

Aus der Klinik für Anästhesiologie der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Peter Schmucker

**Veränderungen von Immunreaktionen nach
einem elektiven endoprothetischen Gelenkersatz.
Vergleich von zwei Anästhesieverfahren.**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Maria Droese geb. Zschätzsch
aus Roding

Lübeck 2010

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Jörg-Matthias Brand

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Stefan Peters

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.2010

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 10.11.2010

Abkürzungen

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
APZ(s)	Antigen-präsentierende Zelle(n)
AR	Adrenozeptor(en)
AS	Aminosäure(n)
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
Con A	Concanavalin A
CRH	Corticotropin releasing hormon
CRP	C-reaktives Peptid
CSE	Kombinierte Spinal-/ Epiduralanästhesie (combined spinal epidural anesthesia)
CSF	Kolonie-stimulierender Faktor
CSIF	Cytokine synthesis inhibiting factor
ECLIA	Elektrochemilumineszenz Immunoassay
E. coli	Escherichia coli
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FPIA	Fluoreszenzpolarisations Immunoassay
GABA	γ -Aminobuttersäure
Gp	Glykoprotein
Hb	Hämoglobin
HCV	Hepatitis C-Virus
Hk	Hämatokrit
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (hypothalamo pituitary adrenal)- Achse
HRP	Horseradish peroxidase
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IRF	Interferon regulatory factor
ITN	Intubationsnarkose
JAK/STAT	Janus kinase/signal transducer and activator of transcription
kD	Kilo Dalton
KG	Körpergewicht
LPS	Lipopolysaccharide

LWK	Lendenwirbelkörper
MAP	Mitogen-activated protein
MHC	Major Histocompatibility Complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
NA	Noradrenalin
NFκB	Nuclear factor κB
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells (periphere mononukleäre Blutzellen)
PDK	Periduralkatheter
PHA	Phytohämagglutinin
PKA	Proteinkinase A
RPMI	Kulturmedium (Roswell Park Memorial Institute Medium)
PRL	Prolaktin
sIL-6R	löslicher (soluble) IL-6-Rezeptor
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SPA	Spinalanästhesie
TEP	Totale Endoprothese
TGF	Transforming growth factor
Th1-Zellen	T-Helferzellen Typ 1
Th2-Zellen	T-Helferzellen Typ 2
TIVA	Totale intravenöse Anästhesie
TNF	Tumornekrosefaktor
ZNS	Zentralnervensystem

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Das menschliche Immunsystem	1
1.2. Steuerung und Wirkung von Noradrenalin im Immunsystem	2
1.3. Struktur und Eigenschaften von Zytokinen	4
1.3.1. Interleukin-10	6
1.3.2. Interleukin-12	6
1.3.3. Interferon- γ	7
1.3.4. Tumornekrosefaktor- α	8
1.3.5. Interleukin-6	8
1.4. Struktur und Eigenschaften von Prolaktin und Kortisol	11
1.4.1. Prolaktin	11
1.4.2. Kortisol	13
1.5. Narkose und Immunsystem	15
1.5.1. Operatives Trauma und Immunantwort	15
1.5.2. Narkose	16
1.5.3. Neuroaxialer Block	17
1.6. Zielsetzung	18
2. Material und Methoden	20
2.1. Material	20
2.1.1. Patienten und Probanden	20
2.1.2. Narkose	21
2.1.3. Neuroaxialer Block	21
2.1.4. Zellkulturmedien und Zusätze	22
2.1.5. Mitogene	22
2.1.6. ELISA-Kits	22
2.1.7. Laborbedarf	23
2.1.8. Geräte	23
2.2. Methoden	25
2.2.1. Vollblutansätze	25
2.2.2. NA-Vorversuch	25
2.2.3. Patientenstudie	26
2.2.4. ELISA	27
2.2.5. PRL-Messung	28

2.2.6. Kortisol-Messung	29
2.2.7. Statistik	29
3. Ergebnisse	31
3.1. In-vitro Vorversuch	31
3.1.1. IL-10-Sekretion	32
3.1.2. IL-12-Sekretion	33
3.1.3. TNF- α -Sekretion	34
3.1.4. IFN- γ -Sekretion	35
3.1.5. IL-6-Sekretion	36
3.2. Patientenstudie	37
3.2.1. Perioperative Änderungen von Hb, Hk und Leukozytenzahl bei Patienten mit endoprothetischem Gelenkersatz	37
3.2.2. Einzelheiten der Anästhesieverfahren	40
3.2.3. Perioperative Änderungen der IL-10-Synthese im Vollbluttest	41
3.2.4. Perioperative Änderungen der IL-12-Synthese im Vollbluttest	42
3.2.5. Perioperative Änderungen der TNF- α -Synthese im Vollbluttest	43
3.2.6. Perioperative Änderungen der IL-6-Sekretion	44
3.2.7. Perioperative Änderungen der PRL-Sekretion	46
3.2.8. Perioperative Änderungen der Kortisol-Sekretion	47
4. Diskussion	48
4.1. Kommunikation zwischen Nervensystem und Immunsystem	48
4.1.1. Einfluss von NA auf immunologische Reaktionen	48
4.1.2. Effekte auf T-Zellen	49
4.1.3. Effekte auf B-Zellen	51
4.1.4. Zusammenfassende Interpretation des NA-Vorversuchs	52
4.2. Immunmodulation durch anästhesiologische Verfahren	53
4.2.1. Einfluss operativer Eingriffe auf das immunologische Gleichgewicht	53
4.2.2. Beeinflussung immunologischer Reaktionen durch Katecholamine und Glukokortikoide	54
4.2.3. Wirkungen von PRL	54
4.3. Differenzen zwischen Narkose und Spinalanästhesie	57
4.3.1. Wirkungen von neuroaxialem Block auf Immunfunktionen	57
4.3.2. Wirkungen von Narkose und operativem Trauma auf immunologische Funktionen	57

4.3.3. Schlussfolgerungen	59
5. Zusammenfassung	61
6. Literaturverzeichnis	63
7. Abbildungsverzeichnis	72
8. Danksagung	74
9. Lebenslauf	75

1. Einleitung

1.1. Das menschliche Immunsystem

Das Wort Immunologie stammt aus dem Lateinischen „immunis“, was soviel wie „frei von Lasten, frei von Krankheiten“ bedeutet. Die grundlegende Aufgabe des Immunsystems besteht darin, zwischen körpereigenen und fremden Antigenen zu unterscheiden und fremde Antigene aus dem Körper zu eliminieren.

Das menschliche Immunsystem schützt vor Infektionserregern, bekämpft Tumorzellen und gewährleistet so die Integrität des Organismus. Es stellt eine biologische Funktionseinheit dar, die angeborene und erworbene Immunität beinhaltet und auf humoraler und zellulärer Ebene agiert.

Die angeborene Immunität reagiert unspezifisch auf Antigene, wobei Komplementsystem und unspezifische Resistenzfaktoren als humorale Faktoren wirken und unspezifische Abwehrzellen wie Makrophagen, Monozyten, Mastzellen, Granulozyten und natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) die zellulären Faktoren darstellen.

Unter spezifischer Immunität versteht man die erworbene Immunantwort, die durch Spezifität und Gedächtnis charakterisiert ist. Als humorale Elemente sind die Antikörper (Immunglobuline) und als zelluläre Elemente T- und B-Lymphozyten dem erworbenen System zugeordnet. Die T-Zellen vermitteln die zelluläre, die B-Zellen die humorale Abwehr. Die Spezifität beider Zellsysteme wird über Zelloberflächenrezeptoren vermittelt, welche ausschließlich durch „passende“ Antigene stimuliert werden können.

Das Gleichgewicht des Immunsystems beruht auf einem Balanceakt zwischen Abwehr und Toleranz. Eine Verschiebung des Gleichgewichts zugunsten der Abwehr begünstigt die Entwicklung von Allergien oder Autoimmunerkrankungen. Wird das Gleichgewicht in Richtung der Toleranz verschoben, sind Infektionen und die Entwicklung bösartiger Tumorerkrankungen mögliche Auswirkungen [78].

Ein großer operativer Eingriff bewirkt eine Gewebszerstörung, die eine unkontrollierte Aktivierung des Immunsystems durch endogene Entzündungsmediatoren zur Folge haben kann. Hierdurch können unbalancierte Immunreaktionen ausgelöst werden, die Komplikationen wie beispielsweise verzögerte Wundheilungsreaktionen oder auch Infektionen begünstigen [84].

1.2. Steuerung und Wirkung von Noradrenalin im Immunsystem

Katecholamine und Glukokortikoide werden vom menschlichen Organismus unter Stressbedingungen vermehrt synthetisiert. Immunsystem und Nervensystem kommunizieren über verschiedene Mechanismen miteinander, die für die Erhaltung der Homöostase in beiden Systemen von Bedeutung sind.

Die Regulation der Zellaktivität erfolgt über Zelloberflächenrezeptoren auf Immun- und Nervenzellen und lösliche Rezeptoren im Blut. Die lymphatischen Organe verfügen über eine ausgedehnte sympathische Innervation. Lymphozyten in der weißen Pulpa der Milz stehen mit noradrenergen Fasern des sympathischen Nervensystems in direktem Kontakt. Man vermutet, dass die sympathische Innervation der Milz eine regulierende Funktion auf die einzelnen Komponenten des Immunsystems ausübt [54].

Die sympathische Innervation verläuft von Hypothalamus und limbischem System über den sympathischen Grenzstrang und postganglionäre Nervenfasern zu den Zielorganen, wo die Noradrenalin (NA)-Sekretion ausgelöst wird. NA wird von postganglionären sympathischen Nervenendigungen und von chromaffinen Zellen im Nebennierenmark ausgeschüttet. Die NA-Sekretion wird durch Stimulation des präsynaptischen α_2 -Adrenozeptors (α_2 -AR) gehemmt und durch Stimulation des präsynaptischen β_2 -AR gesteigert [98].

NA bindet auch an β -AR auf Immunzellen. Der β -AR ist ein G-Protein-gebundener Sieben-Transmembran-Rezeptor, der über Aktivierung der Adenylatzyklase die Proteinkinase A (PKA) aktiviert und so Transkriptionsfaktoren wie den Nuclear factor κ B (NF κ B) steuert.

Man unterscheidet drei Subtypen des β -AR, von denen der β_2 -AR im Immunsystem nach derzeitiger Studienlage die stärksten Effekte auszulösen scheint und zudem noch weitere Signaltransduktionswege aktiviert [54].

β_2 -AR werden auf B-Zellen, naiven CD4-positiven Lymphozyten und Th1-Zellen exprimiert, während sie auf reifen Th2-Zellen nicht mehr nachweisbar sind.

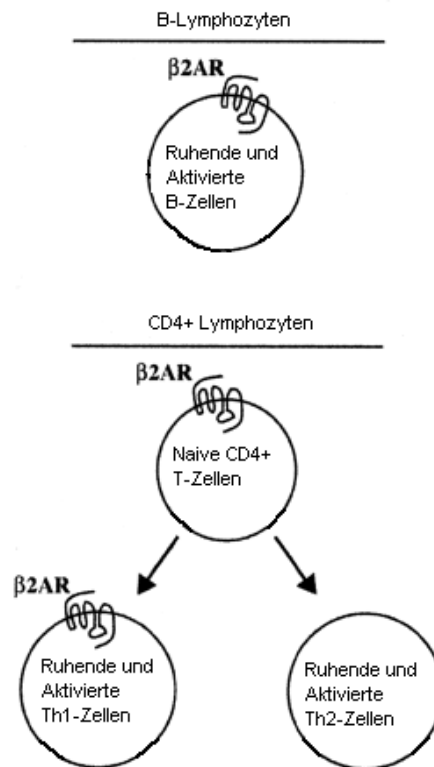


Abbildung 1: Expression von β_2 -Adrenozeptoren auf B-Zellen und CD4-positiven T-Zellen [54]

Durch die Stimulation des β_2 -AR wird die Zytokinproduktion in Immunzellen beeinflusst. Bereits mikromolare NA-Konzentrationen supprimieren die Aktivität von NK-Zellen. In Makrophagen wird durch NA die Mitogen-induzierte TNF- α -Sekretion vermindert [43]. Zudem wird durch die β_2 -AR-Stimulation die IFN- γ -Sekretion in Th1-Zellen angeregt [90]. Es scheint daher nahe liegend, dass die sympathische Innervation der Milz bei immunregulatorischen Vorgängen eine funktionale Rolle einnimmt.

Um die Stresswirkung auf Immunzellen zu imitieren, wurde ein NA-Vorversuch durchgeführt, bei dem im Vollblut gesunder Probanden durch NA-Stimulation eine Sympathikusaktivierung imitiert werden sollte. Die eingesetzten Konzentrationen entsprachen in etwa der 40-fachen Normalkonzentration im Serum.

1.3. Struktur und Eigenschaften von Zytokinen

Die Wechselwirkungen der Immunzellen untereinander und mit anderen Körperzellen und Geweben erfolgt einerseits über Zelloberflächenstrukturen wie Rezeptoren und Adhäsionsmoleküle und andererseits über Hormone und Zytokine.

Eine Einteilung der Zytokine in klar voneinander abgrenzbare Gruppen ist oft nicht möglich, da biologische Wirkungen durch mehrere Zytokine ausgelöst werden (Redundanz), Zytokine von mehreren Zellarten produziert werden und auf verschiedene Zellarten unterschiedliche Wirkungen ausüben (Pleiotropie). Zu den Zytokinen zählen Interleukine (IL), Interferone (IFN), Tumornekrosefaktoren (TNF), der „transforming growth factor- β “ (TGF- β) und die koloniestimulierenden Faktoren (CSF, Hämopoetine).

Zytokine sind pluripotente Polypeptide, die als Botenstoffe zellregulierende Funktionen besitzen. Jede kernhaltige Zelle produziert Zytokine. Diese interzellulären Mediatoren haben sowohl lokale als auch systemische Wirkungen und werden durch Reize wie beispielsweise eine Verletzung produziert. Die Wirkung der Zytokine kann autokrin (Zielzelle ist sezernierende Zelle), parakrin (Zielzelle ist benachbarte Zellen) oder endokrin (Zielzelle wird über die Blutbahn erreicht) erfolgen [99].

Zytokine beeinflussen als Immunmediatoren die Funktion ihrer Zielzellen. Neben der Vermittlung einer adäquaten Immunantwort sind sie auch für die Vermittlung und Steuerung der entzündlichen Gewebeantwort verantwortlich. Auch die Induktion der Akute-Phase-Proteine, die Entstehung von Fieber und die Steuerung der Chemotaxis zählen zum Aufgabengebiet der Zytokine. Weiterhin beeinflussen sie die Regulation von Hämatopoese und Tumorprogression [78].

Durch Bindung an spezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche können diese Funktionsproteine die Aktivität von Immunzellen regulieren. Zytokinrezeptoren sind Transmembranproteine mit sehr hoher Ligandaffinität und einer Dissoziationskonstanten von 10^{-9} bis 10^{-12} M, wodurch sich ihre biologische Wirksamkeit bei Zytokinkonzentrationen im pikomolaren Bereich erklären lässt [85]. Das extrazelluläre Signal wird durch die Bindung an den Zytokinrezeptor in ein intrazelluläres Signal transferiert und so die Transkription bestimmter Gene reguliert. Zudem bestehen auch Wechselwirkungen mit endokrinem System und Nervensystem [78].

Zytokine steuern die Zelldifferenzierung im spezifischen Immunsystem: So wird durch IL-12 die Differenzierung zu Th1-Zellen und durch IL-4 die Differenzierung zu Th2-Zellen begünstigt. Dies ist allerdings vereinfacht und stellt die Extremform eines fein

balancierten Gleichgewichts dar, dessen Veränderungen den Verlauf einer Immunreaktion bestimmen [99].

Th1-Zellen produzieren IFN- γ , sind für die zellvermittelte Immunität verantwortlich und verursachen entzündliche Reaktionen und Autoimmunität. Th2-Zellen sezernieren IL-4 und IL-10, induzieren die humorale Immunität, fördern somit die Antikörper-Produktion und sind an allergischen Reaktionen beteiligt [102].

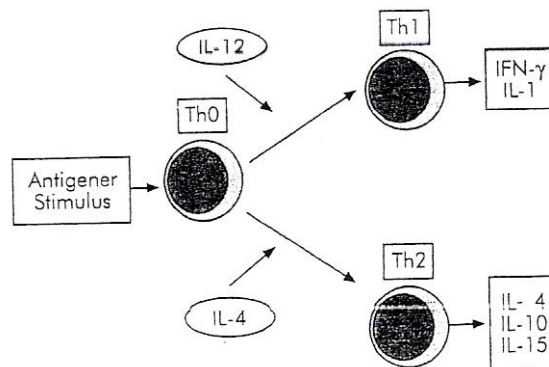


Abbildung 2: Differenzierung von Th-Zellen unter Zytokineinfluss [99]

Zytokine werden grob in proinflammatorische und antiinflammatorische Zytokine unterteilt. Hierbei zählen IL-6, IL-12, TNF- α und IFN- γ zu den proinflammatorischen Mediatoren, während IL-10 als antiinflammatorischer Botenstoff gilt.

In der Routinediagnostik wird der direkte Zytokinnachweis bisher nur für ausgewählte Indikationen angewandt. Hierzu zählen die sogenannten „Prognoseparameter“ IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der Intensivmedizin. Zytokine sind keine krankheitsspezifischen Marker, sondern können die Aktivität bestimmter Systemerkrankungen widerspiegeln und werden teilweise auch zur Verlaufsbeurteilung einer Sepsis oder eines Polytraumas bestimmt. Als wichtiger Sepsis-Parameter wird auch das durch die systemische TNF- α -Wirkung stimulierte Prokalcitonin bestimmt [99].

1.3.1. Interleukin-10

Zytokine, die eine Funktion bei der Immunregulation besitzen, werden als Interleukine bezeichnet und in der Reihenfolge ihrer Entdeckung durch Nummern gekennzeichnet. Interleukin-10 (IL-10) wurde erstmals als „Zytokinsynthese-inhibitierender Faktor“ CSIF (cytokine synthesis inhibiting factor) beschrieben. Die Primärstruktur des humanen IL-10 besteht aus 178 AS und besitzt eine Molekularmasse von 18 kD. Die biologisch aktive Form von IL-10 ist ein Homodimer mit einem Molekulargewicht von 39 kD und stellt teilweise eine α -Helix mit zwei Disulfidbrücken dar [101]. Das Gen für humanes IL-10 liegt auf Chromosom 1 und wird durch fünf Exons kodiert [49].

IL-10 wird vorwiegend von Th2-Zellen produziert und fördert humorale Immunreaktionen [28]. Zu den Zielzellen gehören T- und B-Lymphozyten sowie Monozyten und Makrophagen [99].

Seine Hauptfunktion besteht darin, Entzündungsreaktionen zu begrenzen und letztendlich zu beenden [66]. IL-10 besitzt die Fähigkeit, die Synthese proinflammatorischer Zytokine zu unterdrücken, indem die Aktivierung und Funktion von Makrophagen, T-Zellen und NK-Zellen gehemmt und die Expression von MHC Klasse II-Proteinen reduziert wird. Zudem reguliert IL-10 Proliferation und Differenzierung von B-Zellen, Mastzellen und T-Zellen [40].

Zur Therapie der Schuppenflechte, bei der ein IL-10-Mangel beobachtet wurde, wurde IL-10 therapeutisch bereits in klinischen Studien eingesetzt [1].

1.3.2. Interleukin-12

Interleukin-12 (IL-12) ist ein heterodimeres Zytokin, dessen Untereinheiten über eine Disulfidbrücke gekoppelt sind und aus einer leichten Kette mit 35 kD (p35) und einer schweren Kette mit 40 kD (p40) bestehen. Das Heterodimer stellt die einzige biologisch aktive Form von IL-12 mit einer Molekularmasse von 70 kD (p70) dar [91]. Als Homodimer kann die p40 Untereinheit an den IL-12-Rezeptor binden und dann als IL-12-Antagonist wirken [33].

IL-12 wirkt als proinflammatorisches Zytokin, welches von Antigen-präsentierenden Zellen (APZs) wie Monozyten, Makrophagen, B-Lymphozyten und dendritischen Zellen produziert wird [99]. Es fördert die Entwicklung der Th1-Zellen und ist an der

Regulation zellvermittelter Immunantworten beteiligt, weshalb ihm eine zentrale Funktion bei der Entstehung und Progression zellvermittelter Autoimmunerkrankungen wie der Multiplen Sklerose oder bestimmter Formen des Diabetes mellitus zugeschrieben wird [46]. Zudem wird durch IL-12 die zytolytische Aktivität der NK-Zellen unterstützt [91]. Es induziert die IFN- γ -Produktion von T- und NK-Zellen, wodurch die Sekretion von IL-12 und anderen proinflammatorischen Zytokinen durch phagozytierende Zellen über einen positiven Rückkopplungsmechanismus verstärkt wird. Diese positive Rückkopplung stellt einen wichtigen verstärkenden Mechanismus des Immunsystems bei Infektionen dar [59]. Da IL-12 in Tierversuchen eine verstärkte antiproliferative Aktivität gezeigt hat, könnte ein möglicher Einsatz zukünftig in der Tumorthherapie begründet sein [44].

1.3.3. Interferon- γ

Interferon- γ (IFN- γ) ist ein homodimeres Glykoprotein, dessen Gen auf Chromosom 12 lokalisiert ist. Es wird auch als Typ II-Interferon bezeichnet [69]. Im Gegensatz zu der Synthese der Typ I-Interferone (IFN- α und IFN- β), die von allen Zellen gebildet werden können, findet die IFN- γ -Produktion nur in aktivierten T-Zellen und NK-Zellen statt.

Das Glykoprotein besitzt antivirale, antiproliferative und immunregulatorische Wirkungen. IFN- γ hemmt die Proliferation von Th2-Zellen, und steigert die Aktivität von Th1-Zellen. Während einer Infektion wird IFN- γ von zytotoxischen CD8-positiven T-Zellen und Th1-Zellen vermehrt synthetisiert. IFN- γ fördert die Aktivierung von Monozyten und Makrophagen, vermittelt die antivirale und antibakterielle Immunität, verbessert die Antigenpräsentation und moduliert die Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Zudem reguliert IFN- γ das Th1/Th2-Gleichgewicht und kontrolliert zelluläre Proliferation und Apoptose [31].

Gehemmt wird die IFN- γ -Produktion sowohl unter dem Einfluss der Zytokine IL-4 und IL-10 als auch durch Glukokortikoide.

IFN- γ fördert die Differenzierung von B-Zellen und CD8-positiven T-Zellen, ist aber nicht an der Lymphozytenproliferation beteiligt. Schließlich trägt IFN- γ zur Aktivierung von Neutrophilen, NK-Zellen und vaskulären Endothelzellen bei. Eine beeinträchtigte IFN- γ -Produktion fördert die Persistenz von Infektionen und die Chronifizierung von Entzündungen. In einer aktuellen Studie konnte ein klinischer

Vorteil der Kombinationstherapie mit INF- α und IFN- γ gegenüber der Monotherapie mit INF- α zur Therapie chronischer HCV-Infektionen aufgezeigt werden [32].

1.3.4. Tumornekrosefaktor- α

Der Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), auch als Kachektin bezeichnet, ist ein nicht-glykosyliertes Protein, dessen biologisch aktive Form durch Trimerisierung erreicht wird. Alle kernhaltigen Zellen exprimieren TNF- α -Rezeptoren [99]. Hauptsyntheseorte von TNF- α sind aktivierte Monozyten und Makrophagen.

Als ein essentieller entzündungsvermittelnder endogener Mediator moduliert TNF- α den zellulären Metabolismus, reguliert Immunreaktionen und ist an der Induktion von Oberflächenantigenen und Adhäsionsmolekülen beteiligt [68]. Eine unkontrollierte TNF- α -Sekretion kann immunpathologische Prozesse auslösen und Zustände einer katabolen Stoffwechsellage bis hin zum Kreislaufversagen (z. B. beim septischen Schock) verursachen [99]. Durch Glukokortikoide wie Dexamethason oder Kortisol wird die TNF- α -Produktion in Monozyten dosisabhängig reduziert [100].

Die systemische Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α , IL-6 und IL-8 begünstigt die Entwicklung von Komplikationen im Rahmen von Knochenmarktransplantationen und macht die präventive antiinflammatorische Behandlung der Patienten notwendig [86]. Therapeutisch führt der Einsatz von Anti-TNF- α -Antikörpern bei chronischen Erkrankungen wie Morbus Bechterew, Psoriasis oder Morbus Crohn zu einer deutlichen klinischen Besserung [99].

TNF- α wird als ein Marker von überschießenden Entzündungsreaktionen bei Sepsis, Trauma und Herzinsuffizienz angesehen. Da Synthese und Sekretion proinflammatorischer Zytokine den Verlauf einer Sepsis maßgeblich bestimmen, stellen therapeutische Maßnahmen, die zur Reduktion der allgemeinen Immunantwort führen, noch immer die erfolgreichsten Behandlungsstrategien der Sepsis dar [76].

1.3.5. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) ist ein multifunktionelles Zytokin, das wegen seiner ausgeprägten Wirkung auf Immunreaktionen und hämatopoetische Funktionen eine zentrale Rolle auf Abwehrmechanismen ausübt und zudem maßgeblich an der Induktion von Akute-Phase-Reaktionen beteiligt ist [88]. IL-6 wird von Monozyten, Makrophagen, B- und

T-Lymphozyten, Hepatozyten, Endothelzellen, Keratinozyten und Fibroblasten sezerniert. IL-6 ist ein Einzelketten-Protein mit einer Molekularmasse von etwa 26 kD und drei Bindungsstellen.

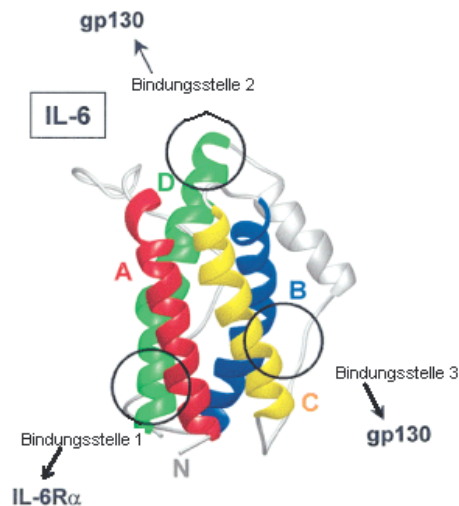


Abbildung 3: Struktur von IL-6 [37]

Der IL-6-Rezeptor-Komplex besteht aus zwei Untereinheiten: einem Molekül von 80 kD, welches den Liganden bindet und dem Glykoprotein 130 (Gp130), das für die Signalumwandlung zuständig ist [39]. IL-6 kann einerseits an membrangebundene IL-6-Rezeptoren binden oder andererseits an den löslichen IL-6-Rezeptor binden, mit dem es einen IL-6/sIL-6R-Komplex bildet [37]. Dieser wirkt über die Bindung an Gp130, das ubiquitär in Zellmembranen vorhanden ist. Durch die Bindung eines Liganden an den IL-6-Rezeptor werden diverse Signaltransduktionswege wie der JAK/STAT-Weg und der MAP-Kinase-Weg aktiviert, wodurch sowohl pro- als auch antiinflammatorische Wirkungen von IL-6 erklärt werden können [45].

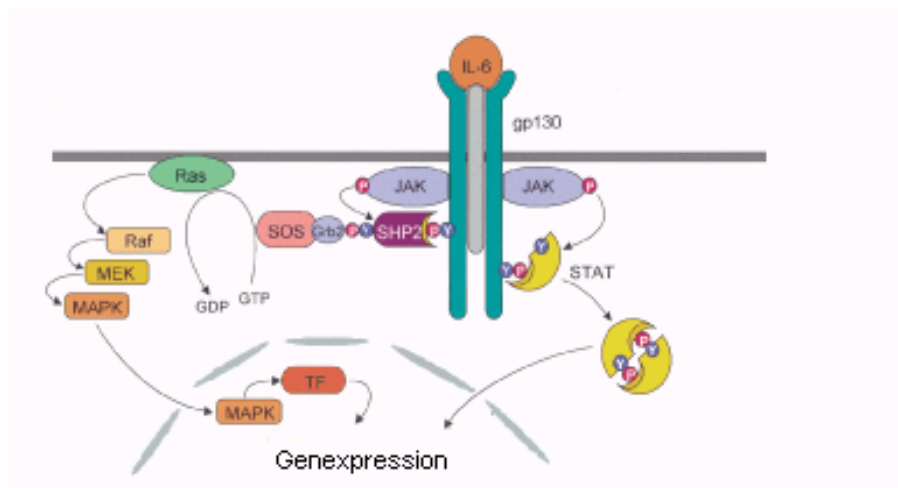


Abbildung 4: IL-6 aktiviert JAK/STAT- und MAP-Kinase-Signalweg [37]

IL-6 stimuliert die Proliferation und Differenzierung sowohl von B- als auch von T-Zellen [38]. Als Hepatozyten-stimulierender Faktor induziert IL-6 in der Leber als physiologischer Mediator die Bildung der Akute-Phase-Proteine wie Fibrinogen, α_1 -Antitrypsin, CRP, Haptoglobin oder Plasminogen.

Skelettmuskelkontraktionen im Rahmen von körperlichem Training bewirken sowohl im muskulären Interstitium als auch im Blut die Produktion und Sekretion von IL-6, wobei das Ausmaß der IL-6-Antwort abhängig von der Dauer und Intensität der körperlichen Belastung ist [29]. Als Zytokin-produzierendes „endokrines“ Organ kann der Muskel somit modulierend in metabolische und immunologische Prozesse eingreifen [74]. Erhöhte Konzentrationen von IL-6 und sIL-6R wurden bei chronischen Infektionen, Autoimmunerkrankungen sowie bei Tumorerkrankungen beobachtet [79]. Am Beispiel von drittgradigen Verbrennungen konnte gezeigt werden, dass die IL-6-Konzentration im Plasma mit der Schwere der Verbrennungskrankheit korreliert [93].

IL-6 stellt zusammen mit Prokalzitonin einen wichtigen Marker zur frühestmöglichen Identifikation postoperativer septischer Komplikationen nach großen chirurgischen Eingriffen dar [65]. Zudem wird IL-6 als Prognoseparameter bei Sepsis, Trauma und Herzinsuffizienz sowie zur Frühdiagnostik einer neonatalen Sepsis eingesetzt.

Bei der Auswertung der IL-6-Sekretion muss beachtet werden, dass IL-6 sowohl von Immunzellen wie Monozyten und Makrophagen als auch von anderen Zellen wie Epithel- oder Endothelzellen gebildet wird. Daher ist ein paralleler Nachweis weiterer proinflammatorischer Zytokine, z. B. TNF- α , für die Bewertung überschießender Immunreaktionen nötig [99].

1.4. Struktur und Eigenschaften von Prolaktin und Kortisol

Sowohl Nervensystem als auch endokrines System stehen über Neurotransmitter und Hormone in einem engen Zusammenhang mit dem Immunsystem. Über Rezeptoren auf der Oberfläche von Immunzellen wird modulierend auf Immunreaktionen eingegriffen, wobei das Immunsystem auch endokrine und zentralnervöse Reaktionen beeinflusst.

1.4.1. Prolaktin

Prolaktin (PRL) ist ein laktogenes Hormon, welches zytokinartige Eigenschaften aufweist und eine wichtige Schnittstelle zwischen Immunsystem und endokrinem System darstellt. Der Genlocus für menschliches PRL liegt auf Chromosom 6 und enthält fünf Exons und vier Introns, wobei kürzlich ein zusätzliches Exon 1a beschrieben wurde [2]. Nach Abspaltung des Signalpeptids (28 AS) vom PRL-Prohormon (227 AS) entsteht die Primärstruktur des menschlichen PRL mit einer Einzelkette aus 199 AS und einem Molekulargewicht von etwa 23 kD. Die Sekundärstruktur zeigt α -Helices und Schleifen im Verhältnis 1:1. Die dreidimensionale Tertiärstruktur ist durch vier lange α -Helices in antiparalleler Anordnung charakterisiert [30].

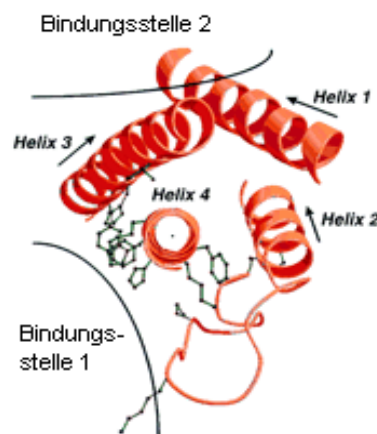


Abbildung 5: Dreidimensionale Struktur von PRL [8]

Im Kreislauf existiert PRL in verschiedenen molekularen Formen bedingt durch variierende Aminosäuresequenzen, posttranslationale Modifikationen und Fragmente, die im Rahmen proteolytischer Spaltung entstehen. Diese Heterogenität trägt zur

Vielfalt immunologischer und biologischer Wirkungen von PRL bei und könnte die komplexen und teilweise widersprüchlichen Aktivitäten von PRL in-vivo und -vitro bedingen [83]. Durch die Bindung von PRL an den PRL-Rezeptor wird der JAK/STAT-Signalweg aktiviert und die Genexpression von Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) und NF κ B beeinflusst [104].

Es gibt kaum ein Gewebe, in dem keine PRL-Rezeptoren exprimiert werden. Mittlerweile sind über 300 einzelne PRL-Wirkungen bekannt, zu denen Effekte auf Wasser- und Elektrolythaushalt, Wachstum und Entwicklung, ZNS und Verhalten, Reproduktion, Immunregulation sowie endokrinologische und metabolische Effekte zählen [8]. PRL wird im Hypophysenvorderlappen gebildet, episodisch sezerniert und unterliegt einem 24-Stunden-Zyklus. Die PRL-Sekretion aus der Adenohypophyse wird durch Dopamin gehemmt, welches von Neuronen im Hypothalamus ausgeschüttet wird [18].

Die PRL-Synthese ist nicht auf laktotrophe Zellen der Adenohypophyse begrenzt, sondern auch extrahypophysär in ZNS, Plazenta, Dezidua, Endometrium, Epithelzellen und Immunzellen beschrieben [30, 64]. PRL reguliert die Differenzierung sekretorischer Drüsen wie Mamma, Ovar, Prostata, Tränendrüse, Pankreas und Leber und steuert Proliferation und Differenzierung bestimmter Zellarten wie Epithelzellen der Brustdrüse, β -Zellen der Bauchspeicheldrüse, Astrozyten, Zellen der Adenohypophyse und Adipozyten.

Im Immunsystem wirkt PRL als Zytokin und besitzt über parakrine und autokrine Mechanismen regulatorische Funktionen bei Immunreaktionen [64]. Abhängig von Zellart, Gewebe und Organzustand kann PRL pro- oder antiinflammatorische Effekte hervorrufen.

Physiologisch erhöhte PRL-Konzentrationen im Serum werden während Schwangerschaft und Stillzeit sowie unter Belastung beobachtet. Pathologische Hyperprolaktinämien können mit gonadaler Dysfunktion oder Infertilität verbunden sein. Am häufigsten wird eine persistierende Hyperprolaktinämie in Anwesenheit eines Prolaktinoms hervorgerufen. Des Weiteren scheinen erhöhte Konzentrationen an zirkulierendem PRL an der Pathogenese zahlreicher Autoimmunerkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematodes oder der Multiplen Sklerose beteiligt zu sein, sind aber auch bei organspezifischen Autoimmunerkrankungen wie dem Diabetes mellitus Typ 1 oder der Hashimoto Thyreoiditis nachweisbar [5, 71].

Da sowohl Hyper- als auch Hypoprolaktinämien immunsuppressiv wirken, sind physiologische PRL-Konzentrationen für die Erhaltung einer grundlegenden Immunkompetenz essentiell [60]. Unter Stressbedingungen gleicht PRL die immunsuppressiven Effekte von Glukokortikoiden und anderen immunologischen Mediatoren aus, um die Homöostase im Organismus aufrechtzuerhalten [104].

1.4.2. Kortisol

Als Glukokortikoid gehört Kortisol zu den Steroidhormonen. Es wird in der faszikulären Zone der Nebennierenrinde aus Cholesterin synthetisiert. Adrenale Steroidhormone spielen bei der Regulation und Aufrechterhaltung der metabolischen Homöostase eine ausschlaggebende Rolle. Im Blut ist Kortisol in freier Form vorhanden oder an Kortisol-bindendes Globulin gebunden.

Bildung und Ausschüttung von Kortisol in das Blut unterliegen der Steuerung von in der Adenohypophyse synthetisiertem adrenokortikotropem Hormon (ACTH). Die Sekretion von ACTH steht wiederum unter der Kontrolle von Corticotropin releasing hormon (CRH), welches im Hypothalamus produziert wird. Durch unterschiedliche Noxen, Stress und emotionale Reize wird CRH verstärkt sezerniert. ACTH und CRH unterliegen einem negativen Rückkopplungsmechanismus, durch den ihre Ausschüttung bei hohen Kortikosteroid-Konzentrationen gehemmt wird [55].

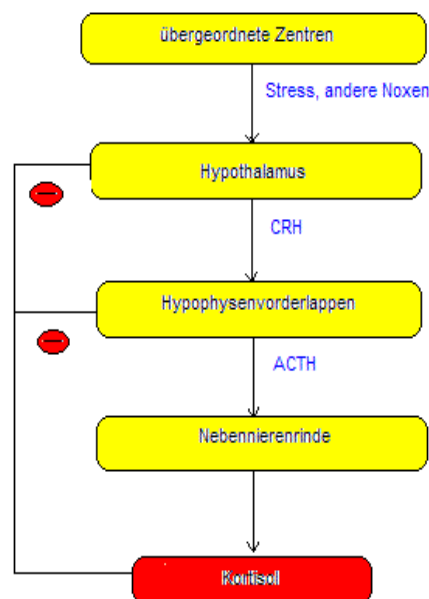


Abbildung 6: Regelkreis der Kortikosteroide [55]

Die Kortisolsekretion erfolgt nach einem zirkadianen Rhythmus mit hohen Kortisolwerten in den frühen Morgenstunden und abfallenden Werten im Tagesverlauf.

Glukokortikoide haben wichtige Effekte auf viele Stoffwechselfvorgänge. Die drei Hauptwirkungen sind Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels sowie der Wasser- und Elektrolytverteilung und die Steuerung des Immunsystems. Als Antagonist des Insulins fördert Kortisol die Glukoneogenese aus Aminosäuren in der Leber und reduziert Glukosetransport und Glukoseverwertung. Durch den daraus folgenden Blutzuckeranstieg erklärt sich die diabetogene Wirkung des Kortisols [51, 55].

Da jede Körperzelle Rezeptoren für Kortisol besitzt, sind die Wirkungen von der spezifischen Zellfunktion abhängig. Glukokortikoide erhöhen die Empfindlichkeit von Adrenozeptoren gegenüber Katecholaminen und stimulieren über einen parakrinen Effekt die Methylierung von NA zu Adrenalin im Nebennierenmark [51].

Auf immunologischer Ebene besitzt Kortisol bedeutende antiinflammatorische und immunsuppressive Effekte. Neben einer Reduktion der Anzahl an zirkulierenden eosinophilen und basophilen Granulozyten sowie Lymphozyten wird durch Glukokortikoide die zelluläre Immunität reduziert. Zudem hemmen sie die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-12, IFN- γ und TNF- α in APZs und Th1-Zellen, während sie die Produktion antiinflammatorischer Zytokine wie IL-4 und IL-10 in Th2-Zellen verstärken. Dadurch wird die zelluläre Th1-Antwort unterdrückt, die humorale Th2-Antwort gefördert und der Organismus vor einer systemischen Überladung mit proinflammatorischen Zytokinen und weiteren Mediatoren geschützt. In Situationen mit dauerhaft erhöhten Glukokortikoid-Konzentrationen, wie sie durch chronischen Stress oder auch während einer Schwangerschaft hervorgerufen werden können, kann das Th1/Th2-Ungleichgewicht jedoch auch die Ausbildung von Infektionen, Autoimmunerkrankungen oder Allergien begünstigen [26].

Als antiinflammatorische und immunsuppressive Medikamente besitzen Glukokortikoide derzeit ein breites Indikationsspektrum.

1.5. Narkose und Immunsystem

Durch chirurgische Eingriffe und anästhesiologische Verfahren werden Immunfunktionen beeinträchtigt und Komplikationen wie Infektionen, SIRS (systemic inflammatory response syndrome) oder Atemanpassungsstörungen begünstigt. Obwohl schon viele Studien über die immunmodulatorischen Eigenschaften von Anästhetika existieren, sind die immunologischen Auswirkungen der einzelnen Substanzen und ihre klinischen Konsequenzen bis heute nicht vollständig verstanden.

Sowohl durch das chirurgische Trauma als auch durch die anästhesiologischen Maßnahmen wird eine Störung des immunologischen Gleichgewichts induziert. Durch Anästhetika wird die Immunfunktion zum einen über direkte funktionelle Veränderungen von Immunzellen und zum anderen über eine indirekte Wirkung auf die hypothalamo-hypophysäre Achse und das sympatho-adrenerge System beeinflusst [84].

1.5.1. Operatives Trauma und Immunantwort

Nach einer traumatischen Verletzung wirkt Endotoxin als starker Stimulus der akuten Entzündungsantwort. Endotoxine gehören zu den Pyrogenen, sind Bestandteil der Zellwand gramnegativer Bakterien und werden während und nach operativen Eingriffen vermehrt aus dem Darmlumen über die Schleimhaut in die Blutzirkulation transportiert. Endotoxine gelten als früheste Auslöser der Mediator-Kaskade in Akute-Phase-Reaktionen, wodurch die Entwicklung postoperativer Infektionen begünstigt werden kann. Die Schwere der chirurgischen Intervention korreliert sowohl mit dem Umfang der immunologischen Antwort als auch mit der Höhe der Endotoxinkonzentration im Plasma [6, 7]. Neben dem Ausmaß des operativen Traumas ist die Immunantwort auch von Faktoren wie Alter und Gesundheitszustand des Patienten sowie dessen Vormedikation abhängig.

Zu den wesentlichen Aufgaben der Immunzellen gehört die Zytokinsekretion, durch die die interzelluläre Kommunikation stattfindet. In gesunden Lebewesen befinden sich pro- und antiinflammatorische Mechanismen im Gleichgewicht. Durch ein chirurgisches Trauma, eine Infektion oder aber durch perioperativ verabreichte Medikamente wird dieses Gleichgewicht gestört.

1.5.2. Narkose

Die Narkose oder auch Allgemeinanästhesie ist ein medikamentös induzierter, kontrollierter und reversibler Bewusstseinsverlust mit zentraler Analgesie. Die Narkose ist durch eine systemische Medikamentengabe charakterisiert, bei der eine zentrale Schmerzausschaltung erfolgt und der Patient in einen tiefen Schlafzustand versetzt wird.

Als moderne anästhesiologische Technik wurde in der vorliegenden Studie die TIVA (totale intravenöse Anästhesie) angewendet. Als Hypnotikum wurde Propofol (Disoprivan[®]) und für die Analgesie das kurz wirksame Remifentanyl (Ultiva[®]) eingesetzt. Diese Kombination zeichnet sich durch eine relativ gute Steuerbarkeit aus. Die Wirksubstanz von Propofol ist in einer Öl/Wasseremulsion gelöst und hemmt über Beeinflussung des GABA-Rezeptors die Glutamatfreisetzung sowie den Natriumkanal-abhängigen Natriumeinstrom in die Zelle. Durch schnelle Umverteilung ist eine kurze Wirkdauer von 4-6 Minuten gegeben und somit ein rasches Erwachen möglich. Zudem zeigt Propofol eine antiemetische Wirkung mit Reduktion der Inzidenz von Übelkeit und Erbrechen in der postoperativen Frühphase [36].

Es konnte in zahlreichen Studien gezeigt werden, dass Propofol wenig Einfluss auf die Zytokinproduktion und die Funktion von T-Lymphozyten besitzt [21, 80].

Im Gegensatz zu Propofol besitzen Opioide pleiotrope Wirkungen auf immunologische Funktionen, die dosis- und zeitabhängig sind [75]. Opioide beeinflussen humorale und zelluläre Immunantworten, einschließlich Antikörperproduktion, NK-Zellaktivität, Zytokinexpression und phagozytotischer Aktivität.

Opioidrezeptoren werden im ZNS, auf peripheren Nervenzellen sowie auf Immunzellen exprimiert. Hierdurch ist ihre einerseits direkte Beeinflussung der Immunfunktion auf zytokinähnliche Weise zu erklären, andererseits wirken sie indirekt immunmodulatorisch über das ZNS. Einer dieser Mechanismen verläuft über die HPA (hypothalamo pituitary adrenal)-Achse und das autonome Nervensystem [96].

Die Narkose mit Propofol und Opioiden fördert proinflammatorische Immunantworten und beeinflusst die Zusammensetzung peripherer Lymphozyten-Subpopulationen [10].

1.5.3. Neuroaxialer Block

Der neuroaxiale Block ist eine Form der Regionalanästhesie, die besonders bei orthopädischen, gynäkologischen oder urologischen Eingriffen eine zuverlässige Alternative zur Narkose darstellt. Er bewirkt die Blockade ausgewählter Nervensegmente und verursacht in aufgeführter Reihenfolge

- zuerst Sympathikolyse durch Blockade des präganglionären Sympathikus mit Gefäßdilataion und Blutdruckabfall (B- und C-Fasern)
- dann Schmerzfremheit und Blockade des Temperaturempfindens (A- δ - und C-Fasern)
- später aufgehobenes Berührungs- und Druckempfinden (A- β -Fasern)
- und schließlich die Hemmung von Motorik, Vibrations- und Lageempfinden (A- α -Fasern) [36].

Die Spinalanästhesie (SPA) bei endoprothetischen Eingriffen der unteren Extremität wird zwischen dem 2. und 3. Lendenwirbelkörper (LWK) oder dem 3. und 4. LWK gesetzt. Der neuroaxiale Block stellt ein anästhesiologisches Verfahren dar, bei dem die Medikamentenapplikation auf lokaler bzw. regionaler Ebene stattfindet, wodurch eine periphere Nervenblockade induziert wird. Der Patient befindet sich während des operativen Eingriffes in einem Wachzustand.

In unserer Studie wurde die kombinierte Spinal-/ Epiduralanästhesie (CSE) angewandt, die den Vorteil des schnellen Wirkbeginns der SPA mit der späteren Nachinjektionsmöglichkeit über den liegenden Periduralkatheter (PDK) kombiniert. Hierbei wird der Periduralraum mit einer speziellen Tuohy-Kanüle punktiert. Durch diese Kanüle wird eine Spinalnadel in den Subarachnoidalraum geführt, das Lokalanästhetikum injiziert und anschließend die Spinalnadel wieder entfernt. Abschließend wird ein Katheter in den Periduralraum gelegt [52].

Vorteil der SPA gegenüber der Narkose besteht zum einen im niedrigeren Bedarf an anästhesiologischen Medikamenten und postoperativen Analgetika. Zum anderen ist sie bei erhaltenem Bewusstsein wirksam und es ist keine Beatmung des Patienten notwendig.

Die Sympathikolyse führt nicht nur zur Hemmung der sympathischen Innervation, sondern bewirkt durch die blockierten präganglionären Sympathikusfasern auch eine Vasodilatation im Versorgungsgebiet, die den initialen Blutdruckabfall sowie das auftretende Wärme- und Kribbelgefühl nach Injektion des Lokalanästhetikums erklärt.

1.6. Zielsetzung

Die Auswirkungen anästhesiologischer und operativer Maßnahmen auf das menschliche Immunsystem sind seit langem aktueller Gegenstand der Forschung.

In früheren Studien wurden veränderte PRL- und Kortisolkonzentrationen im Serum bei verschiedenen Narkoseverfahren mit Opioidgabe beobachtet, wobei ein narkoseinduzierter Anstieg von PRL und eine Abnahme der Kortisolkonzentration gemessen werden konnte, die mit einer verstärkten proinflammatorischen Reaktionslage des Immunsystems einhergingen [9, 13].

Ziel dieser Arbeit ist es, immunologische Veränderungen zweier unterschiedlicher Anästhesieverfahren direkt postoperativ nach einem großen operativen Trauma zu erfassen. Die Narkose mit induziertem Tiefschlaf, systemischer Medikamentengabe und somit zentraler Schmerzausschaltung wird der SPA mit regionaler Medikamentenapplikation, peripherer Nervenblockade und erhaltenem Bewusstsein gegenübergestellt. Wir erwarten, dass durch Narkose ausgeprägtere immunologische Veränderungen hervorgerufen werden als durch CSE, bei der die Anästhesie lediglich bestimmte Segmente auf Rückenmarksebene umfasst.

Durch prä- und postoperative Zytokin- und Hormonmessungen können immunologische Veränderungen festgestellt werden. Hierbei erwarten wir postoperativ eine veränderte Zytokinbalance, veränderte Plasmahormonspiegel, eine verstärkte immunologische Reaktion mit erhöhter Zytokinproduktion im Sinne eines Postaggressionssyndroms oder auch eine immunsuppressive Wirkung mit verminderter Zytokinproduktion. Zudem sind Unterschiede zwischen den beiden Anästhesieverfahren wahrscheinlich. Weiterhin werden allgemeine Veränderungen wie Leukozytose als Zeichen der Stressreaktivität sowie ein IL-6-Anstieg als Akute-Phase-Reaktion erwartet.

Zur Einschätzung von Monozyten- und Makrophagenfunktion wurden IL-10, TNF- α und IL-12 bestimmt. Die IL-10-Synthese ist in menschlichen Monozyten und Lymphozyten nachweisbar und stellt die antiinflammatorische Komponente unserer Messungen dar. IL-12 und TNF- α spiegeln die proinflammatorische Aktivität von Makrophagen und NK-Zellen wider. Durch die Messung des Akute-Phase-Zytokins IL-6 wird eine vorwiegend proinflammatorische, immunregulatorische Messgröße aufgezeigt.

Der im Vorfeld durchgeführte NA-Vorversuch fungiert als Modell der Stresswirkung auf Immunzellen und lässt Rückschlüsse auf die Sympathikolyse zu. In der vorliegenden Patientenstudie wurde kein NA gemessen, da nur geringe Plasmakonzentrationen erwartet

werden, der Plasmaspiegel zudem wenig mit der Sympathikusaktivität korreliert und der NA-Nachweis eine sehr aufwändige Methode darstellt. Daher wurde für die Patientenstudie die Bestimmung der Stresshormone PRL und Kortisol im Serum gewählt. PRL und Kortisol wirken als neuroendokrine Stressparameter, stellen die Schnittstelle zwischen neuroendokrinem System und Immunsystem dar und zeigen dessen Beeinflussung durch das jeweilige Narkoseverfahren.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Patienten und Probanden

In der vorliegenden Studie wurden 30 orthopädische Patienten untersucht, die sich einem elektiven endoprothetischen Gelenkersatz an Knie- oder Hüftgelenk (TEP) in Regionalanästhesie oder Narkose unterzogen haben.

Dabei wurde jeweils prä- und postoperativ eine Blutentnahme durch Punktion einer peripheren Vene durchgeführt. Aus diesen Blutproben wurden Blutbilder bestimmt, PRL-, Kortisol- und IL-6-Konzentrationen im Serum gemessen sowie Vollblutstimulationstests zur Messung der Produktion von TNF- α , IL-6, IL-10 und IL-12 durchgeführt.

Die präoperative Blutentnahme erfolgte beim Legen des venösen Zugangs im Rahmen der ersten Blutentnahme. Die postoperative Blutentnahme fand bei weitgehender Schmerzfreiheit im Aufwachraum unmittelbar nach Ankunft aus dem Operationssaal statt.

Um die Patientengruppe möglichst einheitlich zu halten, wurden Patienten mit stark verminderter kardiopulmonaler Belastbarkeit, bekannten endokrinologischen Erkrankungen oder Tumorerkrankungen von der Studie ausgeschlossen. Weiterhin haben keine Patienten an der Studie teilgenommen, die Dopamin-Agonisten bzw. Dopamin-Antagonisten einnahmen, da dadurch eine Beeinflussung des PRL-Spiegels resultiert hätte.

Das Gesamtkollektiv umfasst 12 männliche und 18 weibliche Patienten, die zum Zeitpunkt des Eingriffes zwischen 49 und 80 Jahren alt waren. Das mittlere Alter betrug 67,5 Jahre.

Als Anästhesieverfahren erhielten 15 Patienten eine SPA und 15 eine Intubationsnarkose (ITN). Es wurden 20 Hüft-TEPs implantiert, von denen 10 Patienten eine SPA und 10 eine Narkose erhielten. Bei den 10 Patienten, bei denen eine Knieendoprothese implantiert wurde, bekamen jeweils 5 Patienten entweder eine ITN oder eine SPA im Rahmen einer CSE. Bei diesem Verfahren wird die SPA mit der anschließenden Einführung eines PDKs kombiniert. Die Patienten mit CSE

erhielten keine Opioide. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät an der Universität zu Lübeck begutachtet und genehmigt (AZ 03-154).

Die Blutproben für den NA-Vorversuch stammten von 9 gesunden Blutspendern des Institutes für Immunologie und Transfusionsmedizin.

2.1.2. Narkose

Als Narkoseverfahren wurde die totale intravenöse Anästhesie (TIVA) angewendet. Die hypnotische Wirkung wurde durch Propofol und die Analgesie durch das kurzwirksame Remifentanyl erreicht.

Zur Sedierung der Patienten wurde im Rahmen der Prämedikation 20-40 mg Clorazepat (Tranxilium®) verabreicht.

Zur Einleitung wurde Propofol in einer Dosierung von ca. 2 mg/kg KG und ein Fentanyl-Bolus von 0,2 mg verabreicht. Das Muskelrelaxans Vecuronium wurde in einer Dosierung von 0,1 mg/kg KG zur Intubationshilfe verwendet. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde Propofol in einer Dosis von 4,5 mg/kg KG/Minute und Remifentanyl mit 0,2 µg/kg KG/Minute infundiert.

Die durchschnittliche OP-Dauer lag bei 120 Minuten; die gesamte Narkosedauer bei 191 Minuten. An kristalloiden Lösungen wurden im Durchschnitt 3,4 Liter pro Patient infundiert; kolloidale Lösungen wurden 0,5 Liter durchschnittlich verabreicht.

Alle Patienten mit TIVA erhielten Piritramid (Dipidolor®) 7,5 mg unmittelbar postoperativ.

2.1.3. Neuroaxialer Block

Als regionalanästhesiologisches Verfahren wurde die CSE durchgeführt, bei der der Periduralraum mit einer speziellen Tuohy-Kanüle punktiert und über diese Kanüle eine Spinalnadel in den Subarachnoidalraum geführt wurde. Nach Injektion von 2,5-3 ml Bupivacain 0,5 % wurde die Spinalnadel entfernt und ein PDK gelegt. Die Punktion erfolgte abhängig von dem jeweiligen Patienten zwischen LWK 2 und 3 oder LWK 3 und 4.

Die durchschnittliche OP-Dauer lag bei 122 Minuten bei einer Anästhesiedauer von 182 Minuten. Im Durchschnitt wurden 3,5 Liter kristalloide und 0,4 Liter kolloidale Lösung pro Patient infundiert.

2.1.4. Zellkulturmedien und Zusätze

- Aqua ad injectabile
- Phosphat Buffered Saline, PBS, ohne Ca^{2+} und Mg^{2+} , Life Technologies, Berlin, Deutschland
- Kulturmedium RPMI 1640, 20 Mm Hepes Nr. F1235, Seromed Fa. Biochrom, Berlin, Deutschland
- Für den Vollblutstimulationstest wurde 800 μl RPMI-Medium versetzt mit 2 Mm L-Glutamin, 100 U/ml Penicillin und 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Streptomycin, Fa. GIBCO, Karlsruhe, Deutschland
- Für den Vorversuch wurde 1 Ampulle Noradrenalin (Arterenol[®]) zu einer Endkonzentration von 100 $\text{pg}/\mu\text{l}$ verdünnt

2.1.5. Mitogene

- LPS (Lipopolysaccharide) aus gereinigten E. coli-Stämmen 0III:B4 Endotoxin, Fa. Sigma, Deisenhofen, Deutschland
- PHA (Phytohämagglutinin) Nr. 8E28-01, 30852801, Fa. Murex Biotech Limited, Dartford Kent, United Kingdom

LPS (Monozytenstimulation) wurde in einer Konzentration von 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ und PHA (Lymphozytenstimulation) in einer Konzentration von 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ verwendet.

2.1.6. ELISA-Kits

- Human IL-6 ELISA , BMS213/2CE, Fa. Bender MedSystems GmbH, Wien, Österreich
- Human IL-10 ELISA, BMS215/2CE, Fa. Bender MedSystems GmbH, Wien, Österreich
- Human IL-12 total ELISA, BMS261/2CE, Fa. Bender MedSystems GmbH, Wien, Österreich
- Human TNF- α ELISA, BMS223/3CE, Fa. Bender MedSystems GmbH, Wien, Österreich
- Human IFN- γ ELISA, BMS228CE, Fa. Bender MedSystems GmbH, Wien, Österreich

2.1.7. Laborbedarf

- Blutentnahme-Kanülen
- Combitips, 2,5 ml/ 5 ml, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Einmalspitzen, steril, 2 ml/ 5 ml/ 10 ml, Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
- Eppendorf-Röhrchen-Ständer, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Kunststoffröhrchen, steril, mit Schraubverschluss, 15 ml/ 50 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Monovetten Lithium-Heparinat, 4,5/10 ml (15 IU Li-Heparinat/ml Blut), Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Monovetten Serum, 10 ml, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Pipettenspitzen, steril und unsteril, 1-10 µl, kristall, Fa. Greiner, Nürtingen, Deutschland
- Pipettenspitzen, steril und unsteril, 10-100 µl, gelb, Fa. Greiner, Nürtingen, Deutschland
- Pipettenspitzen, steril und unsteril, 100-1000 µl, blau, Fa. Greiner, Nürtingen, Deutschland
- Pipettenspitzen, Combitips unsteril, 2,5 µl/ 5 µl/ 12,5 µl, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- PPN-Röhrchen, 5 ml, Fa. Greiner, Nürtingen, Deutschland
- Reagiergefäße, unsteril, 1,5 ml, gelb und weiß, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Stangenpipetten, steril, 5 ml/ 10 ml/ 25 ml, Fa. Greiner, Nürtingen, Deutschland
- Untersuchungshandschuhe aus Naturkautschuklatex, puderfrei, Peha-soft[®], Fa. Hartmann, Heidenheim, Deutschland

2.1.8. Geräte

- Accu-jet pro, Pipettierhelfer, Fa. Brand
- CO₂-Inkubator NAPCO 5400, Model-Nr. 5420-1R, Fa. Labotect, Göttingen, Deutschland
- ELISA-Reader, Typ: 10600, Fa. Anthos Labtec Instruments, Salzburg, Österreich

2. Material und Methoden

- ELISA-Washer, Typ: Columbus plus, Fa. Tecan Austria GmbH, Grödig, Österreich
- ELISA-Mischgerät, Typ: Titramax 100 T, Fa. Heidolph Instruments GmbH, Schwabach, Deutschland
- ELISA-Drucker, NEC Pinwriter P30, NEC Technologies, United Kingdom
- Gefriertruhe Bio-Freezer, Fa. Forma-Scientific, Labotec, Göttingen, Deutschland
- Multipipette plus, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Pipetboy acu, Fa. Integra Biosciences, Fernwald, Deutschland
- Pipette Combi-Pipette Typ 3180, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Pipetten Vario-Mikroliterpipetten, 0,5-10 µl/ 10-100 µl/ 100-1000 µl, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
- Schüttelwasserbad SW-20c, Fa. Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Germany
- Sicherheitswerkbank NuAire Laminar Flow, Modell: NU 440-500E, Fa. Zapf Instrumente, Sarstedt, Deutschland
- Tiefkühlraum, Fa. Hauschild GmbH, Lübeck/Bad Oldesloe, Deutschland
- Vortex, Reax 2000, Fa. Heidolph Instruments GmbH, Schwabach, Deutschland

2.2. Methoden

2.2.1. Vollblutansätze

Zur Messung der Aktivität von Immunzellen verwendeten wir den Vollblutstimulationstest [50]. Die Blutproben wurden innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme im Vollbluttest angesetzt, welcher unter einer Sterilwerkbank durchgeführt wurde.

Um eine bakterielle Kontamination zu verhindern, wurde das RPMI-Medium mit Glutamin (2 Mm), Penicillin (100 U/ml) und Streptomycin (100 µg/ml) versetzt.

Protokoll:

- Blutentnahme durch Punktion einer peripheren Vene mit einer Lithium-Heparinat Monovette (15 IU Li-Heparinat/ml Blut)
- RPMI-Kulturmedium im Schüttelwasserbad (37 °C) erwärmen
- 100 µl heparinisiertes Vollblut mit 800 µl RPMI-Medium in Reaktionsgefäßen verdünnen
- 100 µl LPS-Lösung [0,1 µg/ml] bzw. als negative Kontrolle 100 µl RPMI zugeben und vorsichtig mischen
- Inkubation bei 37 °C, 5 % CO₂, und 95 % Luftfeuchtigkeit für 24 Stunden
- 500 µl des zellfreien Überstandes abpipettieren und in Eppendorf-Reaktionsgefäße überführen
- Bei -70 °C bis zur Zytokinmessung lagern

2.2.2. NA-Vorversuch

Jedem Probanden wurde durch Punktion einer peripheren Vene eine Blutprobe in einer Lithium-Heparinat Monovette entnommen. Die Probanden waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme frei von akuten Infektionen und Allgemeinerkrankungen.

NA (ArterenoI[®]) wurde verdünnt und in einer Endkonzentration von 100 pg/µl verwendet, was in etwa der 40-fachen Normalkonzentration entspricht. Der NA-Normwert im Serum liegt bei 185-275 pg/ml.

Die gewonnenen Blutproben wurden nach Entnahme umgehend weiterverarbeitet:

Die Proben für die Messung der IL-10-, IL-12-, TNF- α - und IL-6-Sekretion wurden mit LPS in einer Konzentration von 0,1 $\mu\text{g/ml}$ versetzt. Für die IFN- γ -Messung wurde PHA in einer Konzentration von 5 $\mu\text{g/ml}$ zur Stimulation verwendet, da hierdurch verglichen mit LPS eine stärkere Stimulation der IFN- γ -Produktion im Vollbluttest erreicht wird. Vor Zugabe von Mitogen wurden den Proben unterschiedliche NA-Konzentrationen (2,5-100 μl) zugesetzt. Eine negative Kontrolle (nur Medium, ohne Mitogen) und zwei positive Kontrollen (LPS und PHA) wurden mitgeführt.

Nach Ablauf der Inkubationszeit (für den LPS-Ansatz 24 h und für den PHA-Ansatz 72 h) wurden die Zellüberstände bei -70 °C tiefgefroren und zur Zytokinmessung mittels ELISA-Technik erstmals wieder aufgetaut.

Protokoll:

- Aus jeder Monovette wurden unter sterilen Bedingungen (Sterilwerkbank) folgende Proben angefertigt:
 - Negative Kontrolle ohne Mitogen
 - Zwei positive Kontrollen: LPS [0,1 $\mu\text{g/ml}$], PHA [5 $\mu\text{g/ml}$]
 - Vier LPS-stimulierte Proben mit 2,5, 5, 10 und 100 μl NA
 - Vier PHA-stimulierte Proben mit 2,5, 5, 10 und 100 μl NA
- Die LPS-stimulierten Proben wurden im Brutschrank für 24 Stunden bei einer Temperatur von 37 °C, in einem Gasgemisch von 95 % Luft und 5 % CO₂ und einer Luftfeuchtigkeit von 95 % inkubiert. Die Inkubationszeit der PHA-stimulierten Proben betrug 72 Stunden.
- Unter sterilen Bedingungen wurden 500 μl des Zellüberstandes in Eppendorf-Röhrchen abpipettiert und bei -70 °C bis zur Zytokinmessung tiefgefroren. Aus den LPS-stimulierten Kulturen wurden die Konzentrationen von IL-6, IL-10, IL-12 und TNF- α gemessen. Aus den PHA-stimulierten Zellkulturen wurde IFN- γ bestimmt.

2.2.3. Patientenstudie

In die Patientenstudie wurde 30 Patienten der Klinik für Orthopädie der Universität zu Lübeck einbezogen. Aus prä- und postoperativ entnommenen venösen Blutproben wurde ein Blutbild erstellt, aus dem Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Hk) und Leukozytenzahl hervorgingen. Nach LPS-Stimulation wurden die Konzentrationen

von IL-6, IL-10, IL-12 und TNF- α gemessen. Zudem wurde die prä- und postoperative Sekretion von IL-6, PRL und Kortisol im Serum bestimmt.

Die Zytokine wurden mit Hilfe der ELISA-Technik gemessen. Die PRL-Bestimmung erfolgte mittels ECLIA (Elektrochemilumineszenz Immunoassay)-Technik und die Messung der Kortisolkonzentration durch FPIA (Fluoreszenzpolarisations Immunoassay)-Technik.

2.2.4. ELISA

Zur Messung der Zytokinkonzentration im zellfreien Kulturüberstand diente die ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)-Technik. Sie stellt eine quantitative Nachweismethode für Antigene durch Antikörper dar, die mit Enzymen gekoppelt sind. Nach Zugabe des betreffenden Substrates entsteht ein gefärbtes Stoffwechselprodukt, dessen Menge photometrisch bestimmt wird.

Bei den durchgeführten ELISA-Tests der Firma Bender MedSystems handelt es sich um Tests mit „Solid-Phase-Technik“, die auf dem so genannten Sandwich-Prinzip beruhen.

Hierbei werden zwei Antikörper verwendet, die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden. An der 96-Loch-Mikrotiterplatte sind monoklonale Antikörper (coating Antikörper) fixiert, die gegen das zu bestimmende Zytokin gerichtet sind.

Die Kulturüberstände werden in die Löcher der Platte pipettiert. In der nachfolgenden Inkubationszeit erfolgt die Bindung der Zytokine an die fixierten Antikörper. Gleichzeitig zugegebenes Biotin-Konjugat bindet als löslicher monoklonaler Antikörper an einer anderen Stelle an das zu bestimmende Zytokin. Anschließend wird die Platte mehrfach gewaschen um alle ungebundenen Antikörper zu entfernen.

Nach Zugabe eines enzymmarkierten Antikörpers (Streptavidin-HRP) und erneuter Inkubationszeit wird die Platte wieder mehrfach gewaschen und eine Substratlösung hinzugefügt. Die durch den enzymatischen Substratumsatz entstandene Farbstoffmenge ist zur Zytokinkonzentration proportional.

Nach etwa zehn Minuten wird die Reaktion mit 1 M Phosphatsäure (Stopp-Lösung) beendet und die Antigenkonzentration mit Hilfe des ELISA-Readers photometrisch bestimmt.

Durch Vergleich mit einer Standardkurve kann die Zytokinkonzentration jeder einzelnen Probe ermittelt werden.

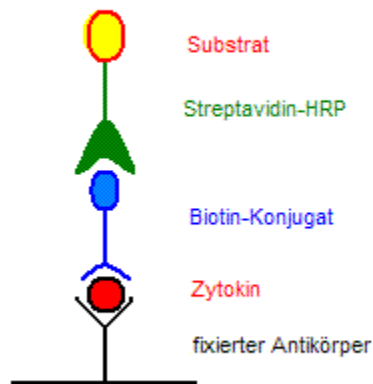


Abbildung 7: Sandwichprinzip der ELISA-Technik

Die Durchführung der einzelnen Tests erfolgte jeweils entsprechend der Arbeitsvorschrift des Testherstellers.

2.2.5. PRL-Messung

Im Hormonlabor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universität zu Lübeck wurde PRL im Serum mit Hilfe der ECLIA-Technik bestimmt. Es handelt sich hierbei um einen immunologischen in-vitro Test zur quantitativen Bestimmung der PRL-Konzentration im Serum mit Hilfe des Roche Immunoassay Analyseautomaten Elecsys 1010/2010 und eines MODULAR ANALYTICS E170 (Elecsys Modul).

Auch hier war das Testprinzip die Sandwich-Technik:

- Probe und biotinylierter monoklonaler PRL-spezifischer Antikörper bilden den ersten Komplex (1. Inkubation).
- Durch Zugabe eines mit Ruthenium-Komplex markiertem Antikörper wird ein Sandwichkomplex gebildet, der an die Festphase gebunden ist (2. Inkubation).
- Überführung in die Messzelle, in der die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert sind. Ungebundene Substanzen werden entfernt.

- Durch Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.
- Ermittlung der Ergebnisse anhand einer Kalibrationskurve.

2.2.6. Kortisol-Messung

Die Bestimmung der Kortisol-Konzentration wurde in Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern des Institutes für Immunologie und Transfusionsmedizin der Universität zu Lübeck durchgeführt. Zur quantitativen Kortisol-Bestimmung im Humanserum wurde das Produkt AxSYM[®] Cortisol der Firma Abbott verwendet, welches auf dem Prinzip der FPIA-Technik beruht:

- Die Proben werden in die Vertiefungen des Reaktionseinsatzes pipettiert.
- Probe, Kortisol-Antiserum (Antikörper), Vorbehandlungslösung und Spülpuffer ergeben die Vorverdünnungsmischung.
- Ein Teil der Vorverdünnungsmischung und Spülpuffer werden in die Küvette des Reaktionseinsatzes pipettiert und die Leerwertintensität der Probe gemessen.
- Ein weiterer Teil der Vorverdünnungsmischung und der Kortisol-Fluoreszein-Tracer werden in die Küvette überführt.
- Kortisol der Probe und Kortisol-Fluoreszein-Tracer konkurrieren um die freien Bindungsstellen am Antikörper-Molekül.
- Mit dem optischen Messsystem für FPIA wird die Intensität des polarisierten Fluoreszenzlichtes gemessen.

Vor Durchführung des AxSYM Cortisol Assays wurde die AxSYM Cortisol Assaydatei von der Assaydiskette 4J63-01 auf dem AxSYM Analysegerät installiert. Als Standardkalibrierung wurde eine 6-Punkt-Kalibrierung durchgeführt.

2.2.7. Statistik

Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des Programms SPSS 12.0 für Windows durchgeführt. Für jeden Parameter wurde in üblicher Weise Mittelwert, Standardabweichung und Median berechnet.

Ein Ergebnis wurde dann als statistisch signifikant angesehen, wenn die Nullhypothese mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner 5 % verworfen werden konnte.

Zur Prüfung der Messwerte auf ihre Abweichung von der Normalverteilung wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test angewandt. Waren die Werte normalverteilt, wurde der t-Test nach Student für gepaarte Stichproben verwendet.

Lag keine Normalverteilung der Datensätze vor, wurde der Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon durchgeführt, bei dem eine Ranganalyse ausgeführt wird, die Veränderungen innerhalb der einzelnen Probenpaare berücksichtigt.

Für die graphische Darstellung der Messergebnisse wurde das Programm GraphPad Prism 4.0 gewählt.

Box-Plot-Diagramme wurden gewählt, wenn der Median als Lagemaß als wichtig erachtet wurde. Zusätzlich ergibt sich durch die angezeigten Perzentilen ein guter Einblick über die Streuung der gemessenen Parameter.

Balkendiagramme zeigen Mittelwert und Standardfehler.

3. Ergebnisse

3.1. In-vitro Vorversuch

Im in-vitro Stimulationstest mit NA wurde der Katecholamineffekt der Stressorenaktivierung durch Zugabe verschiedener NA-Konzentrationen imitiert und anschließend die Zytokinsekretion von IL-10, IL-12, TNF- α , IL-6 und IFN- γ im Vollbluttest nach Mitogenstimulation gemessen.

Die maximal eingesetzten NA-Konzentrationen entsprachen in etwa der 40-fachen Normalkonzentration (185-275 pg/ml) im Serum.

3.1.1. IL-10-Sekretion

Bei der Messung des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 wurde mit zunehmender Katecholaminkonzentration eine tendenziell zunehmende IL-10-Produktion beobachtet. Bei einer NA-Konzentration von 10.000 pg/ml zeigte sich eine statistisch signifikante Erhöhung der IL-10-Sekretion verglichen mit der Kontrollprobe (0 pg/ μ l NA). Mit zunehmender NA-Konzentration konnte eine zunehmende Streuung der Messwerte beobachtet werden. In der Kontrollprobe ohne Mitogenzusatz konnte durch NA alleine keine messbare Zytokinkonzentration induziert werden.

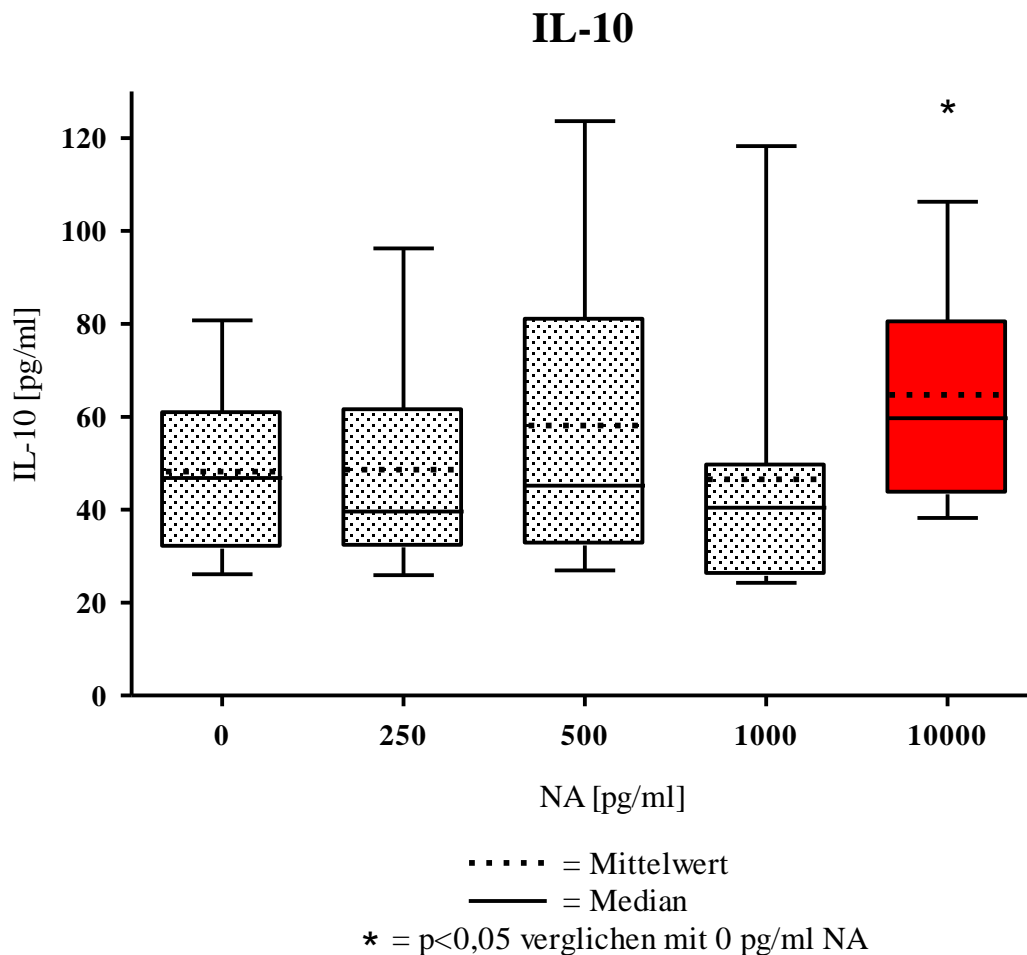


Abbildung 8: Einfluss von NA auf die IL-10-Sekretion im Überstand LPS-stimulierter Vollblutkulturen [LPS 0,1 μ g/ml; n=9]

3.1.2. IL-12-Sekretion

Mit der Messung der Sekretion von IL-12 und TNF- α nach LPS-Stimulation wurden die Effekte von NA auf zwei proinflammatorische Zytokine untersucht.

Bei zunehmender NA-Konzentration konnte eine statistisch signifikante Abnahme der IL-12-Sekretion bei 1.000 pg/ml und 10.000 pg/ml im Vergleich zu den niedrigeren Katecholaminkonzentrationen beobachtet werden. In der Kontrollprobe ohne Mitogenzusatz konnte keine messbare Zytokinkonzentration nachgewiesen werden.

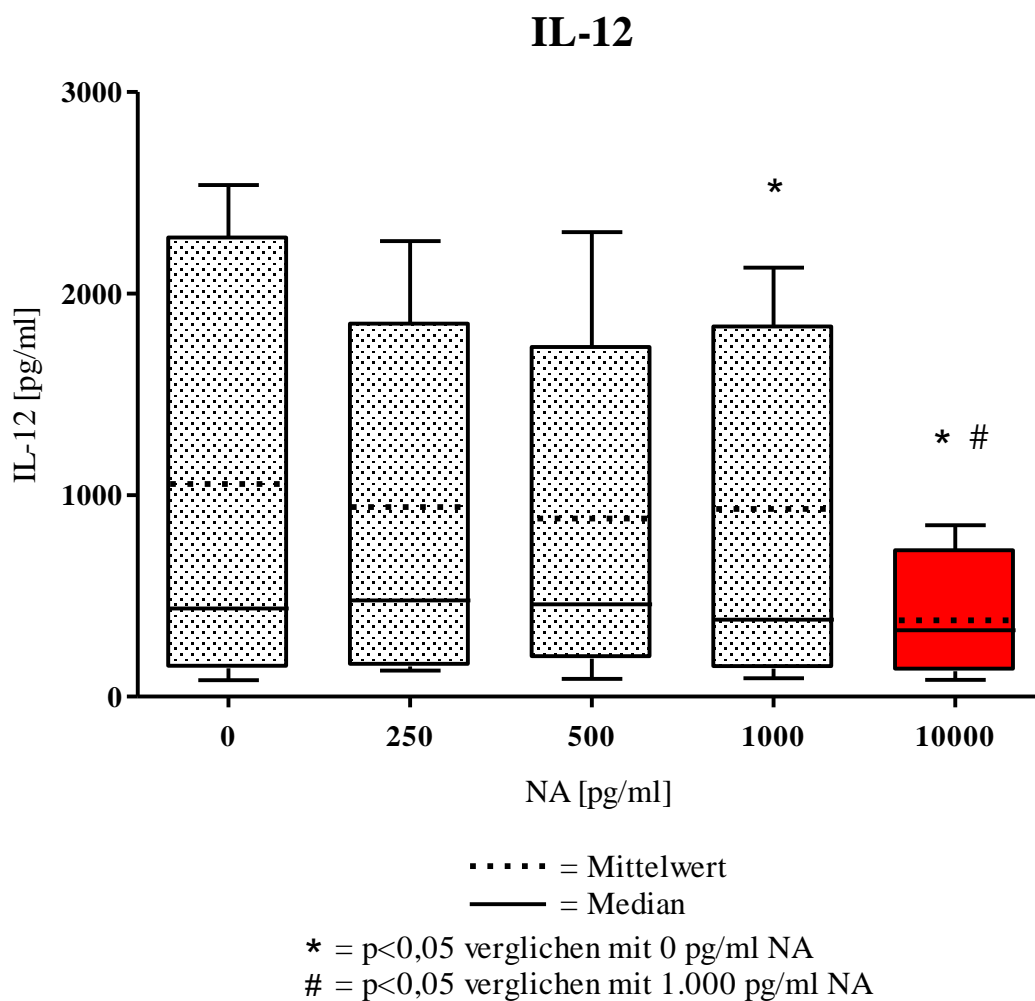


Abbildung 9: Einfluss von NA auf die IL-12-Sekretion im Überstand LPS-stimulierter Vollblutkulturen [LPS 0,1 μ g/ml; n=9]

3.1.3. TNF- α -Sekretion

Auch TNF- α wurde bei zunehmenden NA-Konzentrationen vermindert sezerniert. Zunächst zeigten sich nur geringe Veränderungen der TNF- α -Produktion. Mit steigenden NA-Konzentrationen konnte jedoch ein statistisch signifikanter Abfall der TNF- α -Synthese beobachtet werden.

In den Kontrollproben ohne Mitogenzusatz konnte keine messbare Zytokinkonzentration nachgewiesen werden.

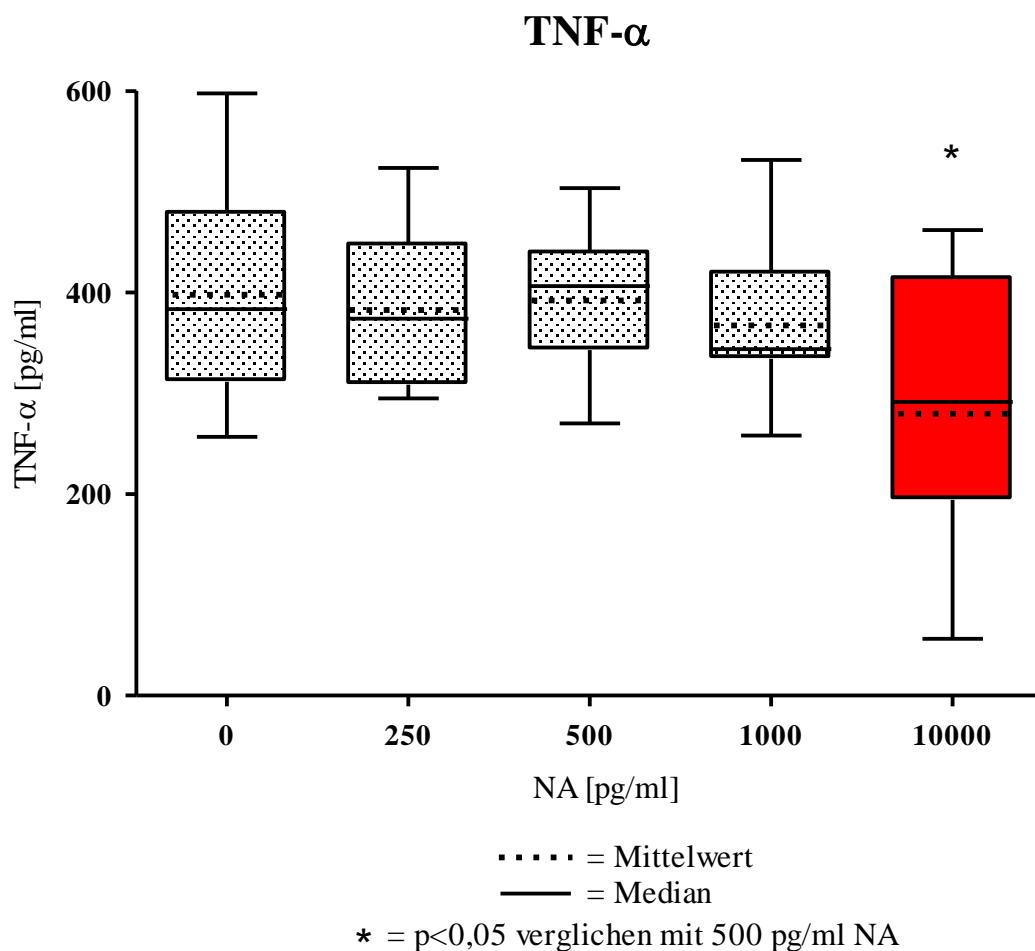


Abbildung 10: Einfluss von NA auf die TNF- α -Sekretion im Überstand LPS-stimulierter Vollblutkulturen [LPS 0,1 μ g/ml; n=9]

3.1.4. IFN- γ -Sekretion

Bei der Messung der IFN- γ -Produktion konnten durch die zugefügten NA-Konzentrationen keine statistisch signifikanten Veränderungen der Zytokinsekretion induziert werden. Tendenziell zeigte sich eine Erhöhung der IFN- γ -Synthese bei höheren NA-Konzentrationen. Weiterhin ist eine zunehmende Streuung der Messwerte mit steigender NA-Konzentration zu sehen. In den Kontrollproben ohne Mitogenzusatz konnte keine messbare Zytokinkonzentration nachgewiesen werden.

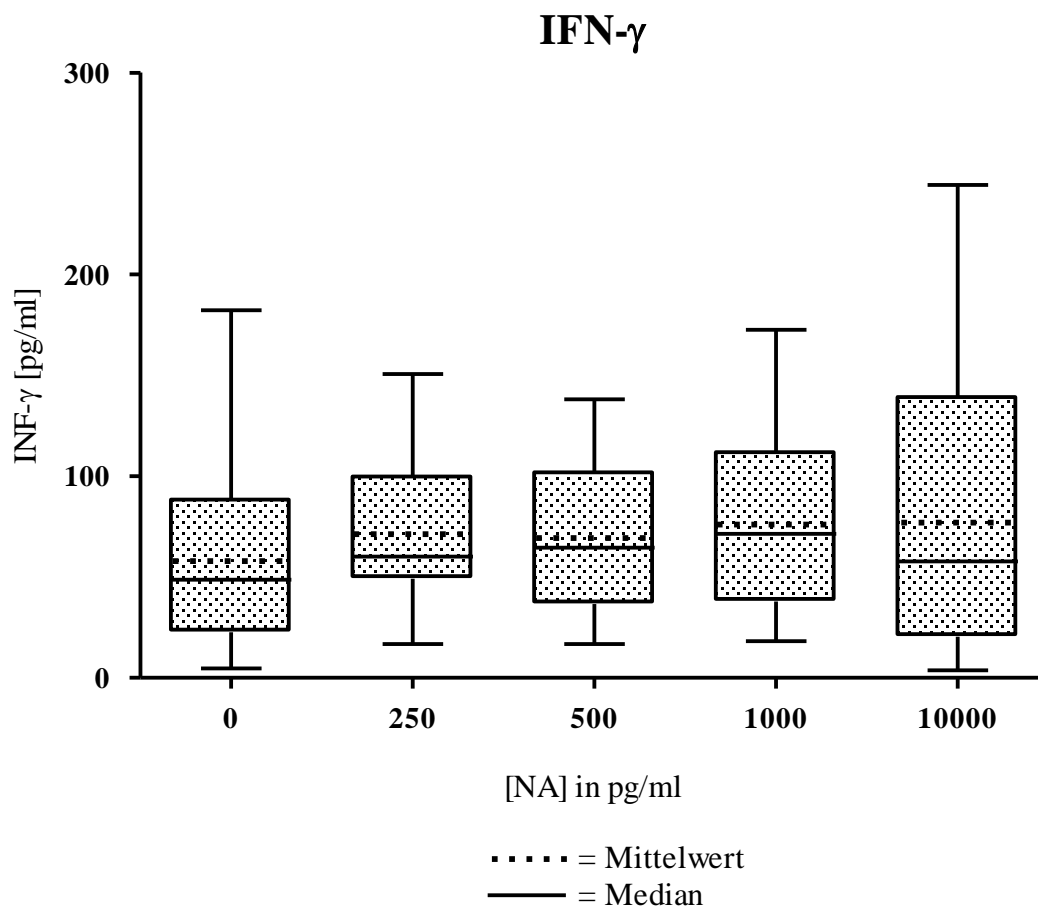


Abbildung 11: Einfluss von NA auf die IFN- γ -Sekretion im Überstand PHA-stimulierter Vollblutkulturen [PHA 5 μ g/ml; n=9]

3.1.5. IL-6-Sekretion

Bei der Messung der IL-6-Sekretion konnten fünf Stimulationsversuche ausgewertet werden. Es wurde eine tendenziell abnehmende IL-6-Synthese mit zunehmender NA-Konzentration beobachtet. Mit dem Rangsummentest nach Wilcoxon wurden statistisch signifikante Unterschiede zwischen 0 und 1.000 pg/ml NA sowie zwischen 0 und 10.000 pg/ml NA erfasst. In der Kontrollprobe ohne Mitogenzusatz konnte keine messbare Zytokinsekretion gemessen werden.

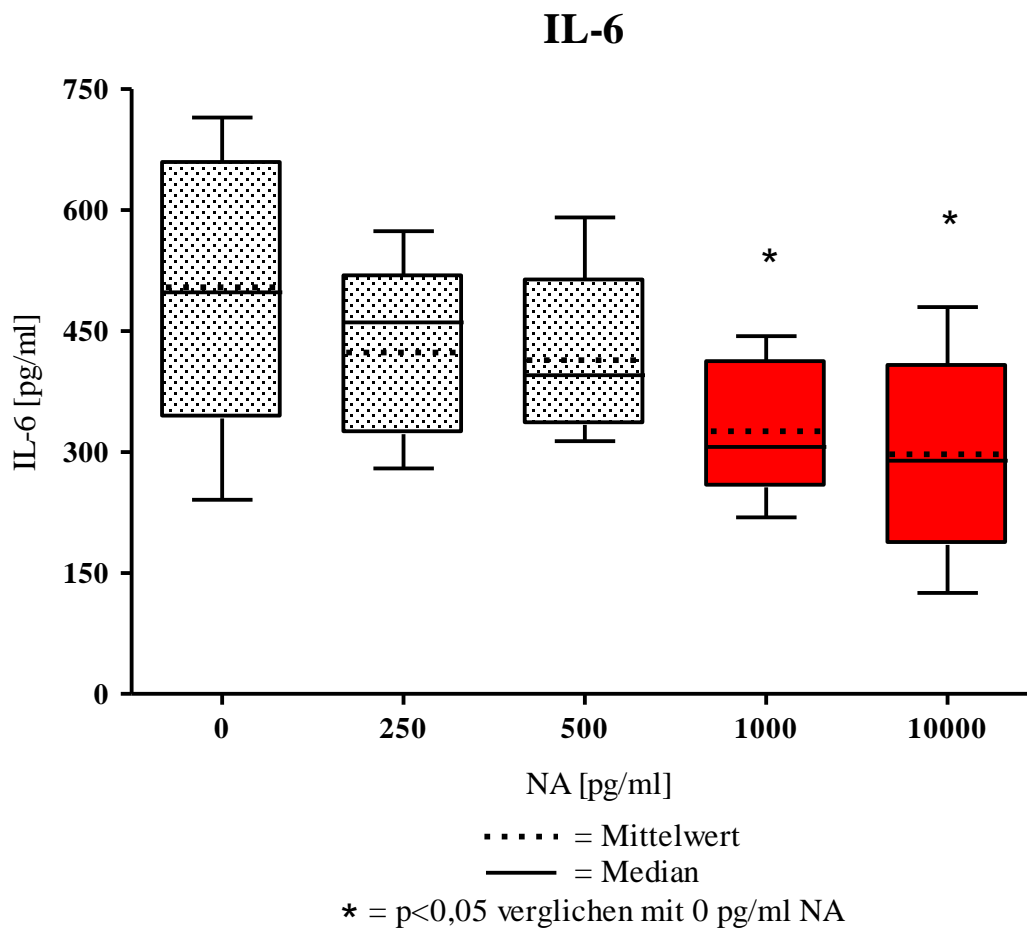


Abbildung 12: Einfluss von NA auf die IL-6-Sekretion im Überstand LPS-stimulierter Vollblutkulturen [LPS 0,1 μ g/ml; n=5]

3.2. Patientenstudie

3.2.1. Perioperative Änderungen von Hb, Hk und Leukozytenzahl bei Patienten mit endoprothetischem Gelenkersatz

Im Blutbild wurden prä- und postoperativ Hb, Hk und Leukozytenzahl bestimmt. Es zeigte sich postoperativ eine statistisch signifikante Abnahme der Hb-Konzentration. Bei der Gegenüberstellung von CSE und ITN konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede beobachtet werden. Mittelwerte und Standardabweichungen sind tabellarisch aufgeführt. Bei den Patienten mit ITN konnten zwei Proben nicht ausgewertet werden (Proben geronnen).

Tabelle 1: Hb prä- und postoperativ bei Patienten mit endoprothetischem Gelenkersatz

	Hb [g/dl]	
	präoperativ	postoperativ
	M ± SD	M ± SD
CSE (n=15)	13,1 ± 0,9	11,4 ± 1,3 *
ITN (n=13)	13,4 ± 1,4	10,9 ± 1,6 *

M = Mittelwert

SD = Standardabweichung

* = $p < 0,05$

Der postoperative Hk-Abfall zeigte sich ebenfalls statistisch signifikant.

Tabelle 2: Hk prä- und postoperativ bei Patienten mit endoprothetischem Gelenkersatz

	Hk [%]	
	präoperativ	postoperativ
	M ± SD	M ± SD
CSE (n=15)	40,0 ± 2,9	34,8 ± 3,8 *
ITN (n=13)	40,6 ± 4,1	33,3 ± 5,0 *

M = Mittelwert

SD = Standardabweichung

* = p<0,05

Bei der Bestimmung der Leukozytenzahl wurde postoperativ ein statistisch signifikanter Anstieg beobachtet. Mittelwerte und Standardabweichungen unserer Messungen sind tabellarisch aufgeführt. Bei den CSE-Proben stieg die Leukozytenzahl im Durchschnitt von 6,8 auf 11,0·10⁶/μl Leukozyten, d.h. ein Anstieg um 64 %. Bei den ITN-Proben zeigte sich eine durchschnittliche Erhöhung von 6,1 auf 9,6·10⁶/μl Leukozyten, ein Anstieg um 67 %.

Tabelle 3: Leukozytenzahl prä- und postoperativ bei Patienten mit endoprothetischem Gelenkersatz

	Leukozyten [$\cdot 10^6/\mu\text{l}$]	
	präoperativ	P 3ostoperativ
	M ± SD	M ± SD
CSE (n=15)	6,8 ± 1,7	11,0 ± 3,1 *
ITN (n=13)	6,1 ± 2,4	9,6 ± 3,5 *

M = Mittelwert

SD = Standardabweichung

* = p<0,05

3. Ergebnisse

Bei getrennter Betrachtung von Narkose und neuroaxialem Block konnten mit den angewandten statistischen Testverfahren keine signifikanten Differenzen hinsichtlich Hb, Hk oder Leukozytenzahl festgestellt werden.

3.2.2. Einzelheiten der Anästhesieverfahren

Im Folgenden sind tabellarisch Infusionsmenge, Operationsdauer und weitere eingesetzte Medikamente aufgeführt.

Infusionsmenge und OP-Zeiten waren bei beiden Anästhesieverfahren vergleichbar. Statistisch signifikante Unterschiede wurden nicht beobachtet. Der Einsatz von Sympathomimetika (Akrinor[®] und Alupent[®]) und Parasympatholytika (Atropin) war bei einigen Patienten notwendig und innerhalb der Patientengruppen vergleichbar. Die OP-Dauer stellt die Schnitt-Naht-Zeit dar. Die Anästhesiedauer ist die Zeit vom Beginn der Anästhesiemaßnahmen bis zum Verlassen des Operationssaales.

Tabelle 4: Infusionsmenge, Zeiten und perioperativ eingesetzte Medikamente bei Patienten mit endoprothetischem Gelenkersatz

	CSE (n=13)	ITN (n=13)
	M ± SD	M ± SD
Infusionsmenge [l]		
Kristalloide	3,5 ± 1,0	3,4 ± 1,1
Kolloide	0,4 ± 0,5	0,5 ± 0,3
Dauer [min]		
OP-Dauer	122,3 ± 37,9	120,4 ± 30,2
Anästhesie-Dauer	181,8 ± 47,2	190,8 ± 40,4
Medikamente [Patientenzahl]		
Akrinor [®]	2	4
Alupent [®]	1	0
Atropin	3	4

M = Mittelwert

SD = Standardabweichung

Akrinor[®] = Theodrenalin + Cafedrin

Alupent[®] = Orciprenalin

Kristalloide = Ringer Infusionslösung

Kolloide = Gelatine Infusionslösung (Gelafundine 4 %),

Firma B. Braun Melsungen AG

3.2.3. Perioperative Änderungen der IL-10-Synthese im Vollbluttest

Bei der Messung der IL-10-Konzentration im Vollbluttest konnte direkt postoperativ eine signifikant verminderte IL-10-Sekretion festgestellt werden. Die differenzierte Betrachtung der Anästhesieverfahren zeigte einen statistisch signifikanten Abfall in beiden Gruppen. Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Anästhesieverfahren vor.

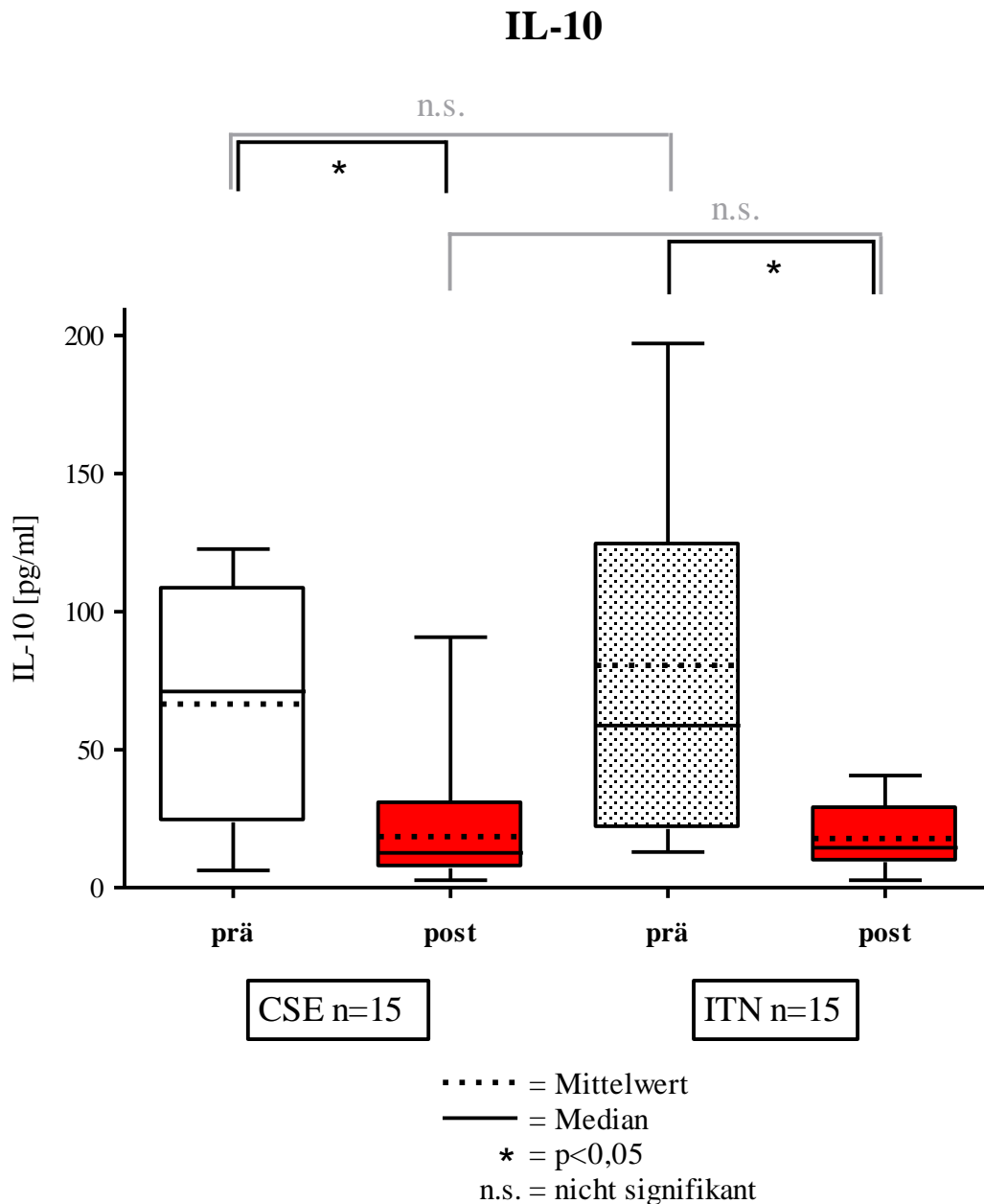


Abbildung 13: Prä- und postoperative IL-10-Sekretion in LPS-stimulierten Vollblutansätzen bei Patienten mit CSE und ITN

3.2.4. Perioperative Änderungen der IL-12-Synthese im Vollbluttest

Bei der Bestimmung der IL-12-Synthese wurde bei Patienten mit Regionalanästhesie eine postoperativ signifikante Zunahme der Zytokinsekretion gemessen, während sich die IL-12-Konzentrationen bei Patienten mit Narkose nicht signifikant veränderten. Zwischen den beiden Anästhesieverfahren konnte jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

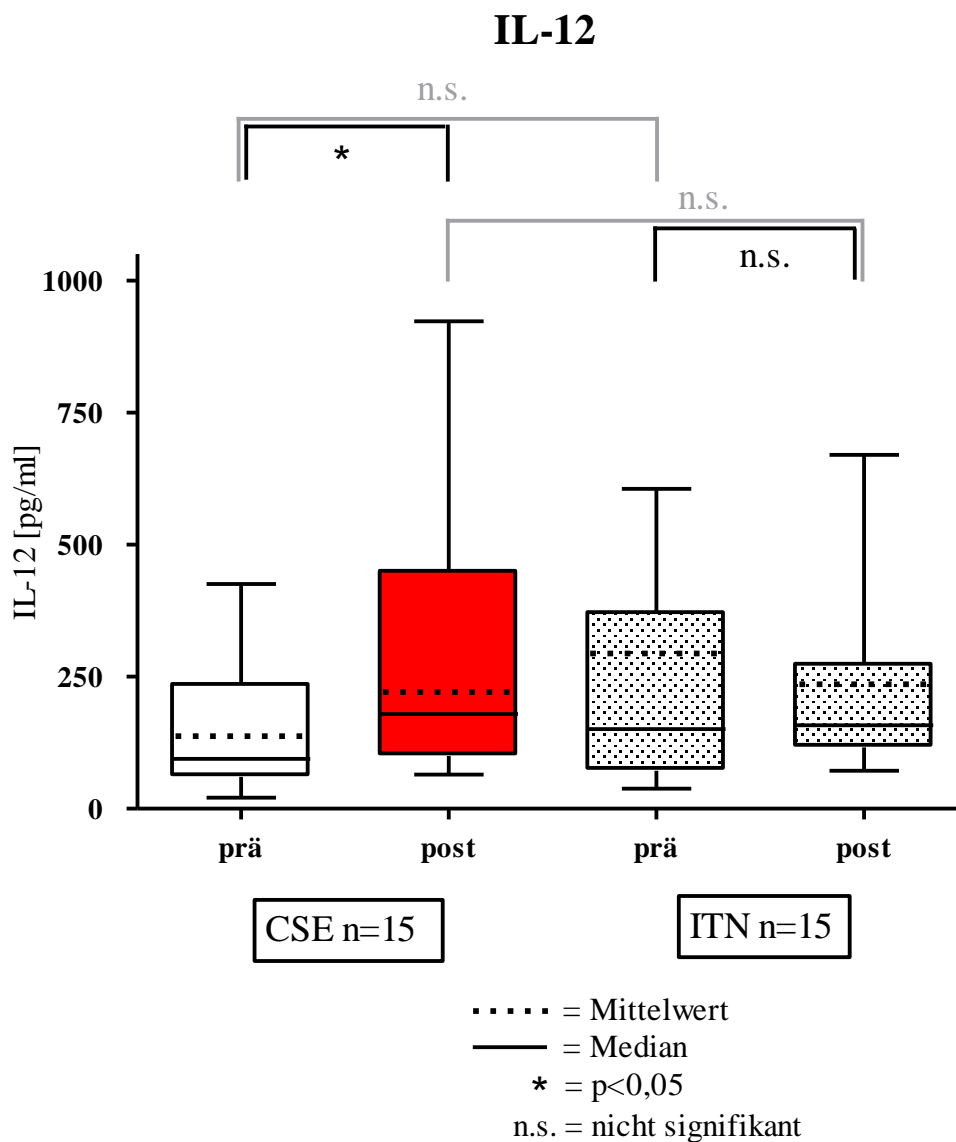


Abbildung 14: Prä- und postoperative IL-12-Sekretion in LPS-stimulierten Vollblutansätzen bei Patienten mit CSE und ITN

3.2.5. Perioperative Änderungen der TNF- α -Synthese im Vollbluttest

Bei der Messung der TNF- α -Sekretion konnte eine Abnahme der Zytokinausschüttung direkt postoperativ beobachtet werden, die sowohl beim neuroaxialen Block als auch bei Narkose statistisch signifikant war. Somit ergibt sich hier kein Anhalt für eine Reaktion im Sinne eines Postaggressionssyndroms direkt postoperativ. Es waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Anästhesieverfahren erkennbar.

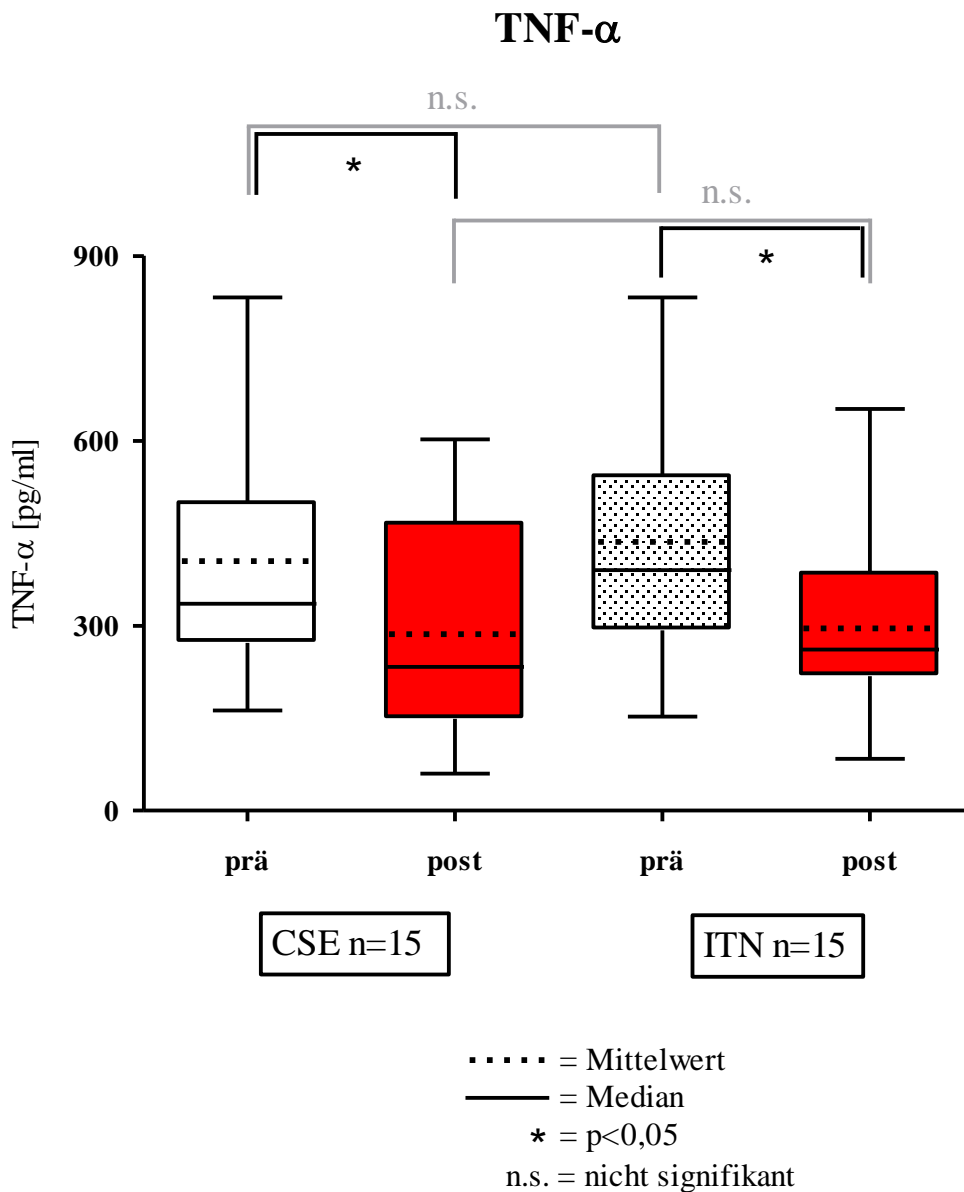


Abbildung 15: Prä- und postoperative TNF- α -Sekretion in LPS-stimulierten Vollblutansätzen bei Patienten mit CSE und ITN

3.2.6. Perioperative Änderungen der IL-6-Sekretion

Es wurden IL-6-Konzentrationen sowohl im Vollbluttest nach LPS-Stimulation als auch im Serum gemessen. Bei der Auswertung im Vollblutstimulationstest zeigte sich bei beiden Narkoseverfahren tendenziell eine leichte postoperative Reduktion der IL-6-Synthese, die jedoch nicht statistisch signifikant war.

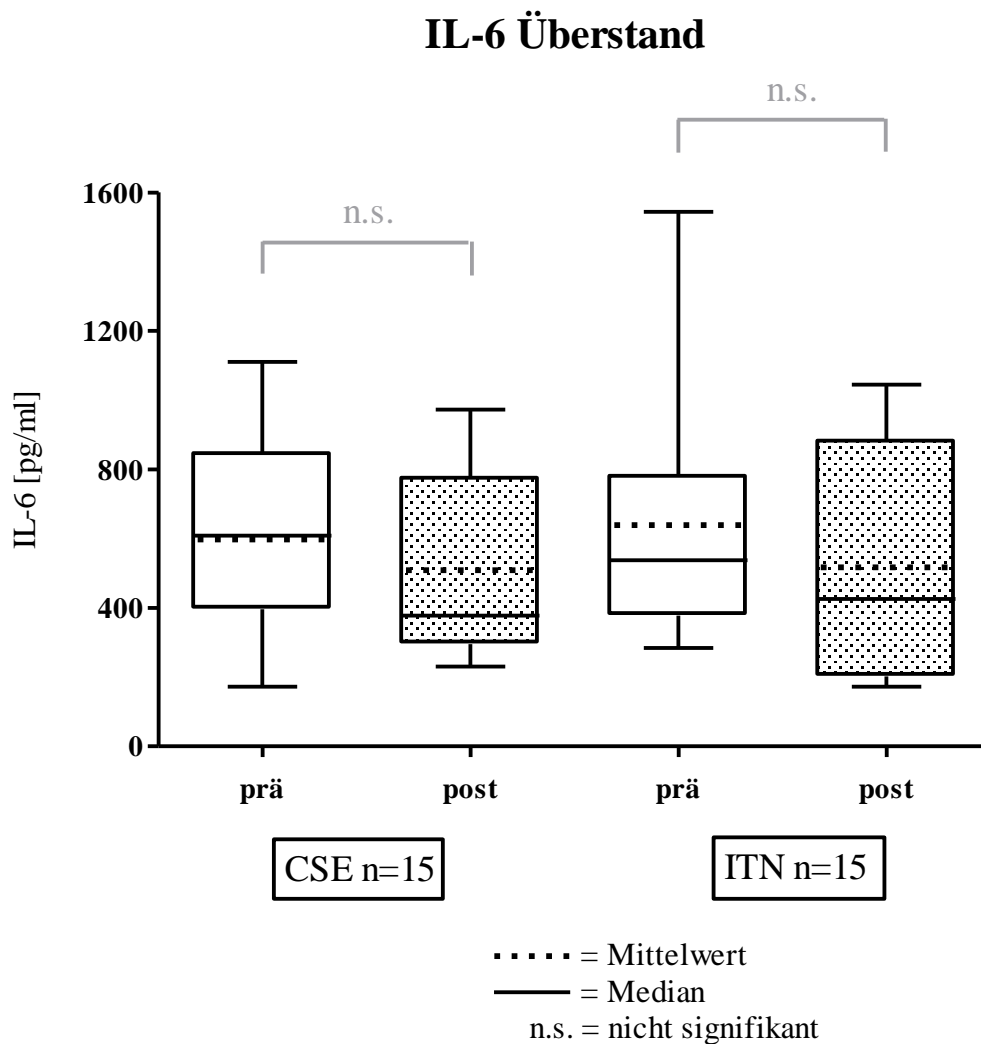


Abbildung 16: Prä- und postoperative IL-6-Sekretion in LPS-stimulierten Vollblutansätzen bei Patienten mit CSE und ITN

Bei der Messung der IL-6-Konzentration im Serum wurde ein umgekehrtes Bild beobachtet. Postoperativ zeigte sich eine statistisch signifikante Zunahme der IL-6-Sekretion in beiden Anästhesieverfahren.

Da die Nachweisgrenze des IL-6-ELISA bei 2 pg/ml lag, wurden Messwerte von IL-6 < 2 pg/ml als 0 pg/ml gewertet. Aufgrund der niedrigen präoperativen IL-6-Konzentrationen im Serum und der relativ großen Streuung der postoperativen Messwerte wurde die Darstellung mit Balkendiagrammen gewählt. Die Messergebnisse der Serumproben waren nicht normalverteilt. Die postoperative Erhöhung der IL-6-Konzentration war sowohl bei CSE als auch bei ITN nach dem Wilcoxon-Test statistisch signifikant.

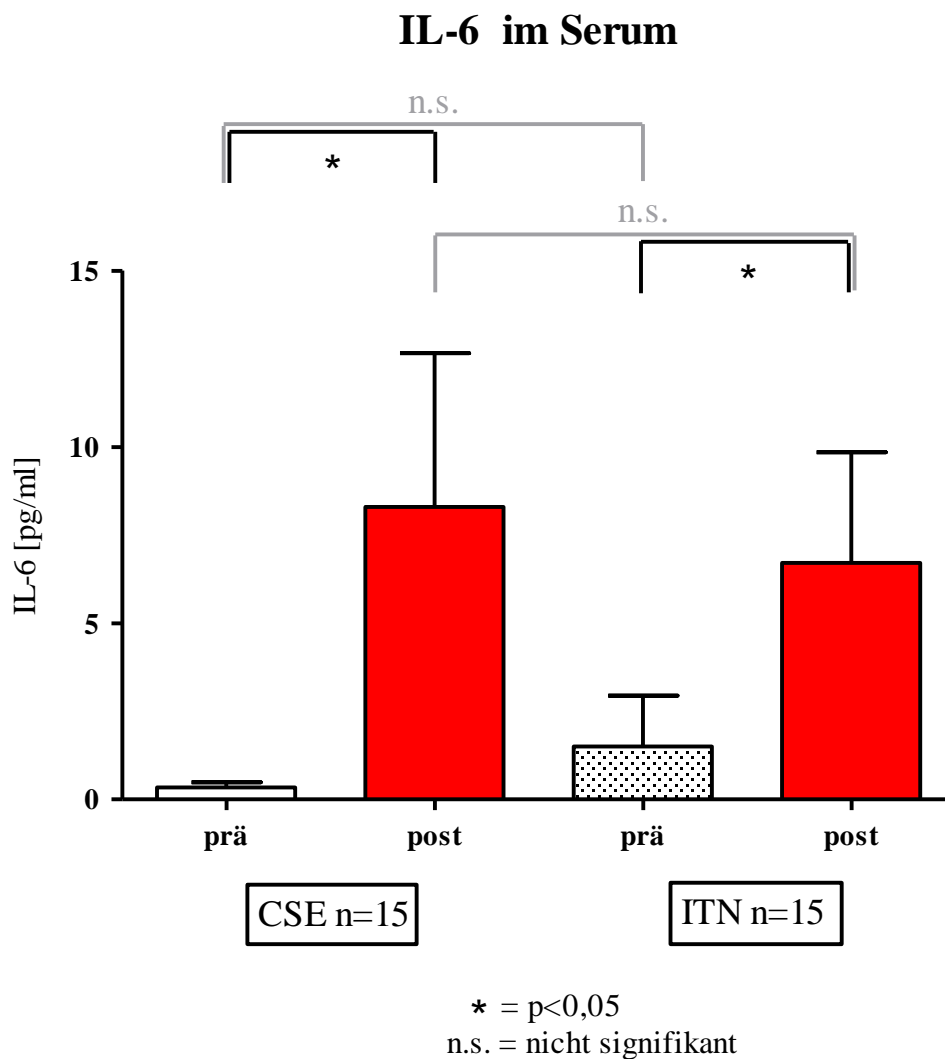


Abbildung 17: Prä- und postoperative IL-6-Konzentration in den Serumproben bei Patienten mit CSE und ITN

3.2.7. Perioperative Änderungen der PRL-Sekretion

Im Serum der Patienten wurde postoperativ eine deutlich erhöhte PRL-Konzentration beobachtet, die bei beiden Anästhesieverfahren statistisch signifikant war. Der postoperative Anstieg der PRL-Konzentration zeigte sich bei Patienten mit Narkose jedoch wesentlich ausgeprägter als bei Patienten nach neuroaxialem Block.

Während postoperativ durch ITN eine Erhöhung der PRL-Konzentration um mehr als 300 % hervorgerufen wurde, zeigte sich nach regionalanästhetischem Verfahren eine Zunahme um etwa 60 %. Diese postoperativen Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Anästhesieverfahren waren statistisch signifikant.

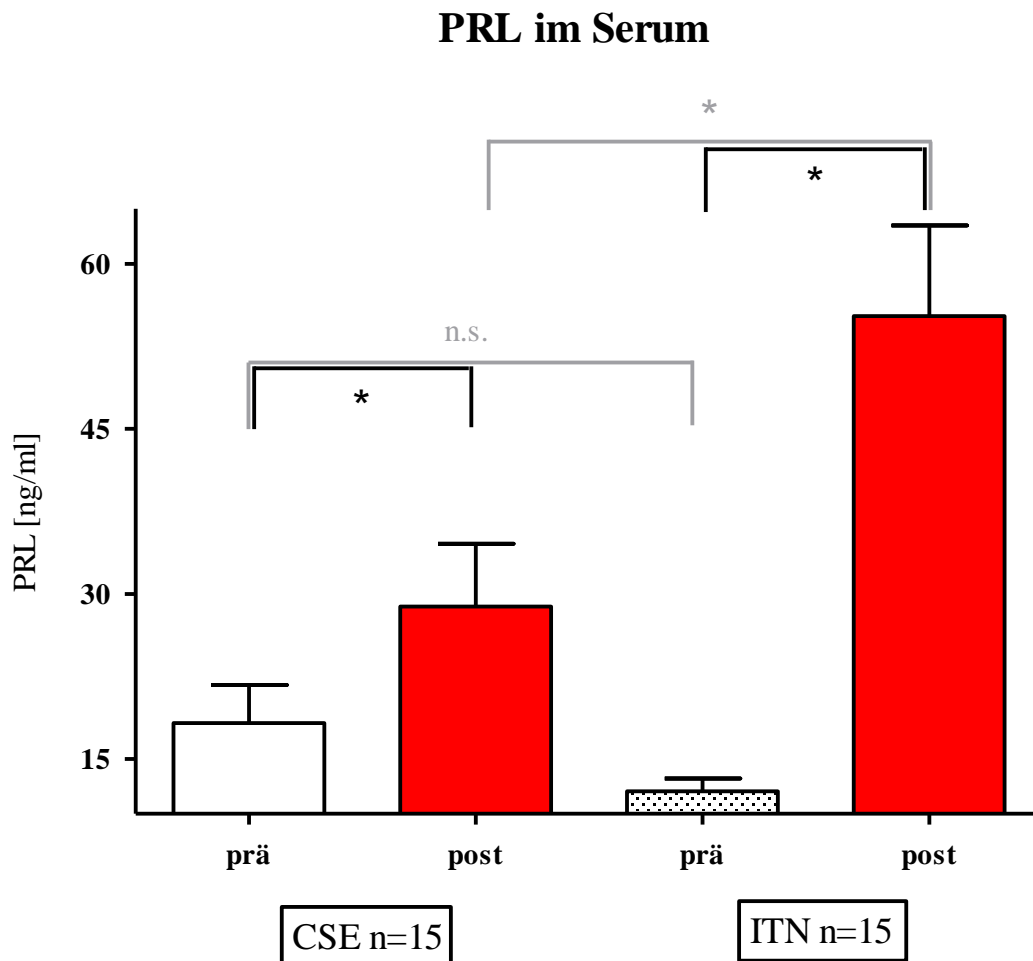


Abbildung 18: Prä- und postoperative PRL-Sekretion in den Serumproben

3.2.8. Perioperative Änderungen der Kortisol-Sekretion

Bei der Bestimmung der prä- und postoperativen Kortisol-Konzentration in den Serumproben konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede beobachtet werden. Bei Patienten mit Narkose zeigte sich die Spannweite der Messergebnisse postoperativ deutlich größer als bei Patienten mit neuroaxialem Block. Der minimale postoperative Konzentrationsabfall bei Patienten mit CSE war statistisch nicht signifikant. Im Vergleich der Anästhesieverfahren konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

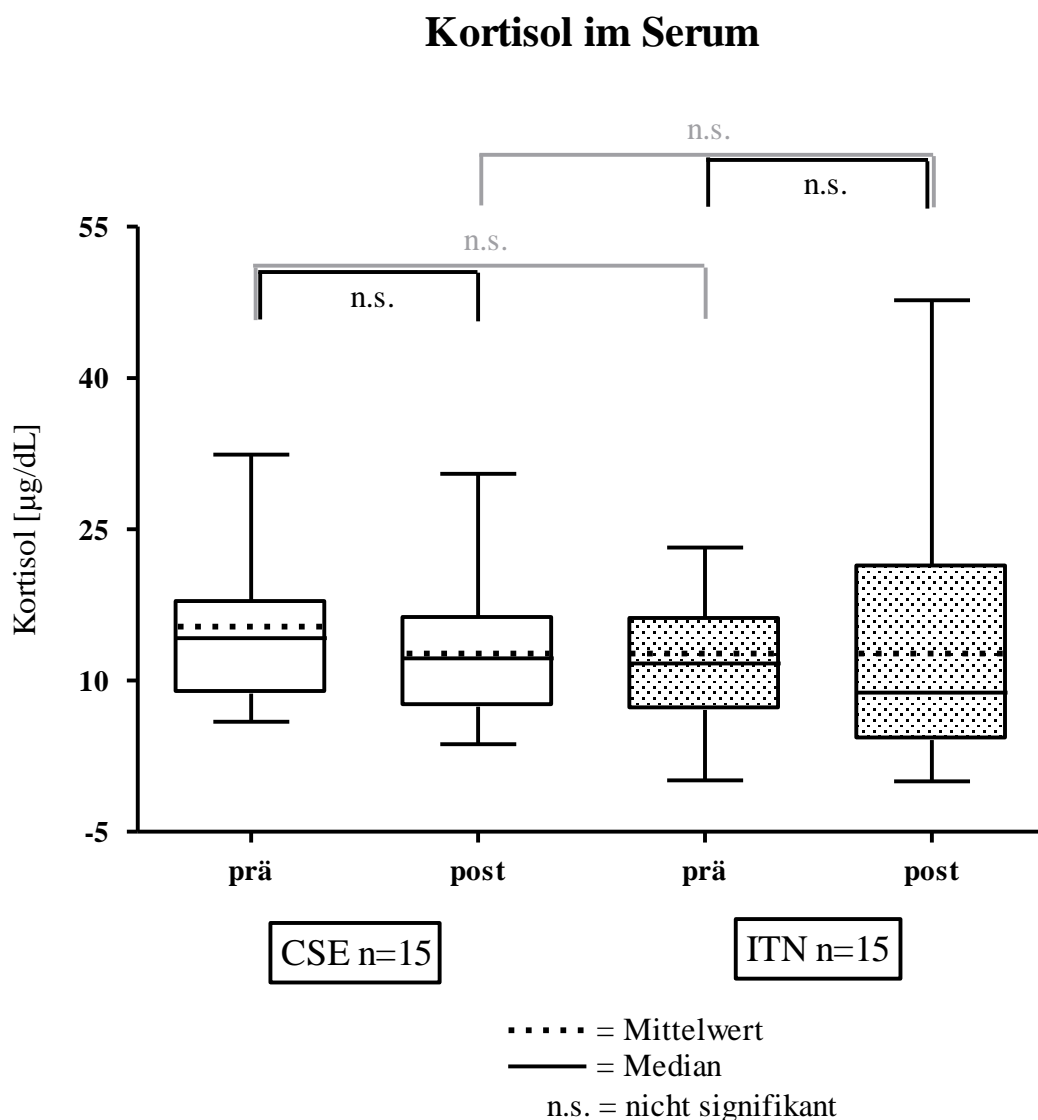


Abbildung 19: Prä- und postoperative Kortisol-Sekretion in den Serumproben

4. Diskussion

4.1. Kommunikation zwischen Nervensystem und Immunsystem

4.1.1. Einfluss von NA auf immunologische Reaktionen

Um die Auswirkungen von Stressoren wie Schmerzen und Stress auf Reaktionen des Immunsystems zu untersuchen, wurde ein in-vitro Stimulationstest mit NA durchgeführt, wodurch der Einfluss des sympathischen Neurotransmitters auf das Transmittersystem des Immunsystems nachgewiesen werden konnte. Durch die Sekretion von NA ist das sympathische Nervensystem in der Lage, in die Feinabstimmung von Immunreaktionen regulierend einzugreifen und so zur Aufrechterhaltung der Homöostase im gesamten Organismus beizutragen.

Um die Wirkung von NA auf die Zytokinproduktion zu untersuchen, wurden verschiedene NA-Konzentrationen im Vollbluttest den Blutproben zugesetzt. Unsere Messungen der Zytokinsynthese zeigen eine Beeinflussung durch den Katecholaminzusatz: Die vermehrte IL-10-Synthese bei steigenden NA-Konzentrationen bewirkte offensichtlich eine Verstärkung der antiinflammatorischen Effekte. Eine Hemmung der proinflammatorischen Wirkungen durch NA wurde durch die abnehmende Sekretion von TNF- α , IL-12 und IL-6 erkennbar.

Unterstützt werden unsere Ergebnisse durch eine aktuelle Studie, in der gezeigt werden konnte, dass unter dem Einfluss von Katecholaminen und Glukokortikoiden die Sekretion von IL-12, TNF- α und IFN- γ gehemmt und diejenige von IL-10 und IL-4 gesteigert wurde [14]. Die verminderte IL-12-Konzentration in Kombination mit einer erhöhten IL-4-Konzentration deutet auf die Induktion eines Th2-Wechsels hin. Somit könnten Stresshormone zum Schutz des Organismus vor einem Überwiegen der Th1-Zellen und der übermäßigen Sekretion proinflammatorischer Zytokine beitragen [14]. Durch NA scheint eine antiinflammatorische Reaktionslage induziert zu werden, wodurch überschießende Immunreaktionen bei erhöhter Katecholaminausschüttung möglicherweise verhindert werden.

Die Veränderungen der Zytokinsekretion unter dem NA-Einfluss können Ausdruck regulativer Mechanismen auf äußere Einflüsse (z. B. Stress) oder Traumata sein. Man könnte hier ein Programm zur Steuerung reparativer Vorgänge im Hintergrund vermuten.

Connor et al. (2005) beobachteten, dass durch psychophysiologischen Stress eine Immunsuppression hervorgerufen wird: In Ratten wurde durch Stress ein LPS-induzierter Anstieg der IL-10-Sekretion in-vivo gemessen, der mit einer Hemmung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β und TNF- α verbunden war. Der IL-10-Anstieg wurde durch den β -AR-Antagonisten Nadolol blockiert, wodurch eine Beteiligung des sympathischen Nervensystems über die Aktivierung von β -Rezeptoren bei der immunsuppressiven Wirkung aufgezeigt werden konnte [16].

Pongratz et al. (2005) berücksichtigten den zirkadianen Rhythmus der Zytokin-Sekretion und beobachteten, dass nachts durch die NA-Sekretion in Mäusen die splenische IL-6-Sekretion gehemmt wurde, während sie in den Morgenstunden stimuliert wurde [77]. Dies könnte eine erhöhte IL-6-Konzentration im Serum zum Zeitpunkt eines Traumas oder eines operativen Eingriffes in den Morgenstunden erklären.

Northoff et al. (1998) stellten die Hypothese auf, dass kurze Zeit nach exzessiver körperlicher Belastung die IFN- γ -Produktion fast vollständig unterdrückt wird und so eine transiente Immunsuppression hervorgerufen wird [70]. Obwohl wir im Rahmen der ansteigenden NA-Konzentrationen abfallende IFN- γ -Konzentrationen erwartet hatten, wurde in unserem Vorversuch durch den Katecholaminzusatz eine leicht erhöhte IFN- γ -Sekretion beobachtet. Hier scheinen weitere Studien mit höheren Fallzahlen nötig zu sein, um die Ergebnisse unterstützen oder sie widerlegen zu können.

4.1.2. Effekte auf T-Zellen

NA moduliert die Aktivität der T- und B-Lymphozyten über die Bindung an β_2 -AR. β_2 -AR konnten nur auf naiven CD4-positiven T-Zellen und Th1-Zellen, jedoch nicht auf Th2-Zellen nachgewiesen werden [82]. Klassischerweise führt die Stimulation von β_2 -AR zu einer intrazellulären Signalkaskade mit Aktivierung von Adenylatzyklase, cAMP-Akkumulation und PKA-Aktivierung, wobei abhängig vom Stimulus unterschiedliche Isoformen der PKA aktiviert werden [54].

Naive CD4-positive T-Zellen, die in Anwesenheit von IL-12 aktiviert werden, differenzieren vorzugsweise zu Th1-Zellen [87], während unter dem Einfluss von IL-4 eine Differenzierung zu Th2-Zellen stattfindet [42]. Da durch die Zytokin-

Zusammensetzung in Geweben und Organen die Differenzierung naiver T-Zellen in Richtung Th1 oder Th2 begünstigt wird, ist anzunehmen, dass bestimmte intrazelluläre Signale durch die Stimulation von Zytokinrezeptoren ausgelöst werden, die die T-Zell-Differenzierung beeinflussen.

Durch zahlreiche Untersuchungen wurde deutlich, dass die Stimulation von β_2 -AR die Proliferation von CD4-positiven T-Zellen vermindert. Der genaue Mechanismus hierfür ist noch nicht geklärt und könnte auf einer erhöhten cAMP-Konzentration, einer gesteigerten PKA-Aktivierung oder möglicherweise auch auf Veränderungen des Zytoskeletts beruhen. Die Aktivierung von CD4-positiven T-Zellen führt zu einer initialen „Up-Regulation“ von β_2 -AR und anschließend durch einen Proteinkinase C-abhängigen Mechanismus, zu einer „Down-Regulation“. Obwohl der genaue Mechanismus dieses biphasischen Effektes noch unbekannt ist, kann dadurch eine Beeinträchtigung von T-Zell-Funktion und ablaufender Immunantwort resultieren [54].

Der Zusatz des β_2 -Mimetikums Salbutamol und die damit verbundene Stimulation der β_2 -AR führte in-vitro zu einer verminderten IFN- γ -Sekretion durch PHA-aktivierte T-Zellen [73]. Auch der β_2 -AR-selektive Agonist Terbutalin hemmte konzentrationsabhängig die IFN- γ -Produktion in ruhenden Th1-Zellen [82]. Dies deutet darauf hin, dass durch NA die Zytokinproduktion in Th1-Zellen vermindert wird. Da Th2-Zellen keine β_2 -AR exprimieren, kann NA die Zytokinproduktion von Th2-Zellen nur indirekt über andere Zellpopulationen beeinflussen [54].

In diversen Studien konnte durch Katecholamine eine Änderung der Zytokinsekretion und der Zytokin-Zusammensetzung im Blut hervorgerufen werden. Korrelierend mit unseren Ergebnissen zeigten Elenkov et al. (1996), dass die β_2 -AR-Stimulation mittels NA-Zugabe zu LPS-aktivierten Monozyten zu einer verminderten IL-12- und einer gesteigerten IL-10-Sekretion führte [24].

Diese Ergebnisse zeigen, dass unter Katecholamineinfluss die sogenannten humoralen Immunreaktionen (Th2-Zellen) begünstigt werden und die zelluläre Immunität (Th1-Zellen) herabgesetzt wird. Dadurch könnte die unter Stressbedingungen erhöhte Anfälligkeit des Organismus für bestimmte autoimmune, allergische, infektiöse oder auch neoplastische Erkrankungen erklärt werden.

4.1.3. Effekte auf B-Zellen

Die B-Zell-Proliferation ist ein wichtiger Bestandteil einer ablaufenden Immunantwort. Es konnte gezeigt werden, dass durch NA und den β -AR-Agonisten Isoproterenol die LPS-induzierte B-Zell-Proliferation in-vitro gesteigert wird, während der β -AR-Antagonist Propranolol diese Wirkung hemmt und der α -AR-Antagonist Phenolamin keinen Einfluss besitzt [57].

CD86 ist ein Oberflächenmolekül auf B-Zellen und APZs, welches die Stimulation von Oberflächenmolekülen auf T-Zellen vermittelt und somit in die Zytokin-Produktion der T-Zellen regulierend eingreift. Durch die Stimulation von CD86 wird die Antikörper-Produktion der B-Zellen gesteuert. Die Stimulation von β_2 -AR und/oder B-Zell-Rezeptor erhöht die Expression von CD86 und seiner mRNA in B-Zellen, wobei die gleichzeitige Stimulation beider Rezeptoren eine additive Steigerung bewirkt. Hierdurch konnte eine Schnittstelle der Funktionsregulation zwischen Immun- und Nervensystem aufgezeigt werden [47, 54].

Die Wirkungen der β_2 -AR-Stimulation sind abhängig vom Zeitpunkt der Stimulation: So resultierte aus der β_2 -AR-Stimulation während der ersten Schritte der B-Zell-Aktivierung eine gesteigerte Antikörper-Produktion, wohingegen Differenzierung und Funktion von B-Zellen durch β_2 -AR-Stimulation zu einem späteren Zeitpunkt der Zellaktivierung gehemmt wurden. Die β_2 -AR-Stimulation von aktivierten B-Zellen bewirkte sowohl eine erhöhte Anzahl an Antikörper-sezernierenden Zellen als auch eine erhöhte Gesamtsumme an produzierten Antikörpern [81].

Wechselwirkungen zwischen T- und B-Zellen bewirken eine cAMP-Anhäufung in B-Zellen. Durch erhöhte intrazelluläre cAMP-Konzentrationen werden Zytokinwirkungen bezüglich Höhe und Isotyp der Antikörper-Produktion in B-Zellen beeinflusst. So scheint die β_2 -AR-Stimulation intrazelluläre Signale zu erzeugen, die die IL-4-abhängige Produktion von IgG₁ und IgE pro B-Zelle steigert [54].

Für die Aufrechterhaltung einer bestmöglichen Th2-Zell-abhängigen Immunantwort mit optimaler Antikörper-Sekretion ist die β_2 -AR-Stimulation von B-Zellen durch endogenes NA in-vivo notwendig [53].

In-vivo konnte eine gesteigerte NA-Sekretion in der Milz über IL-2-Oberflächenrezeptoren auf sympathischen Nervenzellen hervorgerufen werden [35]. Über diese Aktivierung der sympathischen Nerventätigkeit in lymphatischen Organen kann IL-2 also eine Steigerung der frühen Antikörper-Antwort in-vivo auslösen.

Die Effekte von NA auf die B-Zell-Funktion sind altersabhängig. Durch die NA-Sekretion konnte bei neugeborenen Tieren die Zahl der Antikörper-produzierenden Zellen gesteigert werden, während sie bei Erwachsenen reduziert wurde [54].

4.1.4. Zusammenfassende Interpretation des NA-Vorversuchs

Wechselwirkungen zwischen Immunsystem und Nervensystem sind für die optimale Entwicklung und Funktion beider Systeme offensichtlich von enormer Bedeutung. Durch unseren Vorversuch konnte eine direkte Wirkung des sympathischen Neurotransmitters NA auf Immunzellen und immunologische Reaktionen in-vitro nachgewiesen werden. Die durch NA induzierte Stimulation führte zu Veränderungen der Zytokinproduktion sowohl bei den proinflammatorischen Zytokinen TNF- α , IL-12 und IL-6 als auch bei dem antiinflammatorischen Botenstoff IL-10. Durch den Katecholaminzusatz resultierte eine verstärkte antiinflammatorische Wirkung, während die proinflammatorische Komponente eher zurückgedrängt wurde. Die genaue Bedeutung dieser Ergebnisse ist nicht eindeutig. Sie könnte aber regulative Mechanismen erklären, die durch bestimmte Ereignisse wie ein Trauma oder durch Stress getriggert werden.

Das Modell des „Vollblut-Stimulationstests“ eignet sich zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen, da diese Methode die Aufrechterhaltung physiologischer Interaktionen der Zellen untereinander ermöglicht und durch die Mitogenstimulation komplexe Vorgänge in-vivo imitiert werden. Bei der Inkubation im Vollblut sind alle löslichen Mediatoren und Zellen vorhanden und die Verhältnisse in-vivo nachgeahmt. Zur Stimulation wurde das Monozyten-stimulierende Mitogen LPS verwendet, da es bei Entzündungen, Infektionen und postinfektiösen Komplikationen eine weit verbreitete Erregersubstanz darstellt [34]. Weiterhin stimuliert LPS den NA-Umsatz in der Milz. Jede Aktivierung von Immunzellen, ob durch Infektion oder Endotoxine bedingt, bewirkt eine gesteigerte NA-Sekretion in lymphatischen Organen.

4.2. Immunmodulation durch anästhesiologische Verfahren

4.2.1. Einfluss operativer Eingriffe auf das immunologische Gleichgewicht

Beim gesunden Organismus befinden sich pro- und antiinflammatorische Reaktionen im Gleichgewicht. Durch die Zerstörung von Gewebe, wie sie bei jeder operativen Intervention erfolgt, wird dieses Gleichgewicht gestört. Um auf schädigende Einflüsse wie Verletzungen, Operationen oder auch eindringende Mikroorganismen adäquat reagieren zu können, ist die Ausgewogenheit zwischen pro- und antiinflammatorischen Effekten essentiell. Gerade im Rahmen eines chirurgischen Eingriffes ist ein intaktes Immunsystem für eine rasche Wundheilung und komplikationslose Genesung sowie eine adäquate Widerstandsfähigkeit gegen peri- und postoperative Infektionen von enormer Bedeutung.

Durch große operative Eingriffe wird der menschliche Organismus Stressbedingungen ausgesetzt, die zur Aktivierung des Immunsystems und somit auch zu einer gesteigerten Aktivierung von T-Lymphozyten führen. Eine erhöhte T-Zell-Aktivierung kann Anergie und Apoptose von T-Lymphozyten in der postoperativen Periode induzieren und somit die Entwicklung infektiöser Komplikationen begünstigen [89].

Bei der Bestimmung der Leukozytenzahl war postoperativ ein statistisch signifikanter Anstieg in unserer Studie zu beobachten. Diese Mobilisierung der Leukozyten lässt auf eine Aktivierung der Immunabwehr mit einer Rekrutierung der Immunzellen schließen. Sie ist sicherlich als eine direkte Reaktion auf das operative Trauma im Rahmen der Stressreaktivität zu deuten. Möglicherweise gibt es hier einen Zusammenhang mit dem perioperativen Blutverlust (postoperativer Hb- und Hk-Abfall). Die Faktoren Stress und Schmerzen werden mit immunsuppressiven Effekten assoziiert, die in Tierversuchen eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionen und Tumorwachstum zeigten [48].

Anästhetika beeinflussen immunologische Funktionen zum einen indirekt durch Modulation der neurohumoralen Antwort und zum anderen direkt durch ihre Wirkung auf immunkompetente Zellen [23]. Zudem verändern sich durch Narkose, Analgesie und operatives Trauma Anzahl und Phänotyp zirkulierender Immunzellen sowie deren Zytokinproduktion. Durch Narkose alleine wird eine Proinflammation induziert [11]. Die antiinflammatorischen Veränderungen, die durch perioperativ ausgeschüttete Katecholamine hervorgerufen werden, könnten sich hier gegenregulierend auswirken.

4.2.2. Beeinflussung immunologischer Reaktionen durch Katecholamine und Glukokortikoide

Perioperative Stressbedingungen können über erhöhte Konzentrationen von Katecholaminen und Kortisol zu einer Beeinträchtigung des Immunsystems führen [4]. Auf zytokinergener Ebene hemmen Glukokortikoide und Katecholamine die Produktion von menschlichem IL-12 und TNF- α , während die IL-10-Sekretion unbeeinflusst bleibt oder sogar stimuliert wird, wie wir auch in unserem in-vitro Vorversuch messen konnten. Dadurch wird eine selektive Unterdrückung der Th1-Aktivität verursacht und ein Wechsel zugunsten der Th2-Zellfunktionen und somit der humoralen Immunität induziert [25]. Dieser Mechanismus führt zum Schutz des Organismus vor einer systemischen Überladung mit proinflammatorischen Zytokinen [27]. Da Th1-Zellen maßgeblich am Ablauf einer Entzündungsreaktion beteiligt sind, kann ein Überwiegen der Th2-Aktivität eine erhöhte Anfälligkeit des Organismus gegenüber zahlreichen Infektionen bewirken, die unter normalen Umständen durch die Th1-Antwort verhindert werden würde [25].

Da die NA-Konzentration im Plasma nur wenig mit der Sympathikusaktivität korreliert und der Nachweis von NA zudem sehr aufwändig wäre, wurde in der Patientenstudie nicht NA gemessen, sondern die Bestimmung der Stresshormone PRL und Kortisol im Serum gewählt, um die Stresswirkung durch das operative Trauma beurteilen zu können.

4.2.3. Wirkungen von PRL

In zahlreichen Forschungsprojekten konnte gezeigt werden, dass durch Narkoseverfahren mit Opioidgabe die immunregulatorischen Hormone beeinflusst werden, indem die PRL-Konzentration stark ansteigt und die Kortisolkonzentration abfällt [9, 13, 19]. Dieser Abfall der Kortisolsekretion konnte in unseren Messungen unmittelbar postoperativ nicht nachgewiesen werden.

PRL verfügt neben seiner endokrinen Kontrollfunktion auf das Immunsystem auch über zytokinartige Eigenschaften, da es innerhalb des Immunsystems ausgeschüttet wird und die Lymphozytenfunktion über para- und autokrine Mechanismen reguliert. Die PRL-Ausschüttung wird einerseits durch den Hypothalamus und andererseits über Zytokine reguliert, wobei IL-1, IL-2 und IL-6 die PRL-Sekretion verstärken, während

sie durch IFN- γ gehemmt wird. Da sowohl Hyper- als auch Hypoprolaktinämien immunsuppressiv wirken, sind im menschlichen Organismus physiologische Konzentrationen an zirkulierendem PRL notwendig, um eine grundlegende Immunkompetenz zu erhalten [60].

Erhöhte PRL-Konzentrationen gehen häufig mit Veränderungen von Immunreaktionen einher. So konnte durch zunehmende PRL-Konzentrationen (100-300 ng/ml) eine dosisabhängige Steigerung der Synthese der proinflammatorischen Zytokine IL-12 und TNF- α in LPS-stimulierten Vollblutkulturen beobachtet werden. PRL-Konzentrationen in dieser Höhe werden im Blut bei Narkosen und Schwangerschaften gemessen. Die Sekretion des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 war nur bei sehr hohen PRL-Konzentrationen (300 ng/ml) signifikant verstärkt. Weiterhin wurde eine erhöhte Bindungsaktivität der Transkriptionsfaktoren NF κ B und IRF-1 durch PRL alleine und in Kombination mit LPS beobachtet [11]. NF κ B wird im Zytoplasma aktiviert und innerhalb von Minuten in den Zellkern transloziert. Hier vermittelt NF κ B die Transkription vieler proinflammatorischer Gene einschließlich denen von TNF- α , IL-12 und auch IRF-1, welcher wiederum über einen positiven Feedback-Mechanismus in der Lage ist, die Aktivierung von NF κ B zu verstärken [58]. Somit scheint PRL die proinflammatorische Immunantwort über NF κ B und IRF-1 zu verstärken und unter bestimmten Bedingungen pathophysiologische Prozesse auszulösen.

Bereits in physiologischen Konzentrationen verursacht PRL eine gesteigerte IFN- γ -Produktion in peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) nach PHA- und ConA-Stimulation bei gesunden Probanden [15]. In weiteren Untersuchungen zeigte die Zugabe von humanem rekombinantem PRL zu LPS- oder PHA-stimulierten Zellkulturen im Vollbluttest eine gesteigerte IFN- γ -Sekretion [12].

Auch Dimitrov et al. (2004) beobachteten eine durch PRL erhöhte TNF- α - und IFN- γ -Sekretion in CD4- und CD8-positiven Lymphozyten [22].

In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass nach einer Narkoseeinleitung mit Opioiden eine signifikant gesteigerte IFN- γ -Sekretion gemessen wurde, die vermutlich als Wirkung von PRL zu deuten ist [9]. PRL verstärkt auch in NK-Zellen die IFN- γ -Sekretion und verursacht dadurch in aktivierten NK-Zellen eine gesteigerte spontane Zytotoxizität [61]. Durch die gesteigerte IFN- γ -Produktion während eines chirurgischen Traumas wird die Aktivierung von Makrophagen hervorgerufen.

In PRL-stimulierten dendritischen Zellen wurde eine gesteigerte IL-12-Sekretion gemessen, wodurch ebenfalls die Produktion der Th1-Zytokine wie IFN- γ stimuliert und somit die zelluläre Immunität verstärkt wird [62].

4.3. Differenzen zwischen Narkose und Spinalanästhesie

4.3.1. Wirkungen von neuroaxialem Block auf Immunfunktionen

Durch ein spinalanästhesiologisches Verfahren werden neben den sensorischen und motorischen Nervenfasern auch die sympathischen Nervenfasern blockiert, was den Abfall der NA-Konzentration im Blut zur Folge hat [3].

In unserer Studie beobachteten wir in beiden Patientengruppen eine postoperativ erhöhte IL-6-Konzentration im Serum, die im Sinne einer Akute-Phase-Reaktion auf das chirurgische Trauma zu deuten ist. Im Unterschied zur Narkose wurde bei Patienten mit neuroaxialem Block ein postoperativ signifikanter Anstieg der IL-12-Sekretion gemessen. IL-12 wird sehr früh bei einer Immunreaktion produziert und induziert die Differenzierung von Th1-Zellen während die Bildung von Th2-Zellen gehemmt wird [92]. Der IL-12-Anstieg bei Patienten mit SPA könnte durch die andauernde Sympathikolyse erklärt werden, die nach einer Narkose nicht auftritt. Der immunmodulatorische Effekt dieser Sympathikolyse zeigt sich beispielsweise in einer verminderten NK-Zellaktivität nach Einleitung einer Epiduralanästhesie [103].

T-Lymphozyten besitzen wichtige Funktionen bei der zellulären und humoralen Immunantwort. Durch eine operative Belastung wird das Th1/Th2-Gleichgewicht zugunsten der Th2-Zellen verändert, wodurch postoperativ die zellvermittelte Immunität unterdrückt und die Antikörper-vermittelte Immunität begünstigt wird [20]. Im Gegensatz zur Narkose wurden bei SPA gleich bleibende Th1-Zellzahlen beobachtet, wodurch abwehrende Immunreaktionen verstärkt und weniger postoperative Infektionen hervorgerufen wurden [17].

4.3.2. Wirkungen von Narkose und operativem Trauma auf immunologische Funktionen

Durch viele anästhesiologische Medikamente wird die Funktion immunkompetenter Zellen sowie die Genexpression und Sekretion inflammatorischer Mediatoren beeinflusst und dadurch die zelluläre und neurohumorale Immunität verändert. Diese modulierenden Effekte der Anästhetika sind in bestimmten kritischen Situationen wie einer Ischämie, einer reperfundierten Verletzung oder einem SIRS von klinischer Bedeutung [56].

Dabei werden bei der Narkose insbesondere Opioide analgetisch eingesetzt, durch die die Schmerzübermittlung gehemmt und dadurch sympathische und endokrine Reaktionen auf nozizeptive Reize abnehmen. Der genaue Mechanismus, durch den Opioide Immunfunktionen modulieren, ist noch nicht vollständig geklärt.

Während und nach einer Narkose werden Endotoxine wie LPS durch die Darmschleimhaut resorbiert und - zumindest bei einfachen chirurgischen Eingriffen - zum Großteil hepatisch eliminiert. Bei Patienten mit ausgedehnten Traumata oder größeren Operationen entwickelt sich jedoch eine unkontrollierte Sekretion proinflammatorischer Zytokine, die durch die Opioidsubstitution noch verstärkt werden könnte [10].

Die Gabe von Opioiden im Rahmen einer Narkose verursachte eine schnelle Erhöhung der PRL-Konzentration im Serum von Normwerten (<15 ng/ml) auf bis zu 150-250 ng/ml [9, 19]. Die veränderte Hormonkonzentration ging in diesen Untersuchungen mit einer verstärkten proinflammatorischen Reaktionslage einher, was sich in einer vermehrten Sekretion der Zytokine TNF- α , IL-1 β und IFN- γ und einer verringerten Ausschüttung von IL-10 andeutete [9]. Die verminderte Sekretion des antiinflammatorischen IL-10 nach OP-Beginn könnte Folge der verminderten Kortisol-Konzentration sein, da Glukokortikoide eine regulatorische Wirkung auf die IL-10-Produktion besitzen [97]. Steroide induzieren eine „Up-Regulation“ der konstitutiven IL-10-Produktion in menschlichen Monozyten [67].

Aufgrund dieser vorangegangenen Studien hatten wir in unseren Untersuchungen direkt postoperativ veränderte immunologische Reaktionen im Sinne einer verstärkten Proinflammation erwartet, die so nicht nachgewiesen werden konnten. Direkt postoperativ scheint PRL als erster Mediator vermehrt sezerniert zu werden. Die reduzierte Sekretion sowohl der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6 als auch des antiinflammatorischen Mediators IL-10 deuten auf eine Anergie der Immunzellen unmittelbar postoperativ hin, die möglicherweise durch PRL gegenreguliert wird. Reaktionen, die auf ein Postaggressionssyndrom schließen lassen, waren somit nicht nachweisbar.

In kürzlichen Studien hat sich herausgestellt, dass PRL als wirksamer Co-Aktivator der Plättchenaggregation fungiert und eine erhöhte PRL-Konzentration einen zusätzlichen Risikofaktor für arterielle und venöse Thrombosen darstellt [94].

In einer Meta-Analyse, die 15 randomisierte Studien verglichen hatte, konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Regionalanästhesie eine reduzierte Ein-Monats-Mortalität

und ein signifikant geringeres Risiko einer tiefen Venenthrombose aufwiesen sowie ein vermindertes Risiko eines akuten postoperativen Verwirrheitszustandes zeigten [72, 95]. Parker et al. (2004) werteten 22 Studien mit insgesamt 2567 vorwiegend weiblichen älteren Patienten aus und verglichen sie hinsichtlich Regional- und Intubationsnarkose. Auch hier konnte durch das regionalanästhetische Verfahren ein reduziertes Risiko für eine tiefe Venenthrombose nachgewiesen werden (CSE 30 %, ITN 47 %) [72].

Diese Ergebnisse konnten im Rahmen einer weitere Meta-Analyse von Mauermann et al. (2006) unterstützt werden, die den neuroaxialen Block (348 Patienten) mit der Narkose (330 Patienten) bei elektivem Hüftgelenksersatz verglichen: Durch den neuroaxialen Block wurden statistisch signifikant weniger tiefe Venenthrombosen und Lungenembolien hervorgerufen. Weiterhin wurden kürzere Operationszeiten und ein geringerer intraoperativer Blutverlust bei Patienten mit neuroaxialem Block beobachtet [63]. Somit scheinen Patienten mit neuroaxialer Anästhesie bessere Resultate hinsichtlich postoperativer Komplikationen erzielen zu können. Das Risiko dieser postoperativen Komplikationen hängt möglicherweise mit der bei Narkose signifikant höheren PRL-Konzentration zusammen.

4.3.3. Schlussfolgerungen

Die grundlegende Aufgabe der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit der Fragestellung, ob es bei den beschriebenen Anästhesieverfahren Unterschiede in der Wirkung auf immunologische Reaktionen gibt und ob wir diese beobachten können.

Durch Trauma, operativen Eingriff und Anästhesie werden Veränderungen der Immunfunktionen hervorgerufen und die Wechselbeziehung zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen beeinflusst.

Bei einer CSE benötigten die Patienten postoperativ meist erst nach Stunden eine analgetische Therapie über den liegenden PDK, wohingegen Patienten mit ITN meist unmittelbar nach dem Erwachen Opiode erhielten.

Durch Opiode wie Fentanyl und Piritramid (Dipidolor[®]) wird das Gleichgewicht der Neuropeptide beeinflusst und dadurch die T-Zell-Funktion verändert.

In unserer Studie konnten wir eine abnehmende Sekretion des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 in beiden Anästhesiegruppen beobachten. Unmittelbar nach dem operativen Trauma wurde ebenfalls eine abnehmende Sekretion der

proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6 im Vollblut deutlich, wobei der TNF- α -Abfall eine mögliche NA-Wirkung darstellen könnte. Bei IL-12 wurden abweichende Ergebnisse in beiden Narkosegruppen gemessen, da durch die Sympathikolyse bei CSE ein postoperativer IL-12-Anstieg induziert wurde.

Im Serum stieg die IL-6-Konzentration postoperativ statistisch signifikant, was im Rahmen einer Akute-Phase-Reaktion auf das operative Trauma zu deuten ist.

In unserer Patientenstudie ist v. a. der postoperative PRL-Anstieg bei Patienten mit Narkose um ein Vielfaches höher als die postoperative PRL-Zunahme bei Patienten mit neuroaxialem Block. Schon Hoehe et al. (1988) beobachteten, dass der Einsatz von Opioiden vorübergehend eine drastische Erhöhung der PRL-Konzentration im Plasma bewirkte [41]. Der in mehreren Studien bereits erfasste postoperative Abfall der Kortisol-Konzentration war direkt postoperativ in unseren Messungen nicht nachweisbar.

Die in vorangegangenen Studien beschriebene postoperativ erhöhte proinflammatorische Reaktionslage konnte unmittelbar nach der Operation in unseren Messungen ebenfalls nicht beobachtet werden und somit auch keine Veränderungen im Sinne eines Postaggressionssyndroms. Direkt postoperativ scheinen die Immunzellen in einem anergischen Zustand zu sein, in dem PRL als Hormon der Gegenregulation wirken könnte. Der Organismus befindet sich zu diesem Zeitpunkt in einem vulnerablen Zustand mit erhöhter Infektions- und Thrombosegefahr. Schon bei leichtem Infektstatus sollten daher keine elektiven Operationen durchgeführt werden, um ein Versagen der immunologischen Kontrollfunktionen zu vermeiden.

Es sind weiterführende Studien notwendig, um den postoperativen Verlauf über die unmittelbar postoperative Situation hinaus beurteilen zu können.

Besonders durch eine Opioid-basierte Narkose könnte eine gesteigerte postoperative Sekretion an proinflammatorischen Zytokinen im Verlauf ausgelöst werden, die zur Entstehung postoperativer Komplikationen bis hin zum SIRS führen kann.

5. Zusammenfassung

Diese Arbeit vergleicht zwei Anästhesieverfahren (TIVA und CSE) bei Patienten mit einem elektiven endoprothetischen Gelenkersatz hinsichtlich immunologischer Veränderungen, die durch das jeweiligen Betäubungsverfahren hervorgerufen werden.

Durch die Stimulation mit NA in-vitro wurde die Stresswirkung auf Immunzellen imitiert. Der Katecholaminzusatz führte zu einer verstärkten antiinflammatorischen Wirkung bei zurückgedrängter proinflammatorischer Komponente.

In der Patientenstudie konnten die erwarteten Veränderungen der immunologischen Reaktionen direkt postoperativ nicht nachgewiesen werden. Die durch Narkoseverfahren und chirurgisches Trauma erwartete verstärkte proinflammatorische Aktivität konnte unmittelbar postoperativ nicht gemessen werden. Stattdessen zeigte sich eine nahezu unveränderte Zytokinbalance mit sogar verminderter Sekretion sowohl der anti- als auch der proinflammatorischen Zytokine IL-10, TNF- α und IL-6 im Vollblut. Die verminderte TNF- α -Sekretion ist vermutlich als NA-Wirkung zu interpretieren. Die postoperativ erhöhte IL-6-Konzentration im Serum ist als direkte traumatische Wundreaktion im Sinne einer Akute-Phase-Reaktion zu deuten.

Bei der Regionalanästhesie wurden postoperativ erhöhte IL-12-Konzentrationen gemessen, welche am ehesten durch die CSE-induzierte Sympatikolyse hervorgerufen wird, wodurch zelluläre Abwehrfunktionen verstärkt werden.

Interessanterweise konnte bei der Narkose verglichen mit dem neuroaxialen Block eine um ein Vielfaches höhere PRL-Konzentration direkt postoperativ gemessen werden. Der anergische Zustand, in dem sich das Immunsystem unmittelbar postoperativ zu befinden scheint, wird möglicherweise durch die gesteigerte PRL-Sekretion gegenreguliert. Das menschliche Immunsystem befindet sich direkt postoperativ in einem vulnerablen Zustand mit erhöhter Infektions- und Thrombosegefahr, wodurch sich das erhöhte Auftreten postoperativer Komplikationen wie tiefe Venenthrombose und Lungenembolie bei Narkose erklären lässt. Die komplexen Wirkungsmechanismen sind zur Zeit im Detail nicht erklärbar. Weiterführende Studien sind notwendig, um den weiteren postoperativen Verlauf zu untersuchen.

Es ist jedoch denkbar, dass durch einen verminderten Opioid-Einsatz, wie er durch ergänzende regionalanästhetische Verfahren möglich wäre, das Risiko für postoperative Komplikationen bis hin zu systemischen inflammatorischen Reaktionen reduziert werden könnte.

Schließlich ist es zur Interpretation der Ergebnisse wichtig, dass alle beobachteten Veränderungen als Summationseffekt durch operatives Trauma und anästhesiologisches Verfahren verstanden werden. Hierbei stellt der Gelenkersatz eine großflächige Weichteil- und Knochenverletzung dar, wodurch eine Beeinflussung der immunologischen Funktionen resultiert.

6. Literaturverzeichnis

- [1] ASADULLAH K, SABAT R, FRIEDRICH M, VOLK HD, STERRY W. *Interleukin-10: an important immunoregulatory cytokine with major impact on psoriasis*. Curr Drug Targets Inflamm Allergy. 3 (2004), 185-192.
- [2] BACHELOT A, BINART N. *Reproductive role of prolactin*. Reproduction. 133 (2007), 361-369.
- [3] BARON JF, DECAUX-JACOLOT A, EDOUARD A, BERDEAUX A, SAMII K. *Influence of venous return on baroreflex control of heart rate during lumbar epidural anesthesia in humans*. Anesthesiology. 64 (1986), 188-193.
- [4] BAUER M, RENSING H, ZIEGENFUSS T. *Anästhesie und perioperative Immunfunktion*. Anaesthesist. 47 (1998), 538-556.
- [5] DE BELLIS A, BIZZARRO A, PIVONELLO R, LOMBARDI G, BELLASTELLA A. *Prolactin and autoimmunity*. Pituitary. 8 (2005), 25-30.
- [6] BÖLKE E, JEHLE PM, GRAF M, BAIER A, WIEDECK H, STEINBACH G, STORCK M, ORTH K. *Inflammatory response during abdominal and thyroid surgery: a prospective clinical trial on mediator release*. Shock. 16 (2001), 334-339.
- [7] BÖLKE E, JEHLE PM, ORTH K, STEINBACH G, HANNEKUM A, STORCK M. *Changes of gut barrier function during anesthesia and cardiac surgery*. Angiology. 52 (2001), 477-482.
- [8] BOLE-FEYSOT C, GOFFIN V, EDERY M, BINART N, KELLY PA. *Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice*. Endocr Rev. 19 (1998), 225-268.
- [9] BRAND JM, SCHMUCKER P, BREIDTHARDT T, KIRCHNER H. *Upregulation of IFN- γ and soluble interleukin-2 receptor release and altered serum cortisol and prolactin concentration during general anesthesia*. J Interferon Cytokine Res. 21 (2001), 793-796.
- [10] BRAND JM, FROHN C, LUHM J, KIRCHNER H, SCHMUCKER P. *Early alterations in the number of circulating lymphocyte subpopulations and enhanced proinflammatory immune response during opioid-based general anesthesia*. Shock. 20 (2003), 213-217.
- [11] BRAND JM, FROHN C, CZIUPKA K, BROCKMANN C, KIRCHNER H, LUHM J. *Prolactin triggers pro-inflammatory immune responses in peripheral immune cells*. Eur Cytokine Netw. 15 (2004), 99-104.

- [12] BREIDTHARDT T, FROHN C, LUHM J, KIRCHNER H, BRAND JM. *Prolactin induces enhanced interferon gamma release in peripheral whole blood after stimulation with either PHA or LPS*. Immunobiol. 206 (2002), 424-431.
- [13] BROCKMANN C, RAASCH W, BASTIAN C. *Endocrine stress parameters during TIVA with remifentanyl or sufentanyl*. Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther. 35 (2000), 685-691.
- [14] CALCAGNI E, ELENKOV I. *Stress system activity, innate and T helper cytokines, and susceptibility to immune-related diseases*. Ann N Y Acad Sci. 1069 (2006), 62-76.
- [15] CESARIO TC, YOUSEFI S, CARANDANG G, SADATI N, LE J, VAZIRI N. *Enhanced yields of gamma interferon in prolactin treated human peripheral blood mononuclear cells*. Proc Soc Exp Biol Med. 205 (1994), 89-95.
- [16] CONNOR TJ, BREWER C, KELLY JP, HARKIN A. *Acute stress suppresses pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-1 beta independent of a catecholamine-driven increase in IL-10 production*. J Neuroimmunol. 159 (2005), 119-128.
- [17] LE CRAS AE, GALLEY HF, WEBSTER NR. *Spinal but not general anesthesia increases the ratio of T helper 1 to T helper 2 cell subsets in patients undergoing transurethral resection of the prostate*. Anesth Analg. 87 (1998), 1421-1425.
- [18] CROSIGNANI PG. *Current treatment issues in female hyperprolactinaemia*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 125 (2006), 152-164.
- [19] CROZIER TA, MÜLLER JE, QUITTKAT D, SYDOW M, WUTTKE W, KETTLER D. *Effect of anaesthesia on the cytokine responses to abdominal surgery*. Br. J. Anaesth. 73 (1994), 426.
- [20] DECKER D, SCHONDORF M, BIDLINGMAIER F, HIRNER A, VON RUECKER AA. *Surgical stress induces a shift in the type-1/type-2 T-helper cell balance, suggesting down-regulation of cell-mediated and up-regulation of antibody-mediated immunity commensurate to the trauma*. Surgery. 119 (1996), 316-325.
- [21] DEVLIN EG, CLARKE RS, MIRAKHUR RK, McNEILL TA. *The effects of thiopentone and propofol on delayed hypersensitivity reactions*. Anaesthesia. 50 (1995), 496-498.
- [22] DIMITROV S, LANGE T, FEHM HL, BORN J. *A regulatory role of prolactin, growth hormone, and corticosteroids for human T-cell production of cytokines*. Brain Behav Immun. 18 (2004), 368-374.
- [23] VON DOSSOW V, SANDER M, MacGILL M, SPIES C. *Perioperative cell-mediated immune response*. Front Biosci. 13 (2008), 3676-3684.

- [24] ELENKOV IJ, PAPANICOLAOU DA, WILDER RL, CHROUSOS GP. *Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications.* Proc Assoc Am Physicians. 108 (1996), 374-381.
- [25] ELENKOV IJ, CHROUSOS GP, WILDER RL. *Neuroendocrine regulation of IL-12 and TNF-alpha/IL-10 balance. Clinical implications.* Ann N Y Acad Sci. 917 (2000), 94-105.
- [26] ELENKOV IJ. *Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance.* Ann N Y Acad Sci. 1024 (2004), 138-146.
- [27] ELENKOV IJ. *Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being.* Neurochem Int. 52 (2008), 40-51.
- [28] FIORENTINO DF, BOND MW, MOSMANN TR. *Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones.* J Exp Med. 170 (1989), 2081-2095.
- [29] FISCHER CP. *Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance?* Exerc Immunol Rev. 12 (2006), 6-33.
- [30] FREEMAN ME, KANYICSKA B, LERANT A, NAGY G. *Prolactin: structure, function, and regulation of secretion.* Physiol Rev. 80 (2000), 1523-1631.
- [31] GATTONI A, PARLATO A, VANGIERI B, BRESCIANI M, DERNA R. *Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (1 of 2 parts).* Clin Ter. 157 (2006), 377-386.
- [32] GATTONI A, PARLATO A, VANGIERI B, BRESCIANI M, DERNA R. *Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (2 of 2 parts).* Clin Ter. 157 (2006), 457-468.
- [33] GILLESSEN S, CARVAJAL D, LING P, PODLASKI FJ, STREMLLO DL, FAMILLETTI PC, GUBLER U, PRESKY DH, STERN AS, GATELY MK. *Mouse interleukin-12 (IL-12) p40 homodimer: a potent IL-12 antagonist.* Eur J Immunol. 25 (1995), 200-206.
- [34] GINSBURG I. *The role of bacteriolysis in the pathophysiology of inflammation, infection and post-infectious sequelae.* APMIS. 110 (2002), 753-770.
- [35] HAUGEN PK, LETOURNEAU PC. *Interleukin-2 enhances chick and rat sympathetic, but not sensory, neurite outgrowth.* J Neurosci Res. 25 (1990), 443-452.
- [36] HECK M, FRESENIUS M. *Repetitorium Anästhesiologie.* 5. Auflage, Springer-Verlag Heidelberg (2007), 24-150.

- [37] HEINRICH PC, BEHRMANN I, HAAN S, HERMANNS HM, MÜLLER-NEWEN G, SCHAPER F. *Principles of interleukin (IL)-6-type signalling and its regulation*. Biochem J. 374 (2003), 1-20.
- [38] HIRANO T, TAGA T, MATSUDA T, HIBI M, SUEMATSU S, TANG B, MURAKAMI M, KISHIMOTO T. *Interleukin 6 and its receptor in the immune response and hematopoiesis*. Int J Cell Cloning. 8 (1990), 155-167.
- [39] HIRANO T. *Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease*. Clin Immunol Immunopathol. 62 (1992), 60-65.
- [40] HO AS, MOORE KW. *Interleukin-10 and its receptor*. Ther Immunol. 1 (1994), 173-185.
- [41] HOEHE M, DUKA T, DOENICKE A. *Human studies on the mu opiate receptor agonist fentanyl: neuroendocrine and behavioral responses*. Psychoneuroendocrinology. 13 (1988), 397-408.
- [42] HSIEH CS, HEIMBERGER AB, GOLD JS, O'GARRA A, MURPHY KM. *Differential regulation of T helper phenotype by interleukins 4 and 10 in an alpha beta T-cell-receptor transgenic system*. Proc Natl Acad Sci U S A. 89 (1992), 6065-6069.
- [43] HU XX, GOLDMUNTZ EA, BROSNAN CF. *The effect of norepinephrine on endotoxin-mediated macrophage activation*. J Neuroimmunol. 31 (1991), 35-42.
- [44] HWANG KS, CHO WK, YOO J, YUN HJ, KIM S, IM DS. *Adenovirus-mediated interleukin-12 gene transfer combined with cytosine deaminase followed by 5-fluorocytosine treatment exerts potent antitumor activity in Renca tumor-bearing mice*. BMC Cancer. 5 (2005), 51.
- [45] KAMIMURA D, ISHIHARA K, HIRANO T. *IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model*. Rev Physiol Biochem Pharmacol. 149 (2003), 1-38.
- [46] KANG BY, KIM TS. *Targeting cytokines of the interleukin-12 family in autoimmunity*. Curr Med Chem. 13 (2006), 1149-1156.
- [47] KASPROWICZ DJ, KOHM AP, BERTON MT, CHRUSCINSKI AJ, SHARPE A, SANDERS VM. *Stimulation of the B cell receptor, CD86 (B7-2), and the beta 2-adrenergic receptor intrinsically modulates the level of IgG1 and IgE produced per B cell*. J Immunol. 165 (2000), 680-690.
- [48] KELBEL I, WEISS M. *Anaesthetics and immune function*. Curr Opin Anaesthesiol. 14 (2001), 685-691.

- [49] KIM JM, BRANNAN CI, COPELAND NG, JENKINS NA, KHAN TA, MOORE KW. *Structure of the mouse IL-10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes*. J Immunol. 148 (1992), 3618-3623.
- [50] KIRCHNER H, KLEINICKE C, DIGEL W. *A whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes*. J Immunol Methods. 48 (1982), 213-219.
- [51] KLINKE R, SILBERNAGL S. *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme-Verlag Stuttgart (2001), 472 ff.
- [52] KLÖSS T. *Anästhesie*. Urban & Fischer-Verlag München (2004), 67-88.
- [53] KOHM AP, SANDERS VM. *Suppression of antigen-specific Th2 cell-dependent IgM and IgG1 production following norepinephrine depletion in vivo*. J Immunol. 162 (1999), 5299-5308.
- [54] KOHM AP, SANDERS VM. *Norepinephrine and β 2-adrenergic receptor stimulation regulate CD4⁺ T and B lymphocyte function in vitro and in vivo*. Pharmacol Rev. 53 (2001), 487-525.
- [55] KREUTZIG T. *Kurzlehrbuch Biochemie*. Urban & Fischer-Verlag München (2002), 315 ff.
- [56] KUROSAWA S, KATO M. *Anesthetics, immune cells, and immune responses*. J Anesth. 22 (2008), 263-277.
- [57] LI YS, KOUASSI E, REVILLARD JP. *Differential regulation of mouse B-cell activation by beta-adrenoceptor stimulation depending on type of mitogens*. Immunology. 69 (1990), 367-372.
- [58] LIU L, PAUL A, MacKENZIE CJ, BRYANT C, GRAHAM A, PLEVIN R. *Nuclear factor kappa B is involved in lipopolysaccharide-stimulated induction of interferon regulatory factor-1 and GAS/GAF DNA-binding in human umbilical vein endothelial cells*. Br J Pharmacol. 134 (2001), 1629-1638.
- [59] MA X, CHOW JM, GRI G, CARRA G, GEROSA F, WOLF SF, DZIALO R, TRINCHIERI G. *The interleukin 12 p40 gene promoter is primed by interferon gamma in monocytic cells*. J Exp Med. 183 (1996), 147-157.
- [60] MATERA L. *Endocrine, paracrine and autocrine actions of prolactin on immune cells*. Life Sci. 59 (1996), 599-614.
- [61] MATERA L, CONTARINI M, BELLONE G, FORNO B, BIGLINO A. *Up-modulation of interferon-gamma mediates the enhancement of spontaneous cytotoxicity in prolactin-activated natural killer cells*. Immunology. 98 (1999), 386-392.

- [62] MATERA L, MORI M. *Cooperation of pituitary hormone prolactin with interleukin-2 and interleukin-12 on production of interferon-gamma by natural killer and T cells.* Ann N Y Acad Sci. 917 (2000), 505-513.
- [63] MAUERMAN WJ, SHILLING AM, ZUO Z. *A comparison of neuraxial block versus general anesthesia for elective total hip replacement: a meta-analysis.* Anesth Analg. 103 (2006), 1018-1025.
- [64] MÉNDEZ I, CARIÑO C, DÍAZ L. *Prolactin in the immunological system: synthesis and biological effects.* Rev Invest Clin. 57 (2005), 447-456.
- [65] MOKART D, MERLIN M, SANNINI A, BRUN JP, DELPERO JR, HOUVENAEGHEL G, MOUTARDIER V, BLACHE JL. *Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery.* Br J Anaesth. 94 (2005), 767-773.
- [66] MOORE KW, DE WAAL MALEFYT R, COFFMAN RL, O`GARRA A. *Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor.* Annu Rev Immunol. 19 (2001), 683-765.
- [67] MOZO L, SUÀREZ A, GUTIÉRREZ C. *Glucocorticoids up-regulate constitutive interleukin-10 production by human monocytes.* Clin Exp Allergy. 34 (2004), 406-412.
- [68] MUNKER R, KOEFFLER HP. *Tumor necrosis factor: recent advances.* Klin Wochenschr. 65 (1987), 345-352.
- [69] NAYLOR SL, SAKAGUCHI AY, SHOWS TB, LAW ML, GOEDEL DV, GRAY PW. *Human immune interferon gene is located on chromosome 12.* J Exp Med. 157 (1983), 1020-1027.
- [70] NORTHOFF H, BERG A, WEINSTOCK C. *Similarities and differences of the immune response to exercise and trauma: the IFN-gamma concept.* Can J Physiol Pharmacol. 76 (1998), 497-504.
- [71] ORBACH H, SHOENFELD Y. *Hyperprolactinemia and autoimmune diseases.* Autoimmun Rev. 6 (2007), 537-542.
- [72] PARKER MJ, HANDOLL HH, GRIFFITHS R. *Anaesthesia for hip fracture surgery in adults.* Cochrane Database Syst Rev. 18 (2004), CD000521.
- [73] PAUL-EUGENE N, KOLB JP, CALEND A, GORDON J, KIKUTANI H, KISHIMOTO T, MENCIA-HUERTA JM, BRAQUET P, DUGAS B. *Functional interaction between beta 2-adrenoceptor agonists and interleukin-4 in the regulation of CD23 expression and release and IgE production in human.* Mol Immunol. 30 (1993), 157-164.

- [74] PEDERSEN BK, FISCHER CP. *Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 10 (2007), 265-271.
- [75] PETERSON PK, MOLITOR TW, CHAO CC. *The opioid-cytokine connection*. J Neuroimmunol. 15 (1998), 63-69.
- [76] PINSKY MR. *Sepsis and multiple organ failure*. Contrib Nephrol. 156 (2007), 47-63.
- [77] PONGRATZ G, HÄRLE P, SCHNELLINGER G, JANELE D, SCHÖLMERICH J, STRAUB RH. *Norepinephrine in mice inhibits secretion of splenic IL-6 during the dark period but stimulates its secretion in the light period--possible role of corticosterone tone*. J Neuroimmunol. 158 (2005), 120-127.
- [78] RENZ-POLSTER, KRAUTZIG, BRAUN. *Basislehrbuch Innere Medizin*. Urban & Fischer-Verlag München (2004), 342 ff.
- [79] ROSE-JOHN S, WAETZIG GH, SCHELLER J, GRÖTZINGER J, SEEGER D. *The IL-6/sIL-6R complex as a novel target for therapeutic approaches*. Expert Opin Ther Targets. 11 (2007), 613-624.
- [80] SALO M, PIRTTIKANGAS CO, PULKKI K. *Effects of propofol emulsion and thiopentone on T helper cell type-1/type-2 balance in vitro*. Anaesthesia. 52 (1997), 341-344.
- [81] SANDERS VM, POWELL-OLIVER FE. *Beta 2-adrenoceptor stimulation increases the number of antigen-specific precursor B lymphocytes that differentiate into IgM-secreting cells without affecting burst size*. J Immunol. 148 (1992), 1822-1828.
- [82] SANDERS VM, BAKER RA, RAMER-QUINN DS, KASPROWICZ DJ, FUCHS BA, STREET NE. *Differential expression of the beta-2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help*. J Immunol. 158 (1997), 4200-4210.
- [83] SANDOVAL SÁNCHEZ GC, FONSECA ME, OCHOA RESENDIZ R, ZÁRATE TREVIÑO A. *Structural characteristics of prolactin, growth hormone and their receptors as determinants of biological actions*. Ginecol Obstet Mex. 66 (1998), 339-342.
- [84] SCHNEEMILCH CE, BANK U. *Freisetzung pro- und antiinflammatorischer Zytokine unter dem Einfluss unterschiedlicher Anästhesieverfahren*. Anaesthesiol Reanim. 26 (2001), 4-10.
- [85] SCHÖNBEIN C. *Molekulare Mechanismen der antiinflammatorischen und immunsuppressiven Effekte von Interleukin-10*. Diss. Berlin (2003), 2-12.

- [86] SCHOTS R, KAUFMAN L, VAN RIET I, BEN OTHMAN T, DE WAELE M, VAN CAMP B, DEMANET C. *Proinflammatory cytokines and their role in the development of major transplant-related complications in early phase after allogeneic bone marrow transplantation*. *Leukemia*. 17 (2003), 1150-1156.
- [87] SEDER RA, GAZZINELLI R, SHER A, PAUL WE. *Interleukin 12 acts directly on CD4+ T cells to enhance priming for interferon gamma production and diminishes interleukin 4 inhibition of such priming*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90 (1993), 10188-10192.
- [88] SEHGAL PB. *Interleukin-6: molecular pathophysiology*. *J Invest Dermatol*. 94 (1990) 2-6.
- [89] SHIMAOKA M, HOSOTSUBO K, SUGIMOTO M, SAKAUE G, TAENAKA N, YOSHIYA I, KIYONO H. *The influence of surgical stress on T cells: enhancement of early phase lymphocyte activation*. *Anesth Analg*. 87 (1998), 1431-1435.
- [90] SWANSON MA, LEE WT, SANDERS VM. *IFN-gamma production by Th1 cells generated from naive CD4+ T cells exposed to norepinephrine*. *J Immunol*. 166 (2001), 232-240.
- [91] TAHARA H, LOTZE MT. *Antitumor effects of interleukin-12 (IL-12): applications for the immunotherapy and gene therapy of cancer*. *Gene Ther*. 2 (1995), 96-106.
- [92] TRINCHIERI G. *Proinflammatory and immunoregulatory functions of interleukin-12*. *Int Rev Immunol*. 16 (1998), 365-396.
- [93] UHEYAMA M, MARUYAMA I, OSAME M, SAWADA Y. *Marked increase in plasma interleukin-6 in burn patients*. *J Lab Clin Med*. 120 (1992), 693-698.
- [94] URBAN A, MASOPUST J, MALÝ R, HOSÁK L, KALNICKÁ D. *Prolactin as a factor for increased platelet aggregation*. *Neuro Endocrinol Lett*. 28 (2007), 518-523.
- [95] URWIN SC, PARKER MJ, GRIFFITHS R. *General versus regional anaesthesia for hip fracture surgery: a meta-analysis of randomized trials*. *Br J Anaesth*. 84 (2000), 450-455.
- [96] VALLEJO R, DE LEON-CASASOLA O, BENYAMIN R. *Opioid therapy and immunosuppression: a review*. *Am J Ther*. 11 (2004), 354-365.
- [97] VISSER J, VAN BOXEL-DEZAIRE A, METHORST D, BRUNT T, DE KLOET ER, NAGELKERKEN L. *Differential regulation of interleukin-10 (IL-10) and IL-12 by glucocorticoids in vitro*. *Blood*. 91 (1998), 4255-4264.
- [98] VIZI ES, ORSÓ E, OSIPENKO ON, HASKÓ G, ELENKOV IJ. *Neurochemical, electrophysiological and immunocytochemical evidence for a noradrenergic link*

- between the sympathetic nervous system and thymocytes. Neuroscience. 68 (1995), 1263-1276.*
- [99] VOLK HD, KEYßER G, BURMESTER GR. *Zytokine und Zytokinrezeptoren. Labor und Diagnose, 5. Auflage, Th-Books Frankfurt/Main (2000), 782-791.*
- [100] WAAGE A, BAKKE O. *Glucocorticoids suppress the production of tumour necrosis factor by lipopolysaccharide-stimulated human monocytes. Immunology. 63 (1988), 299-302.*
- [101] WINDSOR WT, SYTO R, TSARBOPOULOS A, ZHANG R, DURKIN J, BALDWIN S, PALIWAL S, MUI PW, PRAMANIK B, TROTTA PP. *Disulfide bond assignments and secondary structure analysis of human and murine interleukin 10. Biochemistry. 32 (1993), 8807-8815.*
- [102] YATES A, BERGMANN C, VAN HEMMEN JL, STARK J, CALLARD R. *Cytokine-modulated regulation of helper T cell populations. J Theor Biol. 206 (2000), 539-560.*
- [103] YOKOYAMA M, MIZOBUCHI S, NAGANO O, FUJII H, YAMASHITA M, HIRAKAWA M. *The effects of epidural insertion site and surgical procedure on plasma lidocaine concentration. Anaesth Analg. 92 (2001), 470-475.*
- [104] YU-LEE LY. *Prolactin modulation of immune and inflammatory responses. Recent Prog Horm Res. 57 (2002), 435-455.*

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: [54] S. 498

Abb. 2: [99] S. 1039

Abb. 3: [37] S. 1-20

Abb. 4: [37] S. 1-20

Abb. 5: [8]

Abb. 6: [55] S. 319

Erklärung

Ich versichere, die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Benutzung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt zu haben. Für die von mir durchgeführten Untersuchungen wurde die Einwilligung der Ethikkommission der medizinischen Fakultät an der Universität zu Lübeck eingeholt (AZ 03-154).

8. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater PD Dr. Jörg-Matthias Brand, der es verstand, mich von der Einführung in das Thema über die Betreuung bei den laborchemischen Messungen bis hin zur Fertigstellung der Dissertationsschrift zu motivieren und die interessanten Aspekte des Themas zu diskutieren. Er begleitete mich stetig mit Fachwissen, konstruktiver Kritik und vielen Ideen, die mir immer wieder den nötigen Schwung gegeben haben. Trotz der am Ende großen Entfernung von Lübeck an den Bodensee konnte ich jederzeit auf eine außerordentlich gute Betreuung zählen.

Ich danke Prof. Dr. Holger Kirchner, der den Beginn dieser Dissertation gefördert und unterstützt hat.

Weiterhin möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Institutes für Immunologie und Transfusionsmedizin der Universität zu Lübeck bedanken, v. a. bei Dr. Christian Brockmann, Dr. Thorsten Schulze und Dr. Jürgen Luhm, die mir mit ihren Erfahrungen v. a. bezüglich Statistik, Auswertung und graphischer Darstellung immer tatkräftig zur Seite standen.

Danken möchte ich auch den Biologen und MTAs, die mich hilfsbereit in die Laborarbeit eingeführt haben, bei Problemen immer ein offenes Ohr für mich hatten und mir besonders bei den Messungen der Kortisol-Konzentrationen behilflich waren.

Zudem danke ich den Mitarbeitern des Institutes für Gynäkologie und Geburtshilfe der Universität zu Lübeck für die freundliche Zusammenarbeit bei den PRL-Messungen.

Dank gebührt auch den Mitarbeitern des Institutes für Orthopädie der Universität zu Lübeck, ohne die die Durchführung der Patientenstudie nicht möglich gewesen wäre.

Ein besonderes Wort des Dankes möchte ich an meinen Ehemann Marco richten, der mir nicht nur bei der Korrektur dieser Arbeit behilflich war, sondern auch die Zeiten überstrapazierter Nerven mit unerschöpflicher Geduld ertragen und überstanden hat.

Großen Dank schulde ich auch meinen Eltern, ohne deren Unterstützung weder ein Studium noch eine Dissertationsschrift möglich gewesen wäre und deren stetige Motivationen sehr zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Meiner Schwester Monika danke ich schließlich für die finale orthographische Durchsicht dieser Dissertation.

9. Lebenslauf

Maria Droese geb. Zschätzsch

Geboren am 21.03.1981 in Roding, Oberpfalz

Verheiratet, zwei Töchter (Anna 2 Jahre, Emilia 8 Monate)

1987-1991	Münsterschule Grundschule, Hof
1991-2000	Johann-Christian-Reinhart Gymnasium, Hof
06/2000	Hochschulreife
09-11/2000	Krankenpflegepraktikum im Kreiskrankenhaus Münchberg
09/2000-07/2001	Ausbildung zum nebenberuflichen Kirchenmusiker, Bamberg (C-Kurs)
2001-2003	Medizinstudium an der Semmelweis Universität Budapest, Ungarn
08/2003	Ärztliche Vorprüfung
2003-2007	Medizinstudium an der Universität zu Lübeck mit Famulaturen am Klinikum Hof, Universität zu Lübeck, Rotes Kreuz Krankenhaus Lübeck, Asklepios Klinik Bad Oldesloe und Daktari Medical Centre Gilgil, Kenia
2004-2007	Experimentelle Untersuchungen im Rahmen der Dissertation
2006/2007	Praktisches Jahr Innere Medizin (Bad Oldesloe) Chirurgie (Neustadt i. Holst., Meran, Italien) Pädiatrie (Itzehoe)
12/2007	2. Ärztliche Prüfung (neue AO)
11/2008-08/2009	Assistenzärztin Innere Medizin, Klinik Tettwang (Bodenseekreis)
seit 08/2009	Mutterschutz und Elternzeit