt, dass sich lediglich das Wachstum der Zellen im Umfeld des Fadens mittels Lichtmikroskopie (Durchlicht) beurteilen lässt. Man sieht auch hier, dass die Zellkörper gerichtet auf den Faden zu wachsen.

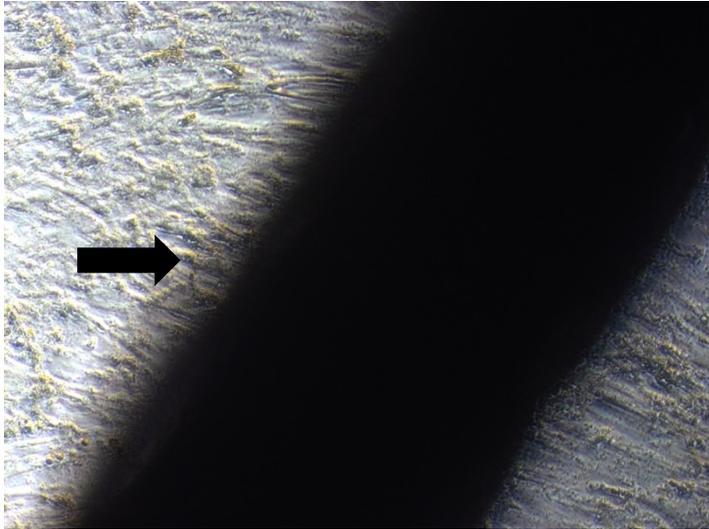


Abbildung 35 SERAFIT® 1 mit Fibroblasten nach 16 Tagen AxioCamMR3 10x vergrößert.

Fazit: Die Fibroblasten bilden, entsprechend ihres herkömmlichen Wachstumsverhaltens, einen konfluenten Zellrasen aus. Ihre Zellkörper wachsen gezielt auf die Fäden (SERAFIT® 3/0, SERAFIT® 0, SERAFIT® 1) zu, sowie überdecken den Faden SERAFIT® 3/0 vollständig mit ihren langgestreckten Zellkörpern.

## Ergebnisse

### 4.1.7 Metabolismus der Zellen bei Nahtmaterialkontakt:

Zur Untersuchung des Metabolismus der Zellen während des Nahtmaterialkontaktes führte man zwei biologische Assays durch (CellTiter-Glo®, Fa. Promega; MTT-Test, Fa. Sigma Aldrich). Dabei wurde die Viabilität und Proliferation der Zellen nach Kontakt mit den Testsubstanzen und den Nahtmaterialien ermittelt.

#### 4.1.7.1 MTT-Assay

Der Zellenkontakt mit dem jeweiligen Nahtmaterial zeigte im MTT-Assays keine signifikanten Unterschiede in der Viabilität und Proliferation zwischen der Propolis- und der Placebo-Gruppe (SERAFIT® 3/0  $p=0,206$ ; SERAFIT® 0  $p=0,249$ ; SERAFIT® 1  $p=0,125$ ) (Abb. 36-38).

Unter dem Einfluss der proliferationsfördernden Substanz Estradiol zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Viabilität und Proliferation zwischen der Propolis- und der Placebo-Gruppe ( $p=0,749$ ) (Abb. 41).

Bei Normalverteilung der Werte wurde der T-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Unter dem Einfluss der proliferationshemmenden Substanz Endoxifen kam es zu einer signifikant höheren Viabilität der Zellen bei Kontakt mit Propolis, als bei denen der Placebo-Gruppe ( $p=0,037$ ) (Abb. 40). Das heißt, dass während der Anwesenheit von Propolis durch Endoxifen weniger Zellen starben als in den Kontrollgruppen (Leerwert und Kamillin).

Bei der Anwendung von Tamoxifen unterscheiden sich die beiden Gruppen (Propolis vs. Placebo) nicht signifikant ( $p=0,104$ ) (Abb. 39).

Der Einsatz von Propolis zeigte folglich in der durchgeführten in vitro Studie keinen positiven Effekt auf die Proliferation der Zellen. Eine gesteigerte Proliferation hätte zum einen zur Folge, dass die Wundheilung schneller stattfindet, es jedoch auch zu einer übersteigerten Proliferation führen kann, welche die Keloidbildung begünstigt.

Propolis beeinflusst in diesem Versuchsaufbau jedoch die Zellviabilität. Unter dem Einfluss von Endoxifen starben in der Propolisgruppe, verglichen zu den Kontrollgruppen (Leerwert und Kamillin) weniger Zellen.

# Ergebnisse

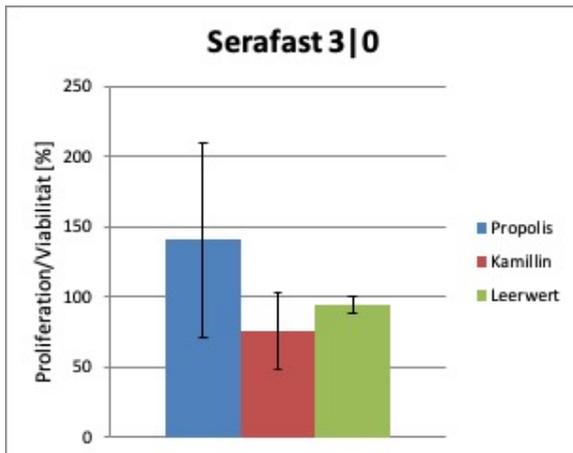


Abbildung 36 MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafast 3/0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,206; (T-Test für unabhängige Stichproben).

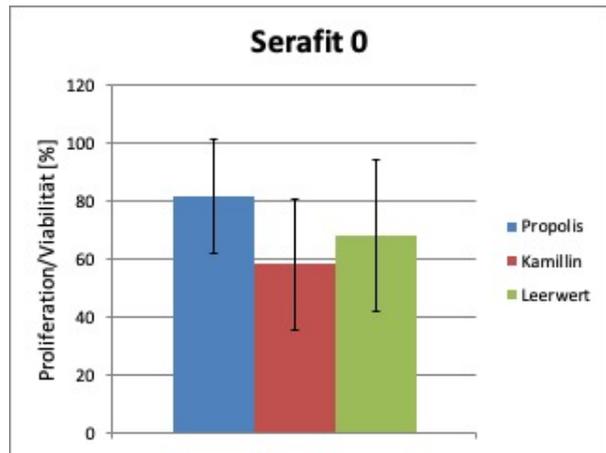


Abbildung 37 MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,249; (T-Test für unabhängige Stichproben).

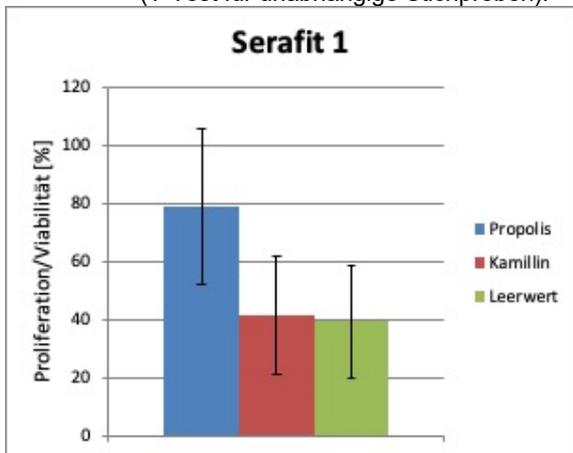


Abbildung 38 MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 1; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,125; (T-Test für unabhängige Stichproben).

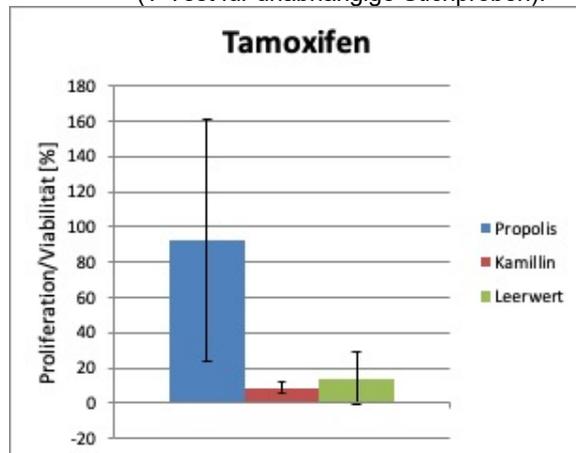


Abbildung 39 MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Tamoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,104; (T-Test für unabhängige Stichproben).

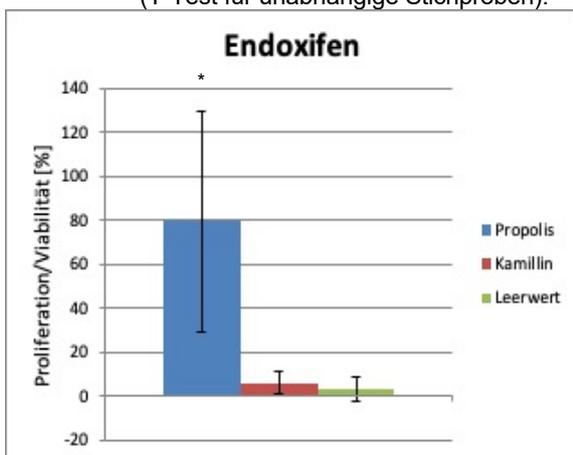


Abbildung 40 MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Endoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo p=0,037, Signifikanzniveau p=0,05; (T-Test für unabhängige Stichproben).

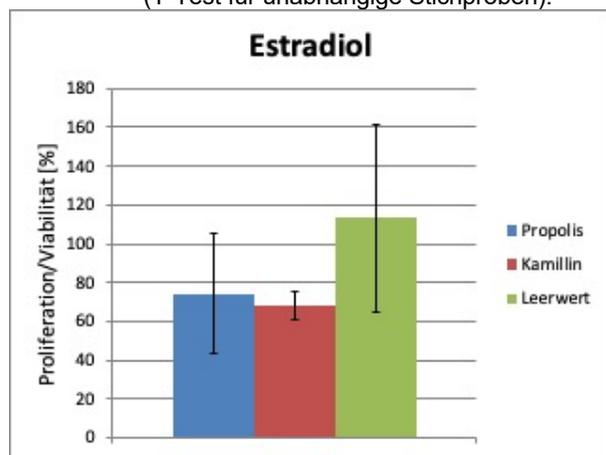


Abbildung 41 MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Estradiol; n=3; Propolis vs. Placebo p=0,749; (T-Test für unabhängige Stichproben).

## Ergebnisse

### 4.1.7.2 CellTiter-Glo®-Assay

Im Viabilitäts- und Zytotoxizitätstest CellTiter-Glo® zeigte sich bei unbekanntem Verteilungstyp ( $n=3$ ) und somit Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests kein signifikanter Unterschied zwischen der Propolis- und der Placebogruppe (SERAFAST 3/0®  $p=0,200$ ; SERAFIT 0®  $p=0,700$ ; SERAFIT 1®  $p=0,400$ ; Estradiol  $p=0,400$ ; Endoxifen  $p=0,200$ ) (Signifikanzniveau  $p=0,05$ ) (Abb. 42 – 47).

Folglich hat Propolis in diesem Versuchsaufbau keinen positiven Einfluss auf die Viabilität der Fibroblasten.

# Ergebnisse

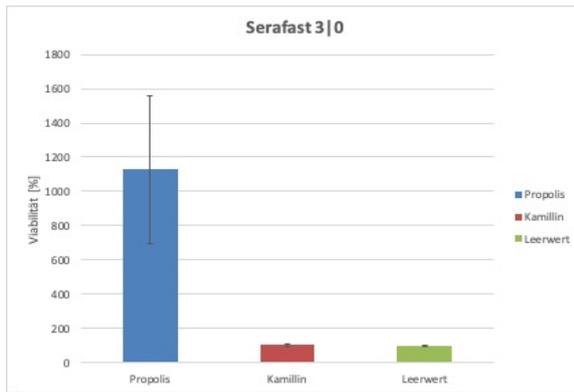


Abbildung 42 CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafast 3/0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin)  $p=0,200$ ; (Mann-Whitney-U-Test).

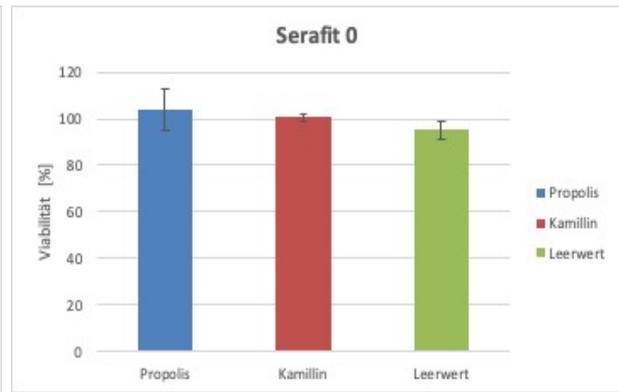


Abbildung 43 CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin)  $p=0,700$ ; (Mann-Whitney-U-Test).

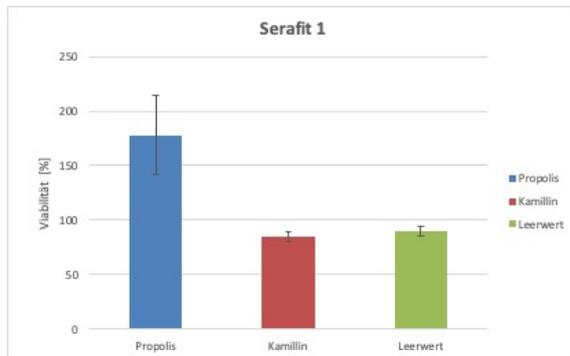


Abbildung 44 CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 1; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin)  $p=0,400$ ; (Mann-Whitney-U-Test).

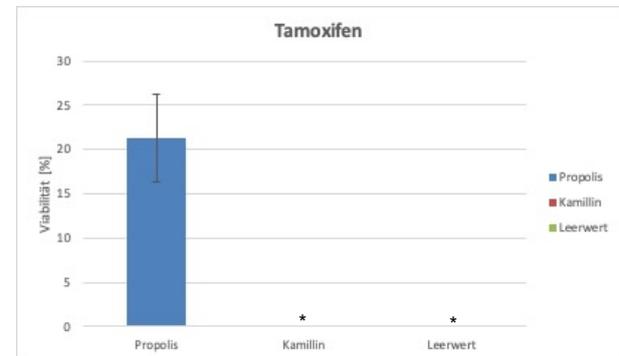


Abbildung 45 CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Tamoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin)  $p=0,200$ ; (Mann-Whitney-U-Test).

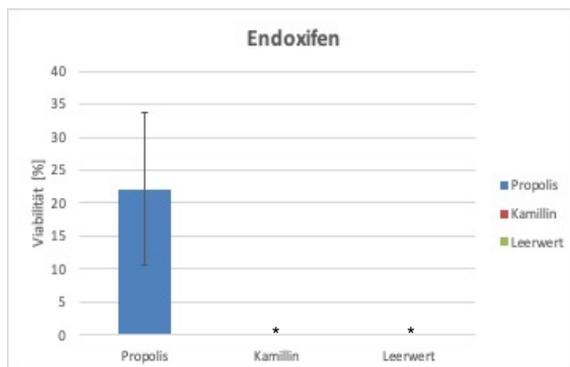


Abbildung 46 CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Endoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin)  $p=0,200$ ; (Mann-Whitney-U-Test).

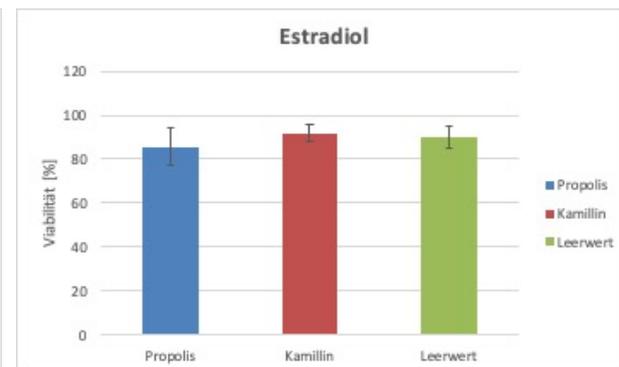


Abbildung 47 CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Estradiol; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin)  $p=0,400$ ; (Mann-Whitney-U-Test).

## Ergebnisse

### 4.1.8 Zusammenfassung der experimentellen Ergebnisse

Die Untersuchung der Propolis-Lösung auf ihre Inhaltsstoffe zeigte qualitativ die Flavone Apigenin, Kaffeesäurephenylester (CAPE) und Pinobanksin.

Das Resorptionsverhalten des Nahtmaterials wurde durch die Anwesenheit von Propolis nicht beeinflusst.

Das MTT-Assay ergab, dass Propolis die Zellviabilität beeinflusst. Unter dem Einfluss von Endoxifen starben in der Propolisgruppe, verglichen zu den Kontrollgruppen (Leerwert und Kamillin) weniger Zellen. Die Proliferation der Zellen bleibt bei der Anwesenheit von Propolis unverändert.

Im Versuchsaufbau des CellTiter-Glo®-Assays zeigte Propolis keinen positiven Einfluss auf die Viabilität oder Proliferation der Fibroblasten.

## 4.2 Teil 2 – klinischer Teil

Im Patientenkollektiv befanden sich 33 Patienten. Abzüglich derer, bei denen es zum Abbruch der Studie kam (n=11), lagen zur statistischen Analyse Daten von 22 Patienten vor, davon n=9 in der Propolis-Gruppe und n=13 in der Placebo-Gruppe.

### 4.2.1 Vollständige Messparameter

#### 4.2.1.1 Studienabbruch

Bei 11 Patienten kam es zum Abbruch der Studie. Davon waren 8 Patienten Teil der Propolis-Gruppe und 3 Patienten Teil der Placebo-Gruppe (Abb. 48).

Propolis-Gruppe: In der Propolis-Gruppe kam es bei 3 Patienten zum Abbruch infolge einer Hautreaktion mit Rötung, Schwellung und Juckreiz. 5 Patienten standen für das geplante Follow-Up aus unbekanntem/privaten Gründen nicht mehr zur Verfügung.

Placebo-Gruppe: In der Placebo-Gruppe kam es zu 3 Abbrüchen; die geplante OP fand nicht statt oder die Patienten standen aus unbekanntem/privaten Gründen für die Nachuntersuchung nicht mehr zur Verfügung.

## Ergebnisse

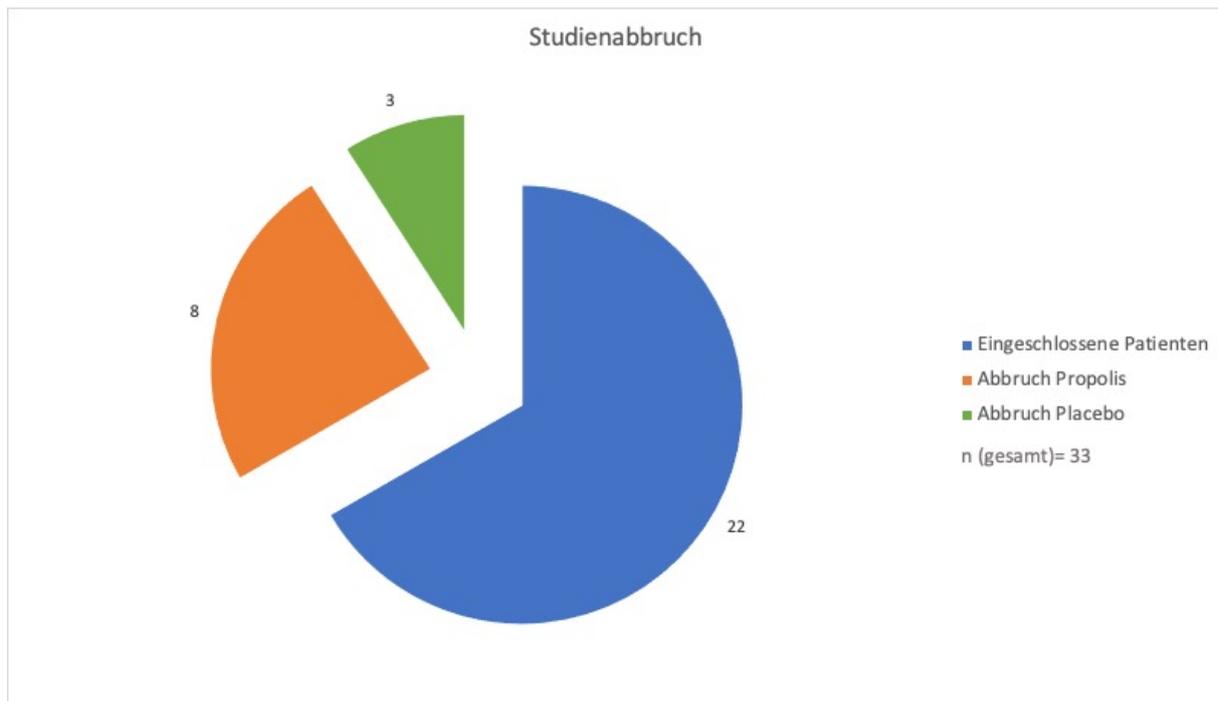


Abbildung 48 Studienabbruch; n (Gesamtes Patientenkollektiv) = 33; 22 Patienten konnten eingeschlossen werden; Abbruch der Studie bei 11 Patienten (davon Propolis-Gruppe = 8 Patienten, Placebo-Gruppe = 3 Patienten).

### 4.2.1.2 Studienabbruch aufgrund allergischer Reaktion

Eine Bienenallergie oder Unverträglichkeit ihrer Produkte galt als Ausschlusskriterium zur Aufnahme von Patienten in die Studie. Nichtsdestotrotz kam es bei 3 Patienten in der Propolis-Gruppe zum Abbruch der Studie aufgrund einer allergischen Reaktion mit lokaler Rötung, Schwellung und Juckreiz im Wundgebiet. Auch Sforcin et al. beschreiben in Ihrer Arbeit das Auftreten allergischer Reaktionen und Kontaktdermatitiden bei der Anwendung von Propolis unabhängig vom Vorliegen einer Bienenallergie (Sforcin, 2007). In höheren Konzentrationen (300 µg/ml) aktiviert Propolis direkt Mastzellen und somit die Ausschüttung von proinflammatorischen Mediatoren aus diesen (Sforcin, Orsi, Bankova, 2005; Sforcin, 2007). Dies könnte verantwortlich sein für die allergischen Reaktionen bei Propolis-sensitiven Patienten (Sforcin, Orsi, Bankova, 2005; Sforcin, 2007).

Es besteht also vor allem bei der höher konzentrierten Anwendung von Propolis-Produkten ein allergogenes Potenzial (Sforcin, Orsi, Bankova, 2005; Sforcin, 2007).

Bei diesem Patienten der Propolis-Gruppe ist die Reaktion auf die propolishaltige Auflage gut zu erkennen (Abb. 49 + 50). Es ist ein klar abgrenzbares erythematöses Exanthem mit Ausbildung einer Crusta zu sehen, an der Stelle an welcher die Auflage klebte. Dieses trat nach 3 Tagen Anwendung der Auflage auf.

## Ergebnisse



Abbildung 49 Narbe mit propolishaltiger Tinktur  
Tag 1; Kamera: SONY DSC-T77,  
1x Vergrößerung.



Abbildung 50 Narbe mit propolishaltiger Tinktur  
Tag 3, Kamera: Motorola Moto G,  
1x Vergrößerung.

### 4.2.1.3 Geschlechterverteilung

Im Patientenkollektiv befanden sich 13 Frauen (59,1 %) und 9 Männer (40,9 %) (Abb. 51).

In der Propolis-Gruppe waren n=4 (44,4 %) der Patienten männlich und n=5 (55,6 %) weiblich.

In der Placebo-Gruppe waren n=5 (38,5 %) Patienten männlich und n=8 (61,5 %) weiblich.

Es befanden sich keine Patienten im Kollektiv, die sich einer anderen Geschlechtsidentität, als der genannten, zugehörig fühlten.

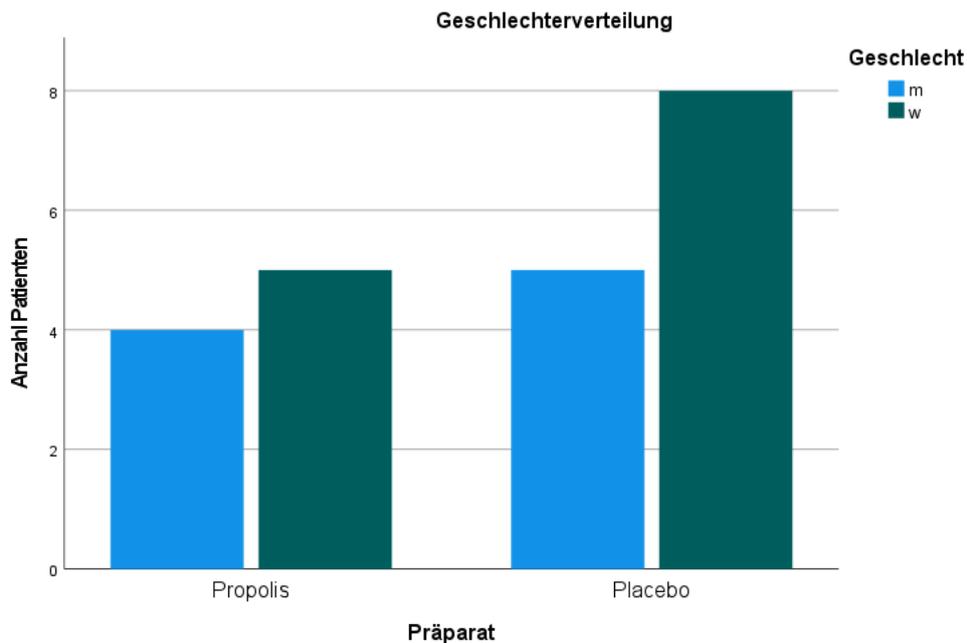


Abbildung 51 Geschlechterverteilung in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo).

## Ergebnisse

### 4.2.1.4 Altersverteilung

Das Patientenkollektiv zeigte ein durchschnittliches Alter von 66 Jahren, wobei der jüngste Patient 33 Jahre und der älteste Patient 85 Jahre alt war (Abb. 52).

In der Propolis-Gruppe betrug das Alter des jüngsten Patienten 44 Jahre und des ältesten 82 Jahre. Das durchschnittliche Patientenalter lag bei 68 Jahren.

In der Placebo-Gruppe war der jüngste Patient 33 Jahre und der älteste 85 Jahre alt. Das durchschnittliche Patientenalter lag bei 65 Jahren.

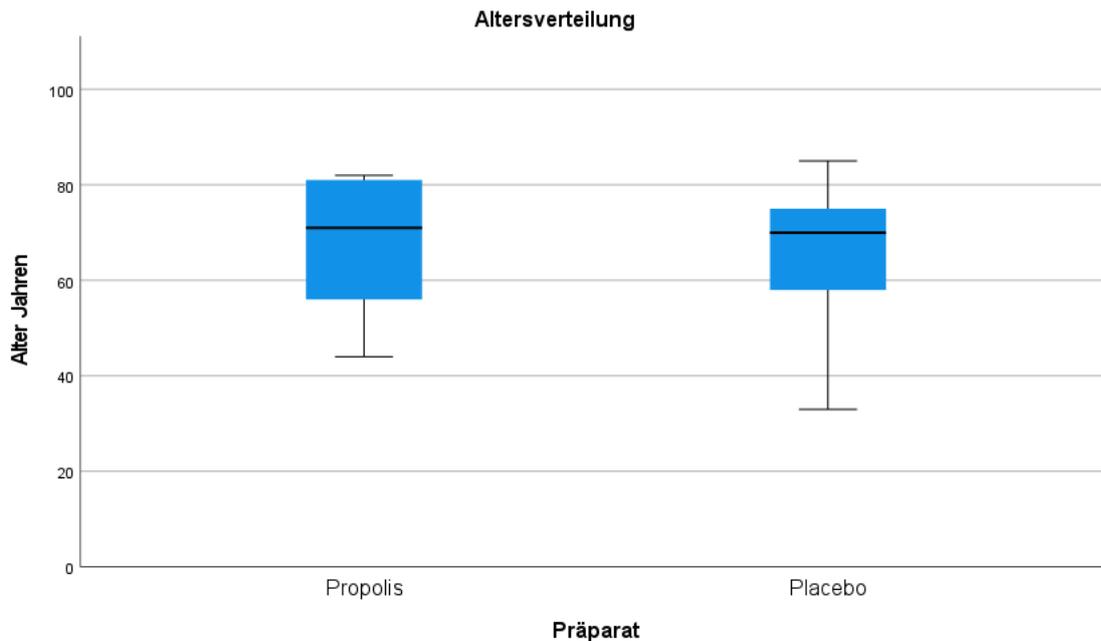


Abbildung 52 Altersverteilung der Patienten in der jeweiligen Studiengruppe.

### 4.2.1.5 BMI (Body Mass Index)

Das Gesamtkollektiv zeigte einen durchschnittlichen BMI von 26,4 bei einem Minimum von 20,2 und einem Maximum von 32,9 (Abb. 53).

In der Propolis-Gruppe lag der durchschnittliche BMI bei 26,9 bei einem Minimum von 21,9 und einem Maximum von 32,9.

In der Placebo-Gruppe betrug der durchschnittliche BMI bei 26,2 bei einem Minimum von 20,2 und einem Maximum von 31,2.

# Ergebnisse

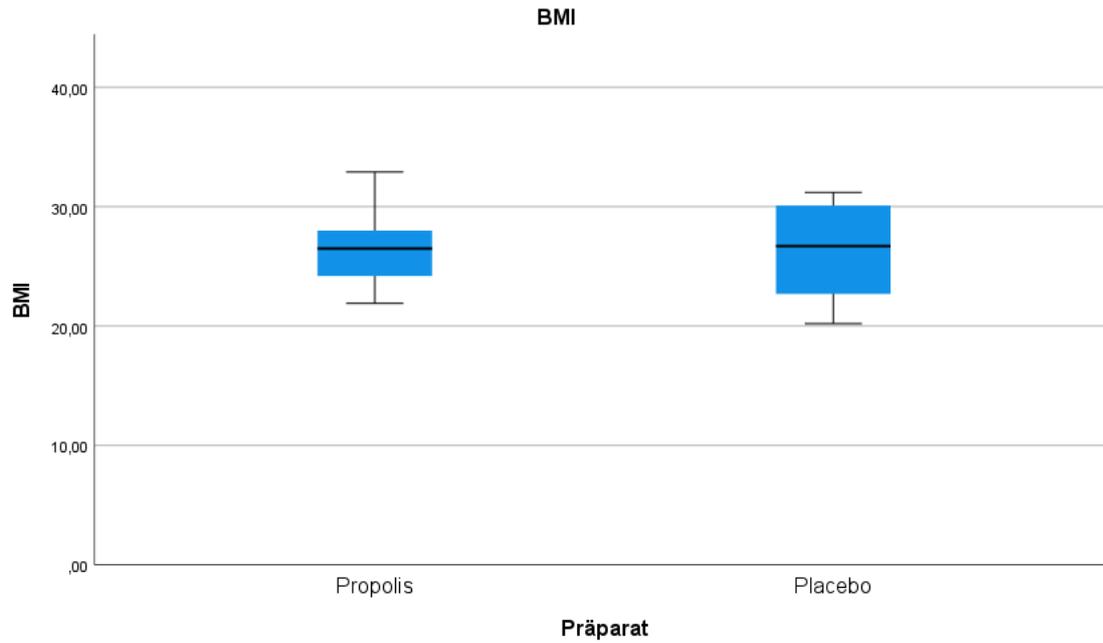


Abbildung 53 BMI der Patienten in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo).

## 4.2.1.6 Nikotinkonsum

Im Patientenkollektiv waren 17 Patienten (77,3 %) Nichtraucher und 5 (22,7 %) Raucher (Abb. 54).

Die Raucher wiesen durchschnittlich 17,2 Packungsjahre (Pack-Years; PY) bei einem Minimum von 6 PY und einem Maximum von 23 PY auf.

In der Propolis-Gruppe befanden sich 2 Raucher, mit durchschnittlich 21,5 Packungsjahren.

In der Placebo-Gruppe waren 3 Raucher, mit durchschnittlich 20 Packungsjahren.

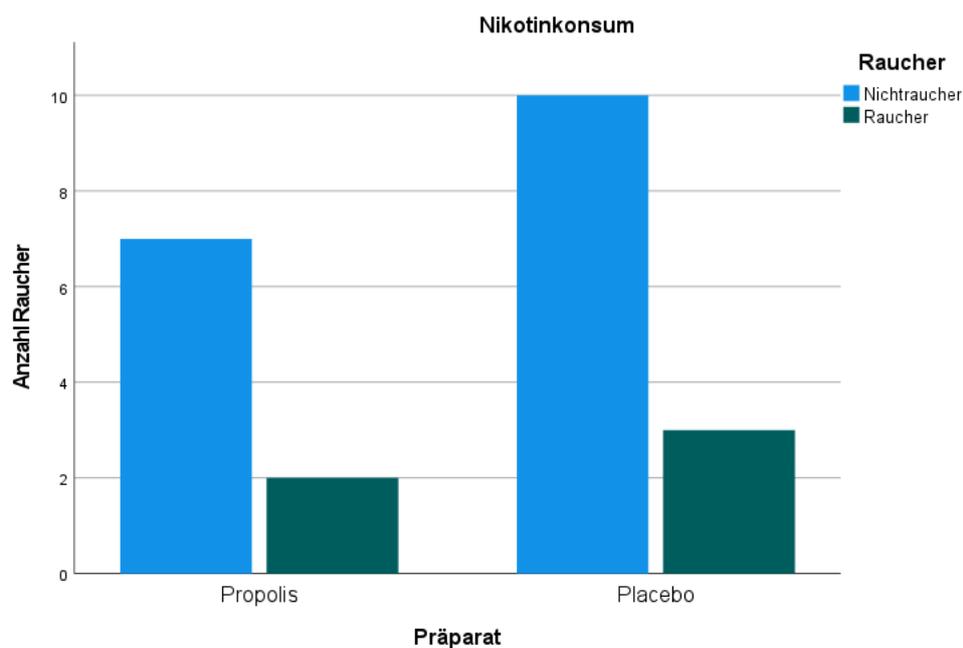


Abbildung 54 Anzahl der Raucher in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo).

## Ergebnisse

### 4.2.1.7 Narbenlänge

Im Gesamtkollektiv lag die Narbenlänge durchschnittlich bei 8,9 cm bei einem Minimum von 2,5 cm und einem Maximum von 20 cm (Abb. 55).

In der Propolis-Gruppe betrug die durchschnittliche Narbenlänge bei 6,1 cm bei einem Minimum von 2 cm und einem Maximum von 17 cm.

Die Placebo-Gruppe zeigte eine durchschnittliche Narbenlänge bei 10,8 cm bei einem Minimum von 2,5 cm und einem Maximum von 20 cm.

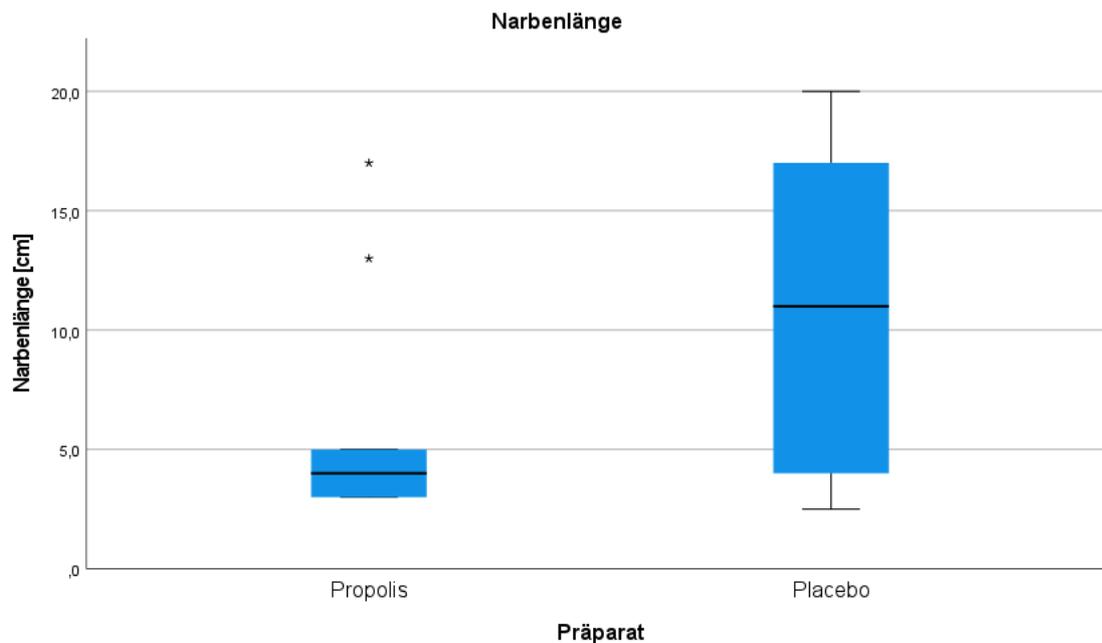


Abbildung 55 Narbenlänge [cm] in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo); \*= Narben, deren Länge weit ab von der durchschnittlichen Narbenlänge der übrigen Patienten liegen.

### 4.2.1.8 Hauptdiagnose

Es wurde in die Hauptdiagnosen „Degenerative Erkrankung“ und „Fraktur“ unterteilt.

Im Gesamtkollektiv zeigten sich 1 Patient (4,8 %) mit der Hauptdiagnose „Fraktur“ und 21 Patienten (95,2 %) mit „Degenerative Erkrankung“ (Abb. 56).

In der Propolis-Gruppe litten alle 9 Patienten (100 %) an der Hauptdiagnose „Degenerative Erkrankung“.

In der Placebo-Gruppe fand sich 1 Patient (7,7 %) mit der Hauptdiagnose „Fraktur“ und 12 (92,3 %) Patienten mit der Hauptdiagnose „Degeneration“.

## Ergebnisse

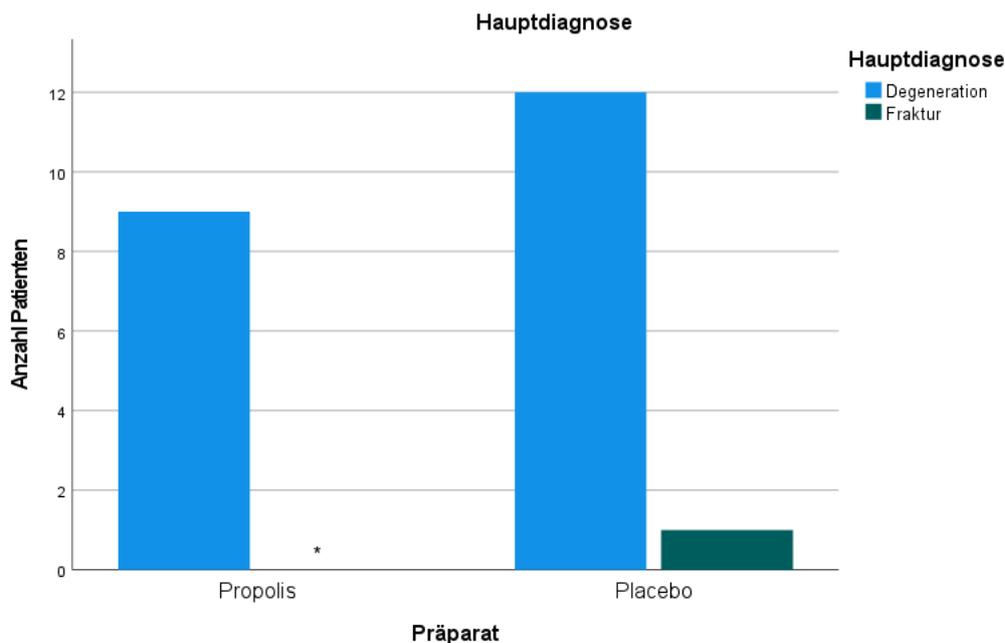


Abbildung 56 Hauptdiagnose (Degeneration; Fraktur) in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo);  
 \*= In der Propolis-Gruppe lag kein Patient mit der Hauptdiagnose „Fraktur“ vor.

### 4.2.1.9 ASA-Klassifikation

Die ASA-Klassifikation (ASA= American Society of Anesthesiologists) beschreibt den Allgemeinzustand eines Patienten. Bei einem Wert von 1 handelt es sich um einen gesunden Patienten, während der Wert 5 einen moribunden Patienten, bei dem die Lebenserwartung ohne Behandlung geringer als 24 h ist, erfasst.

Im Gesamtkollektiv wurden 5 Patienten (20 %) mit ASA 1, 10 Patienten (40 %) mit ASA 2 und 10 Patienten (40 %) mit ASA 3 klassifiziert. Es fanden sich keine Patienten, die eine höhere ASA-Klassifizierung erreichten.

In der Propolis-Gruppe wurden 2 Patienten (18 %) ASA 1, 4 Patienten (36 %) ASA 2 und 5 Patienten (46 %) ASA 3 klassifiziert (Tabelle 3 ASA-Klassifikation Propolis-Gruppe).

In der Placebo-Gruppe wurden 3 Patienten (21 %) ASA 1, 6 Patienten (43 %) ASA 2 und 5 Patienten (36 %) ASA 3 klassifiziert (Tabelle 4 ASA-Klassifikation Placebo-Gruppe).

#### Propolis:

Tabelle 3 ASA-Klassifikation Propolis-Gruppe.

ASA-Klassifikation	Häufigkeit	Prozent [%]
1	2	18,18
2	4	36,36
3	5	45,46

## Ergebnisse

### Placebo:

Tabelle 4 ASA-Klassifikation Placebo-Gruppe.

ASA-Klassifikation	Häufigkeit	Prozent [%]
1	3	21,4
2	6	42,9
3	5	35,7

### 4.2.1.10 Karnofsky-Index

Der Karnofsky-Index beschreibt den Allgemeinzustand eines Patienten bzw. dessen Leistungsfähigkeit im Alltag. Er wurde ursprünglich zur Erfassung des Allgemeinzustands von Tumorpatienten entwickelt und wird dort am häufigsten eingesetzt. Maximal können 100 % erreicht werden, was eine normale Aktivität, Beschwerdefreiheit und kein Hinweis auf ein Tumorleiden bedeutet. Bei einem Wert von 0 % handelt es sich um einen moribunden Patienten (Stöver, Feyer, 2018).

Das Patientenkollektiv zeigte einen durchschnittlichen Karnofsky-Index von 77,60 %.

3 Patienten (12 %) zeigten einen Karnofsky-Index von 60 %, 8 Patienten (32 %) von 70, 6 % Patienten (24 %) von 80 % und 8 Patienten (32 %) einen Index von 90 %. Werte unterhalb eines Karnofsky-Index von 60 % wurden nicht erreicht.

In der Propolis-Gruppe lag der Median des Karnofsky-Index einen Wert von 80 % bei einem Minimum von 60 % und einem Maximum von 90% (Tabelle 5 Karnofsky-Indices der Propolis-Gruppe).

Die Placebo-Gruppe ergab einen Median des Karnofsky-Index von 70 % wobei ein Patient den minimalen Wert von 60 % und 4 Patienten den maximalen Wert von 90 % erreichten (Tabelle 6 Karnofsky-Indices der Placebo-Gruppe).

### Propolis:

Tabelle 5 Karnofsky-Indices der Propolis-Gruppe.

Karnofsky-Index (%)	Häufigkeit	Prozent [%]
60	2	18,2
70	1	9,1
80	4	36,4
90	4	36,4

### Placebo:

Tabelle 6 Karnofsky-Indices der Placebo-Gruppe.

Karnofsky-Index (%)	Häufigkeit	Prozent [%]
60	1	7,1
70	7	50
80	2	14,3
90	4	28,6

# Ergebnisse

## 4.2.2 Narbenbeurteilung

### 4.2.2.1 VSS und PSAS

#### 4.2.2.1.1 VSS:

Das gesamte Patientenkollektiv zeigte einen durchschnittlichen VSS-Wert von 3, bei einem Minimum von 0 und einem Maximum von 7 (Abb. 57).

In der Propolis-Gruppe lag der durchschnittliche VSS bei 3 (Minimum 1, Maximum 7).

Die Placebo-Gruppe zeigte einen durchschnittlichen VSS von 3 (Minimum 0 und Maximum 6).

Bei vorliegender NV des VSS (Propolis  $p=0,154$ ; Placebo  $p=0,089$ ) bei einem Signifikanzniveau von  $p=0,05$ , wurden die Gruppen mittels t-Test für unabhängige Stichproben als parametrisches Verfahren untersucht. Im t-Test zeigte sich kein signifikanter Unterschied im VSS zwischen den untersuchten Gruppen (Propolis vs. Placebo) (2-seitige Signifikanz  $p=0,888$ ).

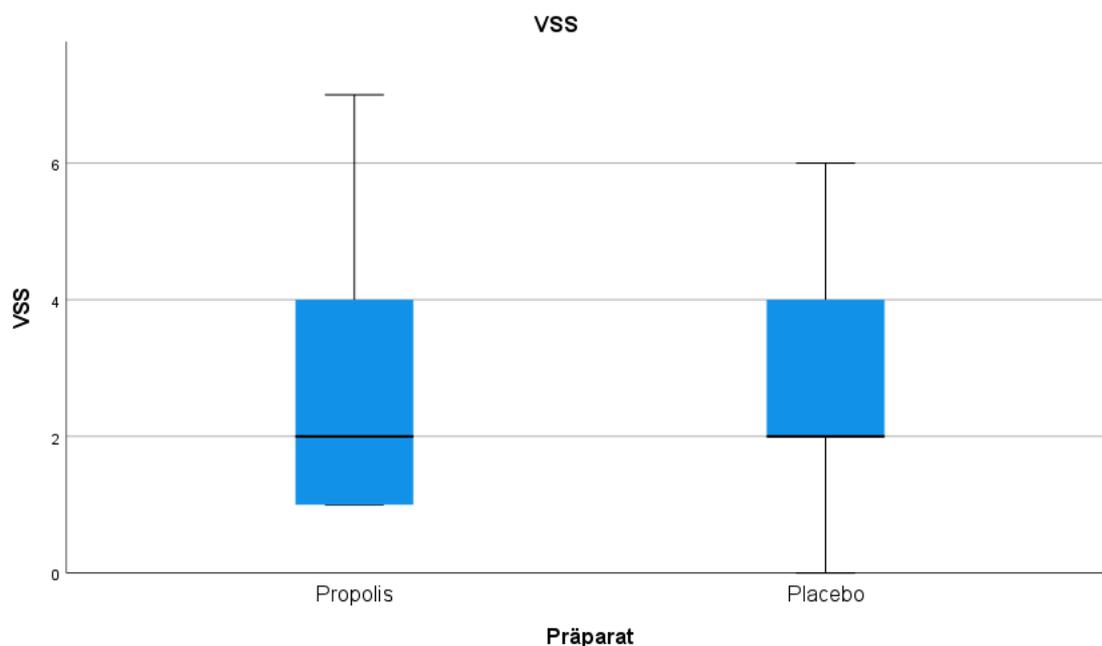


Abbildung 57 VSS-Verteilung in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo); Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Propolis vs. Placebo) (2-seitige Signifikanz  $p=0,888$  bei einem Signifikanzniveau von  $p=0,05$ ) (t-Test für unabhängige Stichproben).

#### 4.2.2.1.2 PSAS:

Im Gesamtkollektiv zeigte sich ein durchschnittlicher PSAS von 12 bei einem Minimum von 7 und einem Maximum von 34 (Abb. 58).

In der Propolis-Gruppe lag der durchschnittliche PSAS bei 11 (Minimum 7 und Maximum 15).

Die Placebo-Gruppe zeigte einen durchschnittlichen PSAS von 13 (Minimum 7 und Maximum 34).

## Ergebnisse

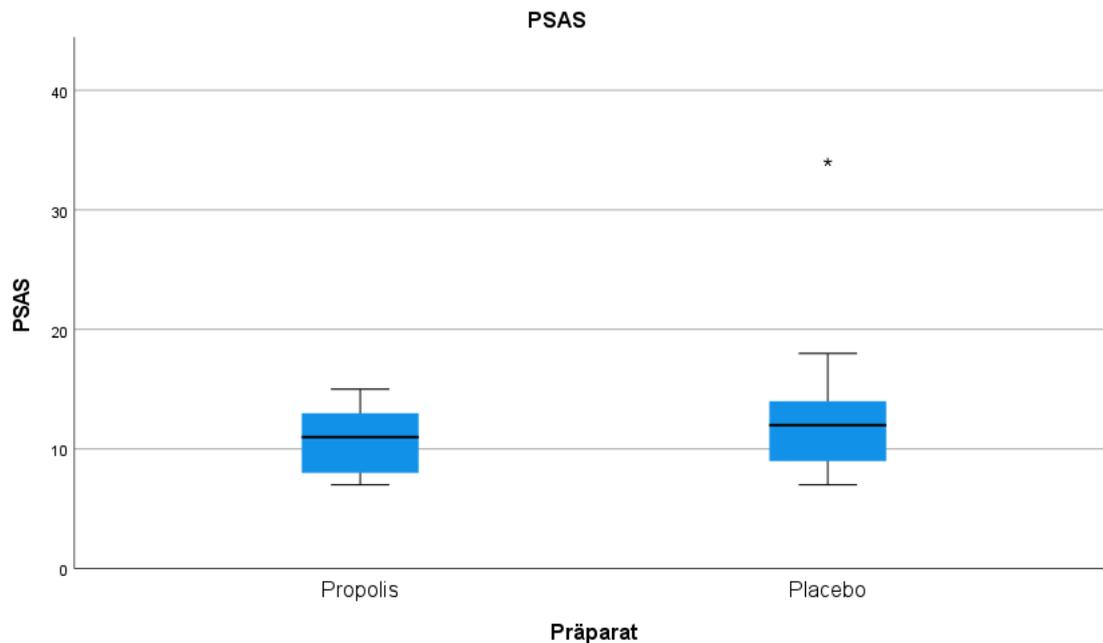


Abbildung 58 PSAS-Verteilung in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo); \*= Ausreißer; Es liegt kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Propolis vs. Placebo) vor (2-seitige Signifikanz  $p=0,512$  bei einem Signifikanzniveau von  $p=0,05$ ) (Mann-Whitney-U-Test).

Bei Nichtvorliegen einer Normalverteilung in der Placebo-Gruppe ( $p=0,049$ ) (Propolis  $p=0,200$ ) im Kolmogorov-Smirnov-Test (optimiert durch Lilliefors) wurde ein Mann-Whitney-U-Test als nichtparametrisches Verfahren zur Untersuchung der Gruppen bezüglich des PSAS durchgeführt. Bei diesem zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen ( $p=0,512$ ).

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede beider Scores (PSAS und VSS) in den Behandlungsgruppen nachgewiesen werden. Sprich zeigte die Anwendung von Propolis-Wundauflagen im Patientenkollektiv keinen Effekt auf die Wundheilung und Narbenbildung gemäß PSAS und VSS.

Das Vorliegen einer Korrelation zwischen dem objektiven (VSS) und dem subjektiven Resultat (PSAS) der Narbe wurde mittels Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (Spearman's Rho) und Kendalls-Tau-b untersucht.

Es lässt sich zwar, bei positiven Werten für Kendalls-Tau-b und Spearman's Rho, eine positive Korrelation zwischen dem VSS und dem PSAS vermuten (Kendalls-Tau-b = 0,170) (Spearman's Rho= 0,213), jedoch sind beide Korrelationen nicht signifikant (Kendalls-Tau-b  $p=0,309$ ) (Spearman's Rho  $p=0,342$ ) (Signifikanzniveau  $p=0,05$ ).

Somit besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Werten des VSS und des PSAS.

## Ergebnisse

Abb. 59 und 60 zeigen exemplarisch Narben, welche im Follow-Up in der 13. postoperativen Woche mittels PSAS und VSS beurteilt wurden. Die Narbe in Abb. 59 beurteilten der/die Patient\*in als sehr gut/gut, während die Narbe in Abb. 60 vom Prüfarzt als schlechter eingestuft wurde, als der/die Patient\*in es selbst tat.



Abbildung 59:  
Narbe zum Follow-Up in der 13. postoperativen Woche, Propolis-Gruppe, VSS 0 PSAS 13, somit wurde sie in beiden Scores als sehr gut/gut beurteilt; Kamera: Apple iPhone XS back camera, 1x Vergrößerung.

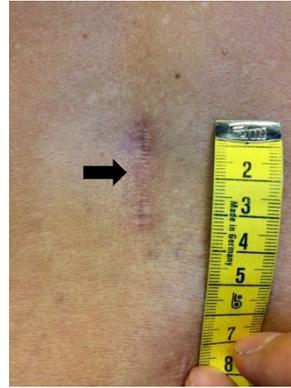


Abbildung 60 :  
Narbe zum Follow-Up in der 13. postoperativen Woche, Propolis-Gruppe, VSS 7 PSAS 8, somit wurde die Narbe vom Prüfarzt als schlechter eingeschätzt, als es der/die Patient\*in subjektiv selbst getan hat; Kamera: iPhone 5s back camera, 1x Vergrößerung.

### 4.2.2.2 Fotodokumentation des Narbenassessments

Die Fotodokumentation der Wunden fand im Rahmen der Erhebung der Narbenassessments (VSS/PSAS) unmittelbar postoperativ (noch im OP) und während der Follow-Up-Untersuchung (13. postoperative Woche) statt.

Die quantitative Analyse dieser Daten erfolgte bei der Auswertung der Scores VSS und PSAS. In der qualitativen Auswertung der Fotodokumentation fallen keine großen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Propolis vs. Placebo) auf.

Anbei die Beispiele zweier Patienten\*innen, jeweils einer Gruppe (Propolis/Placebo) (Abb. 61 – 64).

Abb. 61 und 63 (links) zeigen eine Wunde/Narbe der Propolis-Gruppe unmittelbar postoperativ (Abb. 61) und beim Follow-Up in der 13. postoperativen Woche (Abb. 63).

Auf der rechten Seite sind analog Aufnahmen einer Wunde/Narbe der Placebo-Gruppe zu sehen (Abb. 62 unmittelbar postoperativ; Abb. 64 13. postoperativen Woche).

# Ergebnisse

Propolis:

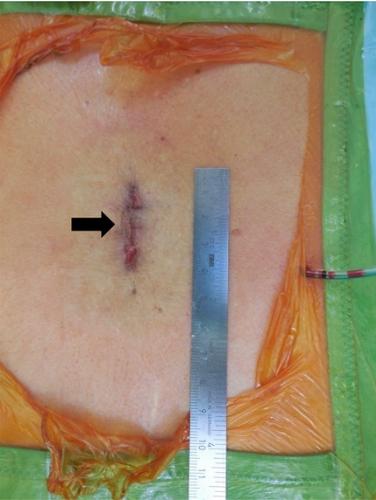


Abbildung 61 Wunde unmittelbar post-OP Propolis-Gruppe; Kamera: NIKON COOLPIX S6500, Vergrößerung 1x.

Placebo:

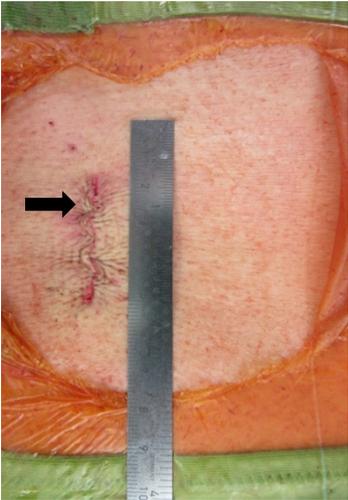


Abbildung 62 Wunde unmittelbar post-OP Placebo-Gruppe; Kamera: Canon PowerShot SX600 HS, Vergrößerung 1x.



Abbildung 63 Wunde 3 Monate post-OP Propolis-Gruppe; Kamera: Apple iPhone 5s back camera, Vergrößerung 1x.



Abbildung 64 Wunde 3 Monate post-OP Placebo-Gruppe; Kamera: Apple iPhone 5s back camera, Vergrößerung 1x.

# Diskussion

## 5 Diskussion

Entgegen der Annahme, dass Propolis die postoperative Wundheilung verbessere, zeigte sich sowohl in der klinischen als auch in der experimentellen Studie keine Verbesserung der Wundheilung oder Narbenbildung durch den Einsatz von Propolis als epikutane Wundaufgabe über eine Dauer von 30 Tagen, oder als Zusatz zum Medium der Zellkultur.

### 5.1 Die Standardisierung von Propolis-Tinkturen

Wie eingangs erwähnt handelt es sich bei Propolis um ein Naturprodukt mit variablen Inhaltsstoffen. Die Zusammensetzung ist unter anderem davon abhängig, in welcher Region die Bestandteile dafür von den Bienen gesammelt wurden (Martinotti, Ranzato, 2015). Somit beinhaltet Propolis viele, d.h. teilweise mehr als 300 nachgewiesene, unterschiedliche Komponenten (Sforcin, 2007), weshalb es sich sehr schwer standardisieren lässt (Bankova, de Castro, Marcucci, 2000).

In Brasilien kommen vor allem das grüne und das rote Propolis vor, welches somit dort vermehrt Gegenstand der aktuellen Forschung ist (Jacob *et al.*, 2015; Corrêa *et al.*, 2017b). Bei der Untersuchung der verschiedenen Propolis-Sorten wurde nun entdeckt, dass das Propolis, welches seine Herkunft in Deutschland, Irland oder Korea hat, die geringste antimikrobielle Wirkung zeigt (Przybyłek, Karpiński, 2019). Dies unterstützt die Annahme, dass die Herkunft und Zusammensetzung und somit die Wirksamkeit von Propolis deutlich variieren.

In dieser Studie wurde Propolis von einem deutschen Hersteller verwendet.

Es wurde in der experimentellen Studie eingehend mittels HPLC auf seine Zusammensetzung untersucht.

Trotzdem kann die Herkunft, welche sich vom Propolis anderer Studien unterscheidet auch die Unterschiede in der Wirksamkeit im Vergleich zu anderen Studien erklären. Zudem kann eine konstante, gleichbleibende Zusammensetzung der Propolis-Lösung chargenübergreifend durch den Hersteller nicht gewährleistet werden.

### 5.2 Kamillin-Tinktur als Placebo

Der charakteristische Geruch, die Farbe und Textur der Propolis-Lösung stellten bei der Herstellung des Placebos eine Herausforderung dar. Für diesen Einsatz zugelassene Farbstoffe konnten die Farbe der propolishaltigen Lösung nicht angemessen imitieren. Somit wurde bei der Herstellung des Placebos auf eine Kamillin-Lösung zurückgegriffen. Diese ähnelte der

## Diskussion

Propolis-Lösung in Farbe und Textur. Zudem ist sie zur Anwendung am Menschen zugelassen und unbedenklich. Die Lösung wurde stark verdünnt, weshalb laut Aussage des leitenden Klinikapothekers ein möglicher Effekt durch die in Kamillin enthaltenen Stoffe auf die Wundheilung auszuschließen war. Nichtsdestotrotz ist bekannt, dass es sich bei Kamillin-Konzentrat um ein pflanzliches Arzneimittel handelt.

### 5.3 Die Korrelation von Wirkung und Konzentration

Derzeit wird die Wirkung von Propolis von diversen Arbeitsgruppen in den verschiedensten Ländern untersucht (Kilicoglu, Erdemli, 2008; Berretta, Nascimento, Bueno, Leite Vaz, *et al.*, 2012; Henshaw *et al.*, 2014; Pasupuleti *et al.*, 2017).

In daraus resultierenden Arbeiten wird von positiven Effekten auf die Proliferation, Migration und Viabilität von Propolis auf die untersuchten Zellen gesprochen (Castaldo, Capasso, 2002; Martinotti, Ranzato, 2015). In unserer Studie wurden sowohl in-vitro als auch in-vivo statistisch keine signifikanten Effekte auf die Fibroblastenproliferation bzw. Wundheilung nach dorsalem Zugang zur Wirbelsäule mit einem mehrschichtigem Wundverschluss durch Naht nachgewiesen.

Die Literaturrecherche zeigte, dass in den durchgeführten Studien mit unterschiedlichen Konzentrationen der Propolis-Lösung gearbeitet wurde (Berretta, Nascimento, Bueno, de Oliveira Lima Leite Vaz, *et al.*, 2012; Jacob *et al.*, 2015; Khodabakhshi *et al.*, 2019; Martinotti *et al.*, 2019). Zu Beginn unserer Studie haben wir uns für die auf dem Markt erhältliche 15 %ige wässrige Lösung des Propolis entschieden.

Aktuelle Studien zeigen nun, dass die Wirkung von Propolis stark abhängig von seiner Konzentration ist (Jacob *et al.*, 2015; Khodabakhshi *et al.*, 2019). Martinotti *et al.* veröffentlichten in ihrer Arbeit, die effektivste Konzentration des Propolis zur Induktion der Wundheilung liege bei 0,001 % (Martinotti *et al.*, 2019). Berretta *et al.* wiederum beschreiben die vielversprechendste antimikrobielle und wundheilungsfördernde Wirkung von Propolis bei einer Konzentration von 3,6 % (Berretta, Nascimento, Bueno, Leite Vaz, *et al.*, 2012). Die Arbeitsgruppe um A. Jacob beschrieb zudem eine inhibitorische Wirkung von Propolis auf die Proliferation über dem Grenzwert von 100 µg/ml (Jacob *et al.*, 2015).

In der Arbeit von S. Martinotti und Mitarbeitern zeigte sich, dass auch die Zelltoxizität von Propolis abhängig von der verwendeten Konzentration ist. Bei der EC50 (halb maximale effektive Konzentration) zeigte sich eine Zelltoxizität von 0,048 %, währenddessen diese bei der EC05 (5 % maximale effektive Konzentration) bei 0,015 % lag (getestet an HaCaT-Zellen) (Martinotti *et al.*, 2019).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die wirkungsvollste Konzentration von Propolis noch kontrovers diskutiert wird und Gegenstand aktueller Untersuchungen ist.

## Diskussion

### 5.4 Das Einsatzgebiet von Propolis

Propolis zeigte bereits in zahlreichen Studien einen positiven Effekt auf die Wundheilung (Tosi *et al.*, 1996; Kujumgiev *et al.*, 1999; Vynograd, Vynograd and Sosnowski, 2000; Castaldo, Capasso, 2002; Huleihel, Isanu, 2002; Scott R Gregory *et al.*, 2002; Gekker *et al.*, 2005; Nolkemper *et al.*, 2010; Berretta, Nascimento, Bueno, de Oliveira Lima Leite Vaz, *et al.*, 2012; Jastrzębska-Stojko *et al.*, 2013; Martinotti, Ranzato, 2013; Henshaw *et al.*, 2014; Takzaree *et al.*, 2016).

Untersucht wurden dabei jedoch meist Ulzerationen (Kucharzewski, Kózka, Urbanek, 2013b; Henshaw *et al.*, 2014; Afkhamizadeh *et al.*, 2018; Mujica *et al.*, 2019) oder Verbrennungen (De Almeida *et al.*, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, *et al.*, 2013; Olczyk, Komosinska-Vassev, Wisowski, Mencner, Stojko, Ewa M Kozma, 2014; Krupp *et al.*, 2019). Auch beim Einsatz auf Schleimhäuten in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde zeigte Propolis positive Effekte (Henatsch *et al.*, 2016; Moon *et al.*, 2018).

Diese Einsatzbereiche wurden vermutlich gewählt, weil gerade dort chronische Wunden und Wundinfektionen bestehen oder entstehen. Zudem handelt es sich bei Verbrennungen und Ulzerationen, verglichen mit chirurgischen Schnittwunden, in der Regel um Wunden mit größeren Wundflächen. Es lässt sich vermuten, dass die größere Wundfläche auch eine größere Wirkungsfläche für die aufgetragene Tinktur darstellt.

Studien zur Verbesserung der Wundheilung durch Propolis nach chirurgischen Eingriffen beim Menschen wurden bisher nicht veröffentlicht. Eine Studie von Ashraf untersuchte die Wundheilung nach einem Hautschnitt unter sterilen Kautelen bei Hunden. Dort zeigte sich eine verbesserte Wundheilung durch Verwendung der Propolis-Tinktur über 5 Wochen nach der Hautinzision (Abu-Seida, 2015).

Somit lässt sich noch nicht klar sagen, bei welcher Art von Wunde Propolis den größten Vorteil in der Wundheilung bringt.

### 5.5 Allergie, Kontaktdermatitis und Propolis

Aufgrund des allergogenen Potenzials von Bienenprodukten, schloss man Patienten mit einer anamnestisch bekannten Bienenallergie von der Studie aus. Propolis wurde zudem in der Literatur wiederholt als ein Produkt mit einem geringen Nebenwirkungsprofil beschrieben (Rajpara *et al.*, 2009; Henshaw *et al.*, 2014). Trotzdem konnten in unserer Studie allergische Reaktionen auf die Propolis-Tinktur beobachtet werden. In der Propolis-Gruppe kam es bei 3

## Diskussion

Patienten zum Studienabbruch infolge einer Hautreaktion mit Rötung, Schwellung und Juckreiz. Diese Hautreaktionen waren in der Placebo-Gruppe nicht zu beobachten.

Da bei den betroffenen Probanden keine Bienenallergie bekannt war, ist es möglich, dass eine allergische Reaktion unabhängig von der Allergie zu Bienen und Honig auftreten kann. Diese These ist auch in der Arbeit von J. M. Sforcin zu finden, wo von einer Allergie und Kontaktdermatitis in Zusammenhang mit Propolis berichtet wird, welche zu unterscheiden ist von der sonst bekannten Allergie gegenüber Honig (Sforcin, 2007).

Auch bei diesem Sachverhalt kann die Konzentration des Propolis-Präparats eine große Rolle spielen. Kucharzewski et al. beschreibt in seiner Arbeit eine lokale Intoleranz gegenüber Propolis, welche abhängig von der Konzentration der Tinktur sei (Kucharzewski, Kózka, Urbanek, 2013a). Sforcin, Orsi und Bankova veröffentlichten, dass Propolis in höheren Konzentrationen (300 µg/ml) direkt Mastzellen aktiviere. Diese setzen proinflammatorische Mediatoren frei, was in Zusammenhang gebracht werden kann mit der allergischen Reaktion mancher Probanden auf Propolis (Sforcin, Orsi, Bankova, 2005).

Es ist also anzunehmen, dass Propolis, vor allem in höheren Konzentrationen, ein Potenzial für allergische Reaktionen und Kontaktdermatitiden hat.

### 5.6 Wundauflagen als Alternative zur perioperativen Antibiotikaphylaxe?

Durch die mögliche Entwicklung einer Wundauflage, welche suffizient eine postoperative Wundheilungsstörung verhindern kann, stellt sich die Frage, ob man in der Zukunft auf eine perioperative Antibiotikaphylaxe verzichten könnte. Dies würde einige Vorteile mit sich bringen, wie zum Beispiel, dass die Notwendigkeit einer systemischen Gabe eines Antibiotikums vermieden werden könnte. Nach aktuellem Stand der Wissenschaft gibt es jedoch noch keine Wundauflage, welche eine perioperative Antibiotikaphylaxe vollständig ersetzen kann. Auch in dieser Studie, erfolgte standardmäßig eine perioperative Antibiotikaphylaxe. Die Wundauflagen mit der Idee zur Verminderung von Surgical Site Infections gelten derzeit nur als Adjuvans.

### 5.7 Anwendung der Wundauflage

Der Erfolg der Studie war sehr stark von der Mitarbeit der Patienten abhängig.

Diese mussten die vorgeschriebenen 30 Tage Anwendung der Wundauflage, inklusive regelmäßiger Wechsel dieser, selbstständig und ohne ständige Kontrolle durch die Studienleitung fortführen. Die korrekte Durchführung wurde eingangs sorgfältig mit den Patienten

## Diskussion

besprochen. Zudem befragte man die Patienten in der 13. postoperativen Woche beim Follow-Up zur sachgemäßen Anwendung der Wundauflage.

Um das Risiko einer fehlerhaften Anwendung zu minimieren, wurde zudem eine Anleitung für die Patienten, ihre Angehörigen und auch ihre/n Hausarzt/-ärztin angefertigt (Anhang 15.3 Anleitung zur Anlage eines Propolis-Oklusivverbandes, S. 100).

### 5.8 Patientenkollektiv

Es handelte sich um eine monozentrische Studie. Viele wirbelsäulenchirurgische Operationen werden heute in minimalinvasiver Operationstechnik (ohne Hautschnitt) durchgeführt und konnten daher nicht eingeschlossen werden. Zusätzlich zu den Ausschlusskriterien, die den Einschluss vieler Patienten limitierten, kam es außerdem zu Abbrüchen der Studie. Diese waren zumeist Folge von Non-Compliance der Patienten oder Hautreaktionen auf die Wundauflage.

Demnach blieb das Patientenkollektiv, welches eingeschlossen werden konnte relativ klein.

### 5.9 Nahtmaterialien

Ziel einer Hautnaht ist der komplikationslose Hautverschluss mit einer problemlosen Wundheilung und einer kosmetisch ansprechenden Narbe als Ergebnis.

Das Ergebnis des Hautverschlusses ist multifaktoriell bedingt. In dieser Studie bezog man so viele dieser Faktoren wie möglich mit ein. Einer davon ist das verwendete Nahtmaterial, welches einen möglichen Einfluss auf die Wundheilung auf zellulärer Ebene hat.

Um für eine Standardisierung dieses Faktors zu sorgen, setzte man in der klinischen Studie ausschließlich die Fäden SERAFIT® 3/0, SERAFIT® 0 und SERAFIT® 1 der Firma Serag-Wiessner GmbH & Co. KG ein. Alle verwendeten Fäden sind resorbierbar und wechselwirken somit mit den Zellen.

Die Studie untersuchte die Interaktion zwischen den Fäden und den Fibroblasten, auch unter Einfluss von Propolis oder dem Placebo. Es wurden jedoch nur diese drei Fäden untersucht. Somit können nur Aussagen über den Einfluss von Propolis auf die Wundheilung im Zusammenhang eben diesen drei Fäden getroffen werden.

Unter der Verwendung von anderen Nahtmaterialien könnte es möglicherweise zu anderen Ergebnissen kommen. Man müsste demnach die Versuche auch mit anderen Nahtmaterialien durchführen.

## Diskussion

### 5.10 Methodenkritik

#### 5.10.1 Experimenteller Teil

Allgemein bekannt ist, dass manuelle Prozesse fehlerbelastet sein können und somit ihre Ergebnisse einer gewissen Streuung unterliegen.

##### *Zellzahl:*

Für die Bestimmung der Lebendzellzahl gilt die visuelle Zählung mittels Bürker-Kammer als bewährtes Mittel. Nichtsdestotrotz kann es bei dieser Methode zu Ungenauigkeiten kommen, welche die Ergebnisse der im Anschluss durchgeführten Versuche beeinflussen können.

Zur Zählung der Zellen stellte man eine Zellsuspension her. Durch Verwirbelungen mittels Pipette und die Anwendung eines Vortexers soll eine möglichst homogene Suspension hergestellt werden. Dennoch können Inhomogenitäten der Suspension dazu führen, dass zum einen die Zählung ungenau ist und somit die Wells nicht mit der korrekten Zellzahl beimpft werden. Zum anderen kann auch nach dem Zählvorgang durch eine inhomogene Zellsuspension eine fehlerhafte Zellzahl pro Well auftreten.

Zur Durchführung des MTT- und des CellTiter-Glo®-Assays beimpfte man die Wells, welche man vorher mit dem jeweiligen Faden versah, mit der berechneten Menge an Zellsuspension. Diese Menge wurde danach bestimmt, welche Zellzahl für den Versuch benötigt wird. Vor der Auswertung mittels ELISA mussten die Fäden jedoch entfernt werden, da diese die spektroskopische Untersuchung beeinflussen würden. Hierbei kam es zu einem unbekanntem Verlust von Zellen in den Wells, welche auf dem Faden wuchsen. Zudem können Zellen, selbst bei sehr vorsichtigem Arbeiten, durch diesen Vorgang der Entnahme des Nahtmaterials beschädigt worden sein.

##### *Lösungsmittel:*

Eine weitere Fehlerquelle bezüglich der Assays MTT- und CellTiter-Glo® kann auch die Verwendung der Lösungsmittel sein. Laut Promega, Hersteller des CellTiter-Glo®-Assays, zeigt beispielsweise das Lösungsmittel DMSO unter einer Konzentration von 2 % nur minimale Effekte auf die Lumineszenz. Sigma Aldrich machte in seiner MTT-Testkitbeschreibung keine Angaben zur Interferenz von Lösungsmitteln und der kolometrischen Reaktion. Wir verwendeten als Lösungsmittel Alkohol, welcher nicht in den Hinweisen der Hersteller thematisiert wurde. Er ist Bestandteil der verwendeten Propolis- und Kamillin-Lösungen. Alkohol oder auch Propolis oder Kamillin selbst können die Lumineszenz (CellTiter-Glo®-Assay) oder auch die kolometrische Reaktion (MTT-Assay) beeinflusst und somit Ergebnisse beeinflusst haben.

## Diskussion

### *Zellulärer ATP-Gehalt:*

Promega thematisiert in seiner Testkitbeschreibung des CellTiterGlo-Assays® außerdem den zellulären ATP-Gehalt. In verankerungsabhängige Zellen, zu denen auch die hier verwendeten ortsständigen Fibroblasten zählen, kann der intrazelluläre ATP-Gehalt in Abhängigkeit der Zelldichte variieren. Daraus resultiert ein nicht-linearer Zusammenhang zwischen Zellzahl und Lumineszenz (Promega, 2015).

### *Zelllinie vs. Zellverbund:*

Zur Durchführung der In-Vitro-Versuche arbeiten wir mit einer bestimmten Zelllinie, Fibroblasten der Fa. PromCell. Diese Zelllinie wurde stets einzeln betrachtet und niemals im Zusammenhang mit anderen Zellen. Somit können die Ergebnisse der In-vitro-Versuche nicht direkt auf den menschlichen Organismus übertragen werden, wo Zellverbände vorliegen. Die Interaktion der unterschiedlichen zellulären Verbände unter Einfluss von Propolis können anhand dieser Studie nicht beurteilt werden.

## 5.10.2 Klinischer Teil

### *Narbenassessment:*

Die für das Narbenassessment verwendeten Scores (VSS und PSAS) gelten in der Literatur als valide Scores zur Narbenbeurteilung (VSS: (Nedelec, Shankowsky, Tredget, 2000; Chan *et al.*, 2005; I. Stoffels *et al.*, 2010) PSAS: (I. Stoffels *et al.*, 2010)).

Um die Erhebung der Daten zu standardisieren führte diese nur ein Arzt durch. Nichtsdestotrotz ist es kein automatisiertes Verfahren, sondern wird von einem Menschen durchgeführt. Dieser verhält sich so objektiv wie nur möglich, aber auch seine Wahrnehmung kann an verschiedenen Tagen unterschiedlich sein.

### *Erhebung des PSAS:*

Die Durchführung des PSAS-Assessments war mitunter erschwert, da sich die Narbe auf dem Rücken der Patienten befand. Wir machten sie durch Spiegel für die Patienten sichtbar. Doch gerade bei den älteren Patienten war dies, meist durch einen verminderten Visus oder eine herabgesetzte Mobilität, schwierig. Ihnen fiel es schwerer, als jüngeren Patienten, die Narben zu beurteilen.

# Zusammenfassung

## 6 Zusammenfassung

Ein komplikationsloser Hautverschluss ist Voraussetzung für gute klinische Behandlungsergebnisse und kosmetisch ansprechende Narben nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen. Andererseits können Wundheilungsstörungen Infektionen, Schmerzen, vermehrte Narbenbildung und höhere Behandlungskosten verursachen.

Die Frage des optimalen Wundverschlusses nach dorsalen Eingriffen an der Brust- und Lendenwirbelsäule ist bisher nicht systematisch untersucht und evaluiert worden, jedoch nach wie vor von großem Interesse - in erster Linie für die Betroffenen selbst, aber auch für den Chirurgen, die Therapeuten und Kostenträger der Behandlung.

Propolis als naturheilkundliches Ergänzungspräparat ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Noch sind diesbezüglich viele Fragen offen.

In der vorliegenden Arbeit wurde Propolis erstmals sowohl in-vitro als auch in-vivo auf seine Wirksamkeit auf die Fibroblastenproliferation, Wundheilung und die klinischen Ergebnisse der Narbenbildung, nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen mit Wundverschluss durch Naht, prospektiv randomisiert untersucht.

Die Propolis-Tinktur untersuchte man anhand von Bindegewebszellen (Fibroblasten) mit einer experimentellen in-vitro Studie (Teil 1). Hierbei wurde sowohl das Propolis, als auch die Reaktion der Fibroblasten, gemeinsam mit dem Nahtmaterial, auf die Tinktur näher charakterisiert.

In der in dieser Arbeit gewählten Anwendung und Konzentration der Propolis-Lösung zeigte sich kein Effekt auf die Proliferation und Viabilität der untersuchten Zellen.

Bei der Aufklärung über die Studie und die Anwendung von Propolis, als naturheilkundliches Präparat mit möglicherweise vorteilhaftem Effekt, waren die Patienten stets sehr offen für die Teilnahme an dieser. Jedoch zeigte sich kein statistisch signifikanter Vorteil gegenüber der Anwendung des Placebos (VSS: Propolis  $p=0,154$ ; Placebo  $p=0,089$ ; PSAS: Placebo  $p=0,049$ ; Propolis  $p=0,200$ ).

Die Studie vergleicht die Ergebnisse unterschiedlicher Wundauflagen nach Wundverschluss bei dorsalen wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen an der Brust- und Lendenwirbelsäule (Teil2). Hierzu wurden die Patienten zwei verschiedenen Gruppen zugeteilt und erhielten die dementsprechende Behandlung. Gruppe 1 erhielt einen Wundverschluss durch eine dreischichtige Naht mit Propolis-haltiger Wundauflage. Verglichen wurde diese mit Gruppe 2, welche ebenfalls einen Wundverschluss mit dreischichtiger Naht bekam, jedoch mit einer mit Placebo-Tinktur getränkten Wundauflage.

## Zusammenfassung

Die unterschiedlichen therapeutischen Wirkungen der Wundauflagen auf die Narbenbildung wurden durch den klinisch, prospektiv randomisierten Teil der Studie (Teil 2) evaluiert. Dabei kamen validierte Scores, die Vancouver Scar Scale (VSS) und die Patient Assessment Scale (PSAS) zur Beurteilung der Narben zum Einsatz.

Vorbehaltlich der kleinen Fallzahlen und des nachuntersuchten Anwendungsbeispiels (chirurgischer Wundverschluss durch mehrschichtige Naht am Rücken) ist nicht auszuschließen, dass mit Propolis bei anderer Verwendung und in unterschiedlicher Konzentration bessere Ergebnisse bei der Behandlung beispielsweise sekundär heilender Wundheilung (z.B. Ulcera cruris) erzielt werden können.

Zur Klärung dieser Fragen bedarf es weiterer Studien mit korrekten Fragestellungen (Art der Anwendung, Konzentration der Lösung, Dauer und Zusammensetzung des Präparates).

## Ausblick

### 7 Ausblick

Die Studienlage zeigt, dass es sich bei Propolis um einen potenziellen Kandidaten als Ergänzungspräparat zur Verbesserung der Wundheilung handelt.

Die von uns durchgeführte Pilotstudie zeigte jedoch keinen Vorteil durch die Anwendung von Propolis in-vitro und in-vivo.

Um der Frage weiter nachzugehen, ob Propolis zur Verbesserung der Wundheilung beitragen kann und somit in den klinischen Alltag mit integriert werden kann, bedarf es nun noch weiteren Studien.

Hierbei sollten korrekte Fragestellungen geklärt werden wie beispielsweise:

1. Welcher Inhaltsstoff von Propolis trägt am meisten zu seiner Wirksamkeit bei?
2. Wie lässt sich eine Propolis-Lösung und ihre Zusammensetzung standardisieren?
3. Welche Konzentration der Propolis-Lösung zeigt eine optimale Wirkung?
4. Können durch propolishaltige Wundauflagen postoperativ chirurgische Begleitinfektionen vermindert werden?
5. Wie ist das allergogene Potenzial von Propolis einzuschätzen?
6. Welche Patienten profitieren am meisten von dem Einsatz von propolishaltigen Wundauflagen? (z.B. Patienten mit Wunden nach Hautschnitt im Rahmen einer Operation, Dekubitus, Ulkus, Verbrennungen)

Sowohl in-vivo als auch in-vitro werden noch Daten benötigt (ein größeres Patientenkollektiv und mehr Versuche auf zellulärer Ebene), um eine genauere Aussage über das Potenzial von Propolis in der Medizin machen zu können.

## Literaturverzeichnis

### 8 Literaturverzeichnis

Abbasi, A. J. *et al.* (2018) 'Applications of Propolis in Dentistry: A Review', *Ethiopian journal of health sciences*. doi: 10.4314/ejhs.v28i4.16.

Abu-Seida, A. M. (2015) 'Effect of propolis on experimental cutaneous wound healing in dogs', *Veterinary Medicine International*. doi: 10.1155/2015/672643.

Afkhamizadeh, M. *et al.* (2018) 'Topical propolis improves wound healing in patients with diabetic foot ulcer: a randomized controlled trial', *Natural Product Research*. doi: 10.1080/14786419.2017.1363755.

Ahangari, Z., Naseri, M., Vatandoost, F. (2018) 'Propolis: Chemical composition and its applications in endodontics', *Iranian Endodontic Journal*. Iranian Association of Endodontics, 13(3), pp. 285–292. doi: 10.22037/iej.v13i3.20994.

Akhavan-Karbassi, M. H. *et al.* (2016) 'Randomized double-blind placebo-controlled trial of propolis for oral mucositis in patients receiving chemotherapy for head and neck cancer', *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*.

De Almeida, E. B. *et al.* (2013) 'The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/j.jep.2013.03.031.

Amoros, M. *et al.* (1992) 'In vitro antiviral activity of propolis', *Apidologie*. doi: 10.1051/apido:19920306.

Ando, M. *et al.* (2014) 'Surgical site infection in spinal surgery: A comparative study between 2-octyl-cyanoacrylate and staples for wound closure', *European Spine Journal*. doi: 10.1007/s00586-014-3202-5.

Atkinson, R. A. *et al.* (2017) 'Management and cost of surgical site infection in patients undergoing surgery for spinal metastasis', *Journal of Hospital Infection*. doi: 10.1016/j.jhin.2016.11.016.

Bankova, V. S., de Castro, S. L., Marcucci, M. C. (2000) 'Propolis: recent advances in chemistry and plant origin', *Apidologie*. EDP Sciences, 31(1), pp. 3–15. doi: 10.1051/apido:2000102.

Barker, F. G. *et al.* (2002) 'Efficacy of prophylactic antibiotic therapy in spinal surgery: A meta-analysis', *Neurosurgery*. doi: 10.1097/00006123-200208000-00017.

Berretta, A. A., Nascimento, A. P., Bueno, P. C. P., Leite Vaz, M. M. de O. L., *et al.* (2012) 'Propolis standardized extract (EPP-AF®), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds', *International Journal of Biological Sciences*, 8(4), pp. 512–521. doi: 10.7150/ijbs.3641.

## Literaturverzeichnis

Berretta, A. A., Nascimento, A. P., Bueno, P. C. P., de Oliveira Lima Leite Vaz, M. M., *et al.* (2012) 'Propolis Standardized Extract (EPP-AF®), an Innovative Chemically and Biologically Reproducible Pharmaceutical Compound for Treating Wounds', *International Journal of Biological Sciences*, 8(4), pp. 512–521. doi: 10.7150/ijbs.3641.

Boody, B. S. *et al.* (2015) 'Surgical site infections in spinal surgery', *Journal of Spinal Disorders and Techniques*. doi: 10.1097/BSD.0000000000000339.

BRAND GMBH + CO KG © (2021) BRAND GMBH + CO KG, 2021. Available at: <https://www.brand.de/zaehlkammern>.

Brown, B. C. *et al.* (2008) 'The hidden cost of skin scars: quality of life after skin scarring', *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. doi: 10.1016/j.bjps.2008.03.020.

Castaldo, S., Capasso, F. (2002) 'Propolis, an old remedy used in modern medicine', *Fitoterapia*, 73(SUPPL. 1), pp. S1-6. doi: 10.1016/S0367-326X(02)00185-5.

Chan, K. Y. *et al.* (2005) 'A randomized, placebo-controlled, double-blind, prospective clinical trial of silicone gel in prevention of hypertrophic scar development in median sternotomy wound', *Plastic and Reconstructive Surgery*, 116(4), pp. 1013–1020. doi: 10.1097/01.prs.0000178397.05852.ce.

Corrêa, F. R. S. *et al.* (2017a) 'Brazilian red propolis improves cutaneous wound healing suppressing inflammation-associated transcription factor NFκB', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86, pp. 162–171. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.018.

Corrêa, F. R. S. *et al.* (2017b) 'Brazilian red propolis improves cutaneous wound healing suppressing inflammation-associated transcription factor NFκB', *Biomedicine and Pharmacotherapy*. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.018.

Cromi, A. *et al.* (2010) 'Cosmetic outcomes of various skin closure methods following cesarean delivery: a randomized trial', *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Elsevier Inc., 203(1), pp. 36.e1-36.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2010.02.001.

Daykan, Y. *et al.* (2017) 'Skin closure at cesarean delivery, glue vs subcuticular sutures: a randomized controlled trial', in *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. doi: 10.1016/j.ajog.2017.01.009.

Demura, S. *et al.* (2009) 'Surgical site infection in spinal metastasis: Risk factors and countermeasures', *Spine*. doi: 10.1097/BRS.0b013e31819712ca.

Dobrowolski, J. W. *et al.* (1991) 'Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/0378-8741(91)90135-Z.

## Literaturverzeichnis

Draaijers, L. J. *et al.* (2004) 'The patient and observer scar assessment scale: a reliable and feasible tool for scar evaluation.', *Plastic and reconstructive surgery*, 113(7), pp. 1960–5; discussion 1966–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15253184> (Accessed: 27 November 2018).  
Fang, A. *et al.* (2005) 'Risk factors for infection after spinal surgery', *Spine*. doi: 10.1097/01.brs.0000166532.58227.4f.

FERNANDES JR., A. *et al.* (2001) 'The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees', *Journal of Venomous Animals and Toxins*. doi: 10.1590/s0104-79302001000200003.

Gareis, M. (2006) 'Diagnostischer Zellkulturtest (MTT-test) für den Nachweis von Zytotoxischen Kontaminanten und Rückständen', *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 1(4), pp. 354–363. doi: 10.1007/s00003-006-0058-6.

Gekker, G. *et al.* (2005) 'Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/j.jep.2005.05.045.

Gonsales, G. Z. *et al.* (2006) 'Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil', *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. doi: 10.1590/S1678-91992006000200009.

Grange, J. M., Davey, R. W. (1990) 'Antibacterial properties of propolis (bee glue).', *Journal of the Royal Society of Medicine*.

Gregory, Scott R *et al.* (2002) 'Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns.', *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*, 8(1), pp. 77–83. doi: 10.1089/107555302753507203.

Gregory, Scott R. *et al.* (2002) 'Comparison of Propolis Skin Cream to Silver Sulfadiazine: A Naturopathic Alternative to Antibiotics in Treatment of Minor Burns', *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. doi: 10.1089/107555302753507203.

Gwak, J. *et al.* (2011) 'Galangin suppresses the proliferation of  $\beta$ -catenin response transcription-positive cancer cells by promoting adenomatous polyposis coli/axin/glycogen synthase kinase-3 $\beta$ -independent  $\beta$ -catenin degradation', *Molecular Pharmacology*. doi: 10.1124/mol.110.069591.

Henatsch, D. *et al.* (2016) 'Honey and beehive products in otorhinolaryngology: a narrative review', *Clinical Otolaryngology*. doi: 10.1111/coa.12557.

Henne-Bruns D, Krüger U, W. F. (2012) *Duale Reihe - Chirurgie*. Thieme.

Henshaw, F. R. *et al.* (2014) 'Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a prospective feasibility study', *Journal of Diabetes and its Complications*. The Authors., 28(6), pp. 850–857. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2014.07.012.

## Literaturverzeichnis

Huleihel, M., Isanu, V. (2002) 'Anti-herpes simplex virus effect of an aqueous extract of propolis', *Israel Medical Association Journal*.

Ilgenfritz Neto, J. *et al.* (2017) 'The application of cyanoacrylate surgical glue on skin suture in rats', *Acta Cirurgica Brasileira*, 32(1), pp. 56–64. doi: 10.1590/s0102-865020170107.

Jacob, A. *et al.* (2015) 'The effects of Malaysian propolis and Brazilian red propolis on connective tissue fibroblasts in the wound healing process', *BMC Complementary and Alternative Medicine*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/s12906-015-0814-1.

Jastrzębska-Stojko, Ż. *et al.* (2013) 'Biological Activity of Propolis-Honey Balm in the Treatment of Experimentally-Evoked Burn Wounds', *Molecules*, 18(11), pp. 14397–14413. doi: 10.3390/molecules181114397.

van de Kar AL, Corion LUM, Smeulders MJC, Draaijers LJ, van der Horst CMAM, van Zuijlen PPM (2005) 'Reliable and feasible evaluation of linear scars by the Patient and Observer Scar Assessment Scale', *Plastic and reconstructive surgery*. doi: 10.1097/01.prs.0000172982.43599.d6.

Kawahara, K., Shimazu, A. (2003) 'Expression and intracellular localization of progesterone receptors in cultured human gingival fibroblasts', *Journal of Periodontal Research*, 38(3), pp. 242–246. doi: 10.1034/j.1600-0765.2003.00654.x.  
Khasa I, Harrison B, J. J. (2016) 'Evidence-Based Scar Management: How to Improve Results with Technique and Technology', *Plastic and reconstructive surgery*. doi: 10.1097/PRS.0000000000002647.

Khodabakhshi, D. *et al.* (2019) 'In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.03.010.

Kilicoglu, S. S., Kilicoglu, B., Erdemli, E. (2008) 'Ultrastructural view of colon anastomosis under propolis effect by transmission electron microscopy', *World Journal of Gastroenterology*, 14(30), p. 4763. doi: 10.3748/wjg.14.4763.

Krupp, T. *et al.* (2019) 'NATURAL RUBBER - PROPOLIS MEMBRANE IMPROVES WOUND HEALING IN SECOND-DEGREE BURNING MODEL', *International Journal of Biological Macromolecules*. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.147.

Kucharzewski, M., Kózka, M., Urbanek, T. (2013a) 'Topical Treatment of Nonhealing Venous Leg Ulcer with Propolis Ointment', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, pp. 1–5. doi: 10.1155/2013/254017.

Kucharzewski, M., Kózka, M., Urbanek, T. (2013b) 'Topical Treatment of Nonhealing Venous Leg Ulcer with Propolis Ointment', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, pp. 1–5. doi: 10.1155/2013/254017.

## Literaturverzeichnis

Kühnel, W. (2002) *Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie*.

Kujumgiev, A. et al. (1999) 'Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/S0378-8741(98)00131-7.

Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., Krol, W. (2013) 'Historical Aspects of Propolis Research in Modern Times', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2013/964149.

Li, X. (2018) *FGFs in Injury Repair and Regeneration, Fibroblast Growth Factors*. doi: 10.1016/b978-0-12-816142-5.00002-3.

Liu, J. M. et al. (2018) 'Risk Factors for Surgical Site Infection after Posterior Lumbar Spinal Surgery', *Spine*. doi: 10.1097/BRS.0000000000002419.

Lüllmann-Rauch, R. (2009) *Histologie*. Thieme.

Marcucci, M. C. et al. (2001) 'Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/S0378-8741(00)00326-3.

Martinotti, S. et al. (2019) 'Propolis induces AQP3 expression: A possible way of action in wound healing', *Molecules*, 24(8), pp. 1–12. doi: 10.3390/molecules24081544.

Martinotti, S., Ranzato, E. (2013) *Dynamic interplay between cell types during wound healing, Keratinocytes: Structure, Molecular Mechanisms and Role in Immunity*.

Martinotti, S., Ranzato, E. (2015) 'Propolis: a new frontier for wound healing?', *Burns & Trauma*. *Burns & Trauma*, 3(1), p. 9. doi: 10.1186/s41038-015-0010-z.

Meseci, E. et al. (2017) 'Comparison of the effectiveness of topical silicone gel and corticosteroid cream on the pfnannenstiel scar prevention — a randomized controlled trial', *Ginekologia Polska*, 88(11), pp. 591–598. doi: 10.5603/GP.a2017.0107.

Miltyk, W. et al. (2014) 'Verification of Chemical Composition of Commercially Available Propolis Extracts by Gas Chromatography–Mass Spectrometry Analysis', *Journal of Medicinal Food*. doi: 10.1089/jmf.2014.0069.

Moon, J. H. et al. (2018) 'Effect of topical propolis on wound healing process after tonsillectomy: Randomized controlled study', *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*. doi: 10.21053/ceo.2017.00647.

Moritz, W., Hanke, S., Kofer, J. (2012) 'Zellbasierte assays: Zellviabilität messen - Auch in 3D', *BioSpektrum*, 18(2), pp. 186–187. doi: 10.1007/s12268-012-0163-2.

## Literaturverzeichnis

Mujica, V. *et al.* (2019) 'Propolis as an Adjuvant in the Healing of Human Diabetic Foot Wounds Receiving Care in the Diagnostic and Treatment Centre from the Regional Hospital of Talca', *Journal of Diabetes Research*. Hindawi Limited, 2019. doi: 10.1155/2019/2507578.

Mundy, L. R. *et al.* (2016) 'Patient-Reported Outcome Instruments for Surgical and Traumatic Scars: A Systematic Review of their Development, Content, and Psychometric Validation.', *Aesthetic plastic surgery*. NIH Public Access, 40(5), pp. 792–800. doi: 10.1007/s00266-016-0642-9.

Nedelec, B., Shankowsky, H. A., Tredget, E. E. (2000) 'Rating the resolving hypertrophic scar: Comparison of the Vancouver Scar Scale and scar volume', *Journal of Burn Care and Rehabilitation*. doi: 10.1097/00004630-200021030-00005.

Nolkemper, S. *et al.* (2010) 'Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts', *Phytomedicine*. doi: 10.1016/j.phymed.2009.07.006.

Olczyk, P., Komosinska-Vassev, K., *et al.* (2013) 'Propolis induces chondroitin/dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2013/290675.

Olczyk, P., Wisowski, G., *et al.* (2013) 'Propolis modifies collagen types i and III accumulation in the matrix of burnt tissue', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2013/423809.

Olczyk, P., Komosinska-Vassev, K., Wisowski, G., Mencner, L., Stojko, J., Kozma, Ewa M (2014) 'Propolis modulates fibronectin expression in the matrix of thermal injury.', *BioMed research international*, 2014, p. 748101. doi: 10.1155/2014/748101.

Olczyk, P., Komosinska-Vassev, K., Wisowski, G., Mencner, L., Stojko, J., Kozma, Ewa M. (2014) 'Propolis modulates fibronectin expression in the matrix of thermal injury', *BioMed Research International*. Hindawi Publishing Corporation, 2014. doi: 10.1155/2014/748101.

Ota, C. *et al.* (2001) 'Antifungal activity of propolis on different species of Candida', *Mycoses*. doi: 10.1046/j.1439-0507.2001.00671.x.

Pasupuleti, V. R. *et al.* (2017) 'Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. doi: 10.1155/2017/1259510.

Patel, H. *et al.* (2017) 'Burden of Surgical Site Infections Associated with Select Spine Operations and Involvement of Staphylococcus aureus.', *Surgical infections*. Mary Ann Liebert, Inc., 18(4), pp. 461–473. doi: 10.1089/sur.2016.186.

## Literaturverzeichnis

Petres, J., Rompel, R. (2008) 'Schnitt- und Nahttechniken', in *Operative Dermatologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 75–88. doi: 10.1007/978-3-540-34088-1\_10.

Promega (2015) *CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay, Instructions for Use of Products G7570, G7571, G7572 and G7573, Technical Bulletin*. Available at: [www.promega.com](http://www.promega.com).

Przybyłek, I., Karpiński, T. M. (2019) 'Antibacterial properties of propolis', *Molecules*, 24(11), pp. 11–13. doi: 10.3390/molecules24112047.

Pull Ter Gunne, A. F., Cohen, D. B. (2009) 'Incidence, prevalence, and analysis of risk factors for surgical site infection following adult spinal surgery', *Spine*. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181a03013.

Pull Ter Gunne, A. F., Van Laarhoven, C. J. H. M., Cohen, D. B. (2010) 'Incidence of surgical site infection following adult spinal deformity surgery: An analysis of patient risk', *European Spine Journal*, 19(6), pp. 982–988. doi: 10.1007/s00586-009-1269-1.

Rajpara, S. et al. (2009) 'The importance of propolis in patch testing--a multicentre survey.', *Contact dermatitis*, 61(5), pp. 287–90. doi: 10.1111/j.1600-0536.2009.01629.x.

Rocha, B. A. et al. (2013) 'Evaluation of a Propolis Water Extract Using a Reliable RP-HPLC Methodology and In Vitro and In Vivo Efficacy and Safety Characterisation.', *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2013, p. 670451. doi: 10.1155/2013/670451.

Roche Diagnostics GmbH (2016) 'Cell Proliferation Kit I (MTT) Cat.No. 11 465 007 001. Version 19', *Protocol*, pp. 6–9.

Rothenberger, J. et al. (2016) 'The Effect of Polyhexanide, Octenidine Dihydrochloride, and Tea Tree Oil as Topical Antiseptic Agents on In Vivo Microcirculation of the Human Skin: A Noninvasive Quantitative Analysis.', *Wounds : a compendium of clinical research and practice*, 28(10), pp. 341–346. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27768571> (Accessed: 27 November 2018).

Sawicka, D. et al. (2012) 'The anticancer activity of propolis', *Folia Histochemica et Cytobiologica*. doi: 10.5603/FHC.2012.0004.

Scazzocchio, F. et al. (2006) 'Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis', *Microbiological Research*. doi: 10.1016/j.micres.2005.12.003.

Schnitzler, P. et al. (2010) 'Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds', *Phytotherapy Research*. doi: 10.1002/ptr.2868.

## Literaturverzeichnis

Schulz KF, G. DA (2007) 'Reihe Epidemiologie 6', *Zeitschrift für ärztliche Fortbildung und Qualität im Gesundheitswesen - German Journal for Quality in Health Care*. doi: 10.1016/j.zgesun.2007.05.027.

Sehn, E. *et al.* (2009) 'Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing', *Analytica Chimica Acta*. doi: 10.1016/j.aca.2009.01.019.

Sforcin, J. M. (2007) 'Propolis and the immune system: a review', *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), pp. 1–14. doi: 10.1016/j.jep.2007.05.012.

Sforcin, J. M., Orsi, R. O., Bankova, V. (2005) 'Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production', *Journal of Ethnopharmacology*. doi: 10.1016/j.jep.2005.01.042.

Siewert, J. R., Stein, H. (2012) *Chirurgie*. Edited by Jörg Rüdiger Siewert and H. J. Stein. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch). doi: 10.1007/978-3-642-11331-4.

Simon, H. U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F. (2000) 'Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction', *Apoptosis*. doi: 10.1023/A:1009616228304.

Stoffels, I. *et al.* (2010) 'Einfluss eines silikonsprays auf die narbenbildung: Doppelblinde, placebokontrollierte, unizentrische studie', *Hautarzt*, 61(4), pp. 332–338. doi: 10.1007/s00105-009-1886-y.

Stoffels, I *et al.* (2010) 'The impact of silicone spray on scar formation - A single-center placebo-controlled double-blind trial', : *Der Hautarzt*. doi: 10.1007/s00105-009-1886-y.

Stöver, I., Feyer, P. (2018) 'Allgemeine Onkologie', in *Praxismanual Strahlentherapie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–13. doi: 10.1007/978-3-662-56577-3\_1.

Sullivan, T. *et al.* (1990) 'Rating the burn scar', *Journal of Burn Care and Rehabilitation*, pp. 256–260. doi: 10.1097/00004630-199005000-00014.

Takzaree, N. *et al.* (2016) 'Synergistic Effect of Honey and Propolis on Cutaneous Wound Healing in Rats.', *Acta medica Iranica*, 54(4), pp. 233–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27309263> (Accessed: 27 November 2018).

Toreti, V. C. *et al.* (2013) 'Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2013/697390.

Tosi, B. *et al.* (1996) 'Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents', *Phytotherapy Research*. doi: 10.1002/(SICI)1099-1573(199606)10:4<335::AID-PTR828>3.0.CO;2-7.

## Literaturverzeichnis

Truong, P. T. *et al.* (2007) 'Reliability and validity testing of the patient and observer scar assessment scale in evaluating linear scars after breast cancer surgery', *Plastic and Reconstructive Surgery*. doi: 10.1097/01.prs.0000252949.77525.bc.

Vynograd, N., Vynograd, I., Sosnowski, Z. (2000) 'A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV)', *Phytomedicine*. doi: 10.1016/S0944-7113(00)80014-8.

Wachter, D. *et al.* (2010) '2-Octyl-cyanoacrylate for wound closure in cervical and lumbar spinal surgery.', *Neurosurgical review*, 33(4), pp. 483–9. doi: 10.1007/s10143-010-0258-5.

Xuan, H. *et al.* (2014) 'Antitumor activity of Chinese propolis in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2014/280120.

# Abbildungsverzeichnis

## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b> Fibroblasten 10fach vergrößert, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter. ....	7
<b>Abbildung 2</b> Einzelknopfnaht; Autor: Schumpelick et al. 2013, Operationsatlas Chirurgie 4. Auflage, Thieme Verlag. ....	8
<b>Abbildung 3</b> Fortlaufende Naht; Autor: Schumpelick et al. 2013, Operationsatlas Chirurgie 4. Auflage, Thieme Verlag. ....	8
<b>Abbildung 4</b> Fortlaufende Intrakutannaht (In dieser Studie angewendet); Autor: Schumpelick et al. 2013, Operationsatlas Chirurgie 4. Auflage, Thieme Verlag. ....	8
<b>Abbildung 5</b> Propolis in seiner Rohform [Urheberrecht:©photocrew - stock.adobe.com]. ....	12
<b>Abbildung 6</b> Handelsübliche Propolis-Tropfen; Fa. Aleavedis Naturprodukte GmbH, (PZN: 10757589).....	13
<b>Abbildung 7</b> Zählnetz einer Bürker-Zählkammer zur Bestimmung der Zellzahl pro Volumeneinheit; Quelle: <a href="http://www.brand.de/zaehlkammern">www.brand.de/zaehlkammern</a> . ....	23
<b>Abbildung 8</b> Aufbau einer Bürker-Zählkammer mit doppeltem Zählnetz; Quelle: <a href="https://www.marienfeld-superior.com/informationen-zu-unseren-zaehlkammern.html?file=files/Medien/Produkte/Blutuntersuchung/Zaehlkammer/beschreibung-zaehlnetze.pdf">https://www.marienfeld-superior.com/informationen-zu-unseren- zaehlkammern.html?file=files/Medien/Produkte/Blutuntersuchung/Zaehlkam- mer/beschreibung-zaehlnetze.pdf</a> . ....	23
<b>Abbildung 9</b> Aufbau einer Bürker-Zählkammer, Kammertiefe 0,1 mm, seitliche Ansicht; Quelle: <a href="https://www.marienfeld-superior.com/informationen-zu-unseren-zaehlkammern.html?file=files/Medien/Produkte/Blutuntersuchung/Zaehlkammer/beschreibung-zaehlnetze.pdf">https://www.marienfeld-superior.com/informationen-zu-unseren zaehlkammern.html?file=files/Medien/Produkte/Blutuntersuchung/Zaehlkammer/besc hreibung-zaehlnetze.pdf</a> . ....	23
<b>Abbildung 10</b> Metabolisation von MTT zu Formazan; Quelle: Testkitbeschreibung MTT-Test Roche GmbH. ....	27
<b>Abbildung 11</b> Testprinzip MTT-Assay Fa. Sigma Aldrich. ....	29
<b>Abbildung 12</b> Luciferasereaktion im Cell-Titer-Glo®-Assay; die Mono-Oxygenierung von Luciferin wird in Anwesenheit von Mg <sup>2+</sup> , ATP und molekularem Sauerstoff katalysiert; durch die Reaktion entsteht ein Lichtsignal; Quelle: Promega Cell-Titer- Glo®-Testkitbeschreibung.....	30
<b>Abbildung 13</b> Testprinzip des CellTiter-Glo®-Assays, Fa. Promega.....	31

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 14</b> Propolis und Referenzen (Orange: Propolis, Violett: Rutin, Blau: Quercetin, Grün: Pinobanksin, Schwarz: CAPE, Gelb: Apigenin).....	<b>38</b>
<b>Abbildung 15</b> Placebo und Referenzen (Orange: Kamillin, Violett: Rutin, Blau: Quercetin, Grün: Pinobanksin, Schwarz: CAPE, Gelb: Apigenin).....	<b>38</b>
<b>Abbildung 16</b> Fibroblasten, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>39</b>
<b>Abbildung 17</b> IHC der humanen Fibroblasten: Negativ-Kontrolle, 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.	<b>39</b>
<b>Abbildung 18</b> IHC der humanen Fibroblasten: Vimentinrezeptor, 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.	<b>40</b>
<b>Abbildung 19</b> IHC der humanen Fibroblasten: Progesteronrezeptor, 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.	<b>40</b>
<b>Abbildung 20</b> IHC der humanen Fibroblasten: alpha-Estrogenrezeptor, 20fache Vergrößerung, Kamera: AxioCamMR3; Autor: PD. Dr. rer. nat. habil. D.-U. Richter.	<b>40</b>
<b>Abbildung 21</b> SERAFAST® 3 0 150fach vergrößert, Leica Digitalmikroskop DVM 6, Foto: Dr. Uwe Schöler. ....	<b>41</b>
<b>Abbildung 22</b> SERAFIT® 0 180fach vergrößert, Leica Digitalmikroskop DVM6, Foto: Dr. Uwe Schöler. ....	<b>41</b>
<b>Abbildung 23</b> SERAFIT® 1 180fach vergrößert, Leica Digitalmikroskop DVM6, Foto: Dr. Uwe Schöler. ....	<b>42</b>
<b>Abbildung 24</b> SERAFAST® 3/0 nach 7 Wochen - Zunehmend brüchige Struktur, 10x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>42</b>
<b>Abbildung 25</b> SERAFAST® 3/0 nach 10 Wochen - Verlust der ursprünglich homogenen Struktur; 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>43</b>
<b>Abbildung 26</b> SERAFIT® 0 nach 5 Wochen - Zunehmender Verlust des Farbstoffes, 10x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>43</b>
<b>Abbildung 27</b> SERAFIT® 0 nach 6 Wochen – Brüche der Filiae, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>44</b>
<b>Abbildung 28</b> SERAFIT® 0 nach 10 Wochen - Bruch der Stränge des Fadens, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>44</b>
<b>Abbildung 29</b> SERAFIT® 1 nach 5 Wochen - Verlust der Nahtmaterialfarbe und damit Sichtbarwerden der Binnenstruktur, 10x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.	<b>45</b>
<b>Abbildung 30</b> SERAFIT® 1 nach 8 Wochen - Bruch von Strängen, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3. ....	<b>45</b>

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 31</b> SERAFIT® 1 nach 10 Wochen - Auflockerung der Binnenstruktur, 20x vergrößert, Kamera: AxioCamMR3.....	<b>45</b>
<b>Abbildung 32</b> Stoffwechselanalyse Fibroblasten und Nahtmaterial; N=3.....	<b>46</b>
<b>Abbildung 33</b> SERAFAST® 3/0 mit Fibroblasten nach 16 Tagen AxioCamMR3 10x vergrößert.....	<b>47</b>
<b>Abbildung 34</b> SERAFIT® 0 mit Fibroblasten nach 16 Tagen AxioCamMR3 10x vergrößert.....	<b>47</b>
<b>Abbildung 35</b> SERAFIT® 1 mit Fibroblasten nach 16 Tagen AxioCamMR3 10x vergrößert.....	<b>48</b>
<b>Abbildung 36</b> MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafast 3/0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,206. ....	<b>50</b>
<b>Abbildung 37</b> MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,249. ....	<b>50</b>
<b>Abbildung 38</b> MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 1; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,125. ....	<b>50</b>
<b>Abbildung 39</b> MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Tamoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,104.....	<b>50</b>
<b>Abbildung 40</b> MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Endoxifen; n=3; Propolis vs Placebo p=0,037. ....	<b>50</b>
<b>Abbildung 41</b> MTT-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Estradiol; n=3; Propolis vs. Placebo p=0,749. ....	<b>50</b>
<b>Abbildung 42</b> CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafast 3/0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,200. ....	<b>52</b>
<b>Abbildung 43</b> CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 0; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,700. ....	<b>52</b>
<b>Abbildung 44</b> CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Serafit 1; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,400. ....	<b>52</b>
<b>Abbildung 45</b> CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Tamoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,200.....	<b>52</b>
<b>Abbildung 46</b> CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Endoxifen; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,200.....	<b>52</b>
<b>Abbildung 47</b> CellTiterGlo®-Test – Propolis vs. Placebo (Kamillin) vs. Leerwert; Fibroblasten und Estradiol; n=3; Propolis vs. Placebo (Kamillin) p=0,400.....	<b>52</b>

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 48</b> Studienabbruch; n (Gesamtes Patientenkollektiv)=33; 22 Patienten konnten eingeschlossen werden; Abbruch der Studie bei 22 Patienten (Propolis-Gruppe 8 Patienten, Placebo-Gruppe 3 Patienten). .....	<b>54</b>
<b>Abbildung 49</b> Narbe mit propolishaltiger Tinktur Tag 1; Kamera: SONY DSC-T77, 1x Vergrößerung. ....	<b>55</b>
<b>Abbildung 50</b> Narbe mit propolishaltiger Tinktur Tag 3, Kamera: Motorola Moto G, 1x Vergrößerung. ....	<b>55</b>
<b>Abbildung 51</b> Geschlechterverteilung in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo). ....	<b>55</b>
<b>Abbildung 52</b> Altersverteilung der Patienten in der jeweiligen Studiengruppe. ....	<b>56</b>
<b>Abbildung 53</b> BMI der Patienten in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo). ....	<b>57</b>
<b>Abbildung 54</b> Anzahl der Raucher in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo). ....	<b>57</b>
<b>Abbildung 55</b> Narbenlänge [cm] in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo); *= Narben, deren Länge weit ab von der durchschnittlichen Narbenlänge der übrigen Patienten liegen. ....	<b>58</b>
<b>Abbildung 56</b> Hauptdiagnose (Degeneration; Fraktur) in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo); *= In der Propolis-Gruppe lag kein Patient mit der Hauptdiagnose „Fraktur“ vor. ....	<b>59</b>
<b>Abbildung 57</b> VSS-Verteilung in den jeweiligen Gruppe (Propolis vs. Placebo). ....	<b>61</b>
<b>Abbildung 58</b> PSAS-Verteilung in den jeweiligen Gruppen (Propolis vs. Placebo); *= Ausreißer. ....	<b>62</b>
<b>Abbildung 59</b> Narbe zum Follow-Up in der 13. postoperativen Woche, VSS 0 PSAS 13, somit wurde sie in beiden Scores als sehr gut/gut beurteilt; Kamera: Apple iPhone XS back camera, 1x Vergrößerung. ....	<b>63</b>
<b>Abbildung 60</b> Narbe zum Follow-UP in der 13. postoperativen Woche, VSS 7 PSAS 8, somit wurde die Narbe vom Prüfarzt als schlechter eingeschätzt, als es der/die Patient*in subjektiv selbst getan hat; Kamera: iPhone 5s back camera, 1x Vergrößerung. ....	<b>63</b>
<b>Abbildung 61</b> Wunde unmittelbar post-OP Propolis-Gruppe; Kamera: NIKON COOLPIX S6500, Vergrößerung 1x. ....	<b>64</b>
<b>Abbildung 62</b> Wunde unmittelbar post-OP Placebo-Gruppe; Kamera: Canon PowerShot SX600 HS, Vergrößerung 1x. ....	<b>64</b>

## Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 63** Wunde 3 Monate post-OP Propolis-Gruppe; Kamera: Apple iPhone 5s back camera, Vergrößerung 1x.....**64**

**Abbildung 64** Wunde 3 Monate post-OP Placebo-Gruppe; Kamera: Apple iPhone 5s back camera, Vergrößerung 1x.....**64**

# Tabellenverzeichnis

## 10 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b> Biologische Wirksamkeit der Komponente von Propolis. ....	<b>17</b>
<b>Tabelle 2</b> Verwendete Antikörper zur IHC-Untersuchung. ....	<b>25</b>
<b>Tabelle 3</b> ASA-Klassifikation Propolis-Gruppe. ....	<b>59</b>
<b>Tabelle 4</b> ASA-Klassifikation Placebo-Gruppe. ....	<b>60</b>
<b>Tabelle 5</b> Karnofsky-Indices der Propolis-Gruppe. ....	<b>60</b>
<b>Tabelle 6</b> Karnofsky-Indices der Placebo-Gruppe. ....	<b>60</b>

# Abkürzungsverzeichnis

## 11 Abkürzungsverzeichnis

ASA	American Society of Anesthesiologists
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
BV	Bildverstärker
BWS	Brustwirbelsäule
CRF	Case Report Form
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
EC05	5% maximale effektive Konzentration
EC50	Halb maximale effektive Konzentration
EK	Ethikkommission
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FKS	Fetales Kälberserum
H0	Nullhypothese
HaCaT-Zellen	Humane Keratinozyten Zelllinie
HCl	Chlorwasserstoff
KIS	Krankenhausinformationssystem
LWS	Lendenwirbelsäule
MMP-9	Matrix-Metalloproteinase-9
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
mVSS	Modified Vancouver Scar Scale
MWU	Mann-Whitney-U
NV	Normalverteilung
OSAS	Observer Scar Assessment Scale
PACS	Picture Archiving and Communication System
PBS	Phosphate buffered saline
POSAS	Patient and Observer Scar Assessment Scale
PSAS	Patient Scar Assessment Scale
PY	Packyears (Packungsjahre)
ROS-Kaskade	Reactive-Oxygen Species
RT	Raumtemperatur
T1-S1	thorakal 1- sacral 1
U	Umdrehungen
UMR	Universitätsmedizin Rostock
VSS	Vancouver Scar Scale

# Danksagung

## 12 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei den Menschen bedanken, die maßgeblich an der Anfertigung dieser Arbeit beteiligt waren.

Ein ganz besonderer Dank geht an meinen Betreuer der klinischen Studie, PD Dr. med. Maximilian Reinhold, welcher mich zu jeder Zeit fachlich und auch moralisch unterstützte.

Mein herzlicher Dank geht außerdem an meine Betreuerin der experimentellen Studie, Frau Dr. rer. nat. D.-U. Richter, welche die Durchführung der experimentellen Studie ermöglichte und mir unterstützend mit Rat und Tat ideenreich zur Seite stand.

Zu guter Letzt möchte ich herzlich meiner Familie und meinen Freunden danken, welche mich in meinem gesamten Werdegang immer verständnisvoll begleitet und gestärkt haben.

# Lebenslauf

## 13 Lebenslauf

### Lebenslauf

#### Persönliche Daten

Name: Juliane Schöler  
Anschrift:

Tel.:  
email.:

Geburtsdatum: 04.11.1993 in Berlin

#### Studium

Seit 10/2013

#### Studium der Humanmedizin

Universität Rostock

08/2015 1.Staatsexamen  
10/2018 2.Staatsexamen  
06/2020 3.Staatsexamen

#### Promotion

11/2017

Beginn der Arbeit an der Promotion zum Thema: „Randomisierte, monozentrische, placebo-kontrollierte Studie zur Wundheilung nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen. Einfluss von Propolis als naturheilkundliche Alternative zu herkömmlichen Methoden des Wundverschlusses durch Naht.“

Klinikum Südstadt Rostock, Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und Handchirurgie in Kooperation mit dem Forschungslabor der Universitätsfrauenklinik Rostock

Doktorvater: PD Dr. Reinhold

Betreuer: PD Dr. med. habil. Reinhold, PD Dr. rer. nat. habil. Richter

#### Berufliche Laufbahn

Seit 10/2020

Assistenzärztin an der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsmedizin Rostock

#### Praktika

##### Praktisches Jahr

2020

PJ Tertiär Chirurgie, Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und Handchirurgie, Klinikum Südstadt, Rostock

2019

PJ Wahltertial Anästhesie, Universitätsmedizin Rostock

PJ Tertiär Innere Medizin, Stadtspital Triemli, Zürich

##### Famulaturen

2017

Famulatur Anästhesie und Intensivmedizin (Südstadtklinikum Rostock)

Famulatur Augenheilkunde (Parkklinik Manhagen Ahrensburg)

2016

Famulaturen in der Allgemeinmedizin (Hausarzt) und der Anästhesie (Unfallchirurgischer und Orthopädischer OP, Parkklinik Manhagen Ahrensburg)

Famulatur Innere Medizin (ambulante Gastroenterologie)

#### Schulische Ausbildung

2004 - 2013

Emil-von-Behring-Gymnasium Großhansdorf

Abschluss: Abitur, naturwissenschaftliches Profi

#### Sprachkenntnisse

Englisch Sehr gut in Wort und Schrift

Französisch Grundkenntnisse

Spanisch Grundkenntnisse (B1)

Rostock, den 01.11.2021



## Eidesstattliche Erklärung

### 14 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Datum und Unterschrift: .....

# Thesen

## 15 Thesen

- 1) Propolis hat durch verschiedene Wirkmechanismen einen positiven Effekt auf die Wundheilung.
- 2) Die VSS (Vancouver Scar Scale) stellt ein etabliertes Tool dar, welches sich für die objektive Beurteilung einer Narbe durch einen Untersucher eignet, während die PSAS (Patient Scar Assessment Scale) der subjektiven Beurteilung der Narbe durch den Patienten dient.
- 3) Die Beurteilung einer Narbe durch den Patienten (PSAS) und durch den Untersucher (VSS) unterscheiden sich voneinander.
- 4) Die Anwendung von Propolis-Wundauflagen hat einen Effekt auf die Wundheilung und Narbenbildung gemäß PSAS und VSS.
- 5) Die Prävention und effektive Behandlung von postoperativen Wundheilungsstörungen und -infektionen sind von großem Interesse für die Patienten, den Therapeuten und für die Kostenträger.
- 6) Die Zusammensetzung von Propolis variiert je nach Einzugsgebiet und Subspezies der *Apis mellifera*.
- 7) Das Wirkspektrum von Propolis ist in erster Linie auf die Polyphenole, einer der wesentlichen Wirkstoffgruppen und Hauptbestandteil des Propolis, zurückzuführen.
- 8) Die Zellviabilität und -proliferation von Fibroblasten werden durch Propolis beeinflusst.

# Anhang

## 16 Anhang

### 16.1 Erfassungsbogen/ Untersuchungsblatt



**Dr. Maximilian Reinhold**  
Wirbelsäulenchirurgie, Orthopädie, Unfallchirurgie

### Untersuchungsblatt

Untersucher:

Datum:

Name	Vorname	Geburtsdatum	Patientennummer
Geschlecht M <input type="checkbox"/> W <input type="checkbox"/>	Ausschlusskriterien Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	Gewicht	Größe
Alkohol	Nikotin [PY]	Allergien	
Aufnahmedatum	Dauer stat. Aufenthalt [d]	Dauer amb. Behandlung [d]	OP Dauer
OP-Dauer	Schnitt-Naht-Zeit	Besonderheiten der OP	
Blutverlust intraoperativ [ml]	Wunddrainagen -Anzahl  -Dauer  -Fördermenge [ml]		
<b>Intraoperative Komplikationen</b>  <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ja, welche? <input type="checkbox"/> 0 Keine; 1 Blutg.; 2 iatr. Duraverletzg.; 3 Nerv.-/RMverletzg.; 4 Verletzung innerer Organe; 5 Schraubenfehlplatzierung; 6 Konversion Endoskopie - Offen; 7 Sonstige (Klartext)		<b>Postoperative Komplikationen</b>  <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ja, welche? <input type="checkbox"/> 0 Keine; 1 Tod; 2 Neurolog. Verschlechterung; 3 Infektion; 4 Wundheilungsstörg.; 5 Thrombose/Embolie; 6 Implantatfehl.; 7 Korrekturverl./Fehlstellg.; 8 Beckenkamm; 9 Sonst. (Klartext)	
Schnittlänge (Narbe) [cm]	Revisionen <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja, Datum	<b>Neurologie bei Aufnahme (AIS)</b> <input type="checkbox"/> A kompletter QS; B Inkompl. QS: Restsensibil., keine Kraft; C Inkompl. QS: Kraft <3; D Inkompl. QS: Kraft ≥3; E keine neurolog. Ausfälle	<b>Neurologie bei Entlassung (AIS)</b> <input type="checkbox"/> A kompletter QS; B Inkompl. QS: Restsensibil., keine Kraft; C Inkompl. QS: Kraft <3; D Inkompl. QS: Kraft ≥3; E keine neurolog. Ausfälle

# Anhang

<p>Hauptdiagnose</p> <p><input type="checkbox"/> Degeneration</p> <p><input type="checkbox"/> Fraktur</p> <p><input type="checkbox"/> sonstiges (Freitext)</p>	<p>Medikamente</p>
<p>ASA-Klassifikation <input type="text"/></p> <p><b>1</b> normaler gesunder Patient  <b>2</b> Patient mit leichter Systemerkrankung  <b>3</b> Patient mit Systemerkrankung und Leistungsminderung  <b>4</b> Patient mit schwerster Systemerkrankung und konstanter Lebensbedrohung  <b>5</b> moribunder Patient, der mit oder ohne OP die nächsten 24h voraussichtlich nicht überlebt  <b>6</b> Hirntod</p>	<p>Karnofsky-Index <input type="text"/></p> <p><b>100</b> Normalzustand, keine Beschwerden keine Manifeste Erkrankung  <b>90</b> Normale Leistungsfähigkeit, minimale Krankheitssymptome  <b>80</b> Normale Leistungsfähigkeit mit Anstrengung, geringe Krankheitssymptome  <b>70</b> Eingeschränkte Leistungsfähigkeit, arbeitsunfähig, kann sich selbst versorgen  <b>60</b> Eingeschränkte Leistungsfähigkeit, benötigt gelegentlich fremde Hilfe  <b>50</b> Eingeschränkte Leistungsfähigkeit, braucht krankenpflegerische und ärztliche Betreuung, nicht dauernd bettlägerig  <b>40</b> Bettlägerig, spezielle Pflege erforderlich  <b>30</b> Schwer krank, Krankenhauspflege notwendig  <b>20</b> Schwer krank, Krankenhauspflege und supportive Maßnahmen erforderlich  <b>10</b> Moribund, Krankheit schreitet schnell fort  <b>0</b> Tod</p>
<p>Betroffene Segmente</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Am schwersten verletzter Wirbelkörper: z. B. T 12 (BWK 12) oder L 01 (LWK 1)</p>	<p>Ausdehnung Segmente</p>
<p>Bek. Hauterkrankungen/ Besonderheiten</p>	<p>Foto erfasst</p> <p>1 <input type="checkbox"/></p> <p>2 <input type="checkbox"/></p> <p>3 <input type="checkbox"/></p>



# Anhang

## 16.2 Patienteninformation und Einverständniserklärung



### Patienteninformation und Einverständniserklärung

(Version 3 2018/12/11)

*Liebe Patientin, lieber Patient,*

Sie befinden sich derzeit aufgrund eines operativen Eingriffes im Klinikum Südstadt in Behandlung.

Ein guter chirurgischer Hautverschluss ist Voraussetzung für gute klinische und kosmetische Behandlungsergebnisse nach wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen. Andererseits können Wundheilungsstörungen Infektionen, Schmerzen und vermehrte Narbenbildung verursachen.

Die Frage des optimalen Wundverschlusses nach chirurgischen Eingriffen an der Brust- und Lendenwirbelsäule ist deshalb von besonderer Bedeutung.

Mit dieser randomisierten Studie vergleichen wir unterschiedliche etablierte Verfahren des Wundverschlusses. Sie werden dabei per Losverfahren einer der Gruppen zugeordnet. Untersucht werden zwei geprüfte Medizinprodukte (Propolis, Wundgel). Für beide Substanzen wurden bereits positive Eigenschaften auf die Wundheilung nachgewiesen.

Durch die Teilnahme an der Studie kommt es zu keinem Mehraufwand für Sie. Auch Ihre persönliche Behandlung und Nachsorge ändert sich dadurch nicht!

#### Hinweis zum Datenschutz

Zugang zu den vertraulichen Daten, die auf technisch höchstem Niveau gesichert sind, haben ausschließlich die behandelnden Ärzte und Doktoranden. Diese unterliegen der Schweigepflicht.

Die Weitergabe der Daten erfolgt ausschließlich zu statistischen und wissenschaftlichen Zwecken und sie werden ausnahmslos darin nicht namentlich genannt. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieser Studie werden Sie nicht namentlich genannt.

Datenschutzbeauftragte im Klinikum Südstadt Rostock, Mail: [datenschutz@kliniksued-rostock.de](mailto:datenschutz@kliniksued-rostock.de)

Die zuständige Aufsichtsbehörde finden Sie unter: Der Landesbeauftragte für Datenschutz und Informationsfreiheit Mecklenburg –Vorpommern, Schloss Schwerin, Lennestraße 1, 19053 Schwerin

#### Information zur Freiwilligkeit und vorzeitigen Beendigungsmöglichkeit

Ihre Freigabe der Behandlungsdaten zu dieser Studie erfolgt freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie ausscheiden. Die Ablehnung der Teilnahme oder ein vorzeitiges Ausscheiden aus dieser Studie hat keine nachteiligen Folgen für Ihre weitere medizinische Betreuung.

15.02.2018

# Anhang



Klinikum Südstadt  
Rostock

## Gibt es Risiken, Beschwerden und Begleiterscheinungen?

Nein. Dennoch besteht für Sie als Teilnehmer an dieser der gesetzlich vorgeschriebene Versicherungsschutz, der alle Schäden abdeckt, die an Ihrem Leben oder Ihrer Gesundheit durch die an Ihnen durchgeführten Maßnahmen während des Krankenhausaufenthaltes und der Studie verursacht werden können; ausgenommen sind genetische Schäden.

Eine Probandenversicherung ist für diese Studie vom Gesetzgeber nicht vorgeschrieben und wurde deshalb nicht abgeschlossen. Im Schadenfall besteht Versicherungsschutz über die Haftpflichtversicherung des Klinikum Südstadt, die beim Kommunalen Schadenausgleich in Berlin abgeschlossen wurde. Sofern Sie Ansprüche geltend machen wollen, wenden Sie sich bitte an: Kommunaler Schadenausgleich (KSA) der Länder Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen, Konrad-Wolf-Straße 91/92, 13055 Berlin, Tel.: 030.4215.2307, Fax.: 030.4215.28307, Web: <http://www.ksa.de>

©M. Reinhold 2 31.10.16

Für den Versicherungsvertrag ist deutsches Recht anwendbar, die Versicherungsansprüche sind in Deutschland einklagbar.

## Einwilligung

Ich bin mit der oben geschilderten Auswertung meiner Behandlungsdaten und dem Zugang der behandelnden Ärzte und Doktoranden zu diesen im Rahmen der Studie einverstanden.

Ich habe die Patienteninformation und Einverständniserklärung gelesen und verstanden. Alle meine Fragen wurden beantwortet und ich habe zur Zeit keine weiteren Fragen mehr. Sollten sich während der Behandlung Fragen ergeben, kann ich mich jederzeit an meine behandelnden Ärzte oder den Studienkoordinator, Herrn Priv.-Doz. Dr. M. Reinhold, MBA (Tel. +49 381 4401 8443) wenden.

---

Name des Patienten

---

Name des verantwortlichen Arztes

---

Ort, Datum, Unterschrift des Patienten

---

Ort, Datum, Unterschrift des Arztes

15.02.2018

## 16.3 Anleitung zur Anlage des Propolis-Okklusivverbandes



## Anlage des Propolis-Okklusivverbandes

Materialien:



Gazin-Mullkompressen  
5x5cm



OPSITE FLEXIFIX 5cm x 10m



Propolis wässrige Lsg.  
20ml/50ml

Vorgehen:

1. Vorbereitung der Wunde nach Hygienestandard
2. Gazin-Mullkompressen **2-lagig** falten, auf Wunde auflegen
3. Gazin-Mullkompressen mit **35 Tropfen Propolislösung pro 5cm Wunde** tränken (Tropfflasche/Sprühflasche)
4. Verschluss mit OPSITE FLEXIFIX (okklusiv)

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!