

Universität Ulm
Sektion Experimentelle Anästhesiologie
Prof. Dr. E. Marion Schneider

Immunmodulation durch
Delta-9-Tetrahydrocannabinol in der
perioperativen Schmerztherapie

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

von
Silke Konanz
aus
Freiburg im Breisgau
2006

- Amtierender Dekan: **Prof. Dr.** Klaus-Michael Debatin

- 1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Schneider

- 2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Weiss

- Tag der Promotion: 19.01.2007

Für meine Eltern und Großeltern,
die mich während meines ganzen Studiums unterstützten.

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis	3
2. Einleitung	7
2.1 Botanik und Chemie der Pflanze Cannabis	8
2.2 Metabolisierung der Cannabinoide	10
2.3 Geschichte von Cannabis	11
2.4 Delta-9-Tetrahydrocannabinol-Rezeptoren.....	12
2.5 Endogene Liganden der Cannabinoidrezeptoren	14
2.6 Heutige Indikationen von Delta-9-Tetrahydrocannabinol	15
2.7 Nebenwirkungen von Delta-9-Tetrahydrocannabinol	16
2.8 Fragestellungen der vorliegenden Studie	18
3. Material und Methoden	19
3.1 Studiendesign	19
3.1.1 Randomisierung	19
3.1.2 Komedikation bzw. Schmerzmedikamente	20
3.1.3 Studieneinschlusskriterien	21
3.1.4 Studienausschlusskriterien	21
3.1.5 Verlauf der durchgeführten Operation.....	22
3.1.6 Ethikkommission	23
3.1.7 Probleme im Verlauf der Datenauswertung	23
3.2 Versuchsdesign	24
3.2.1 Durchflusszytometrie oder FACS-Analyse	24
3.2.2 Markierung der Zellen	27
3.3 Molekulare Grundlagen der Cluster of Differentiation (CD)	29
3.4 Oberflächenantigene	30
3.4.1 Lymphatische Oberflächenantigene	30
3.4.2 NK-Zell-Oberflächenantigene.....	37
3.4.3 Antigen-präsentierende Zellen	39
3.4.4 Allgemeine Oberflächenantigene	46
3.5 Auswertung.....	47
4. Ergebnisse	49
4.1 Ergebnisse der Patienten aus der Placebogruppe.....	50

4.1.1	Lymphatische Oberflächenantigene	51
4.1.2	APC-Oberflächenantigene	64
4.1.3	Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im R1	76
4.2	Vergleich der mit Delta-9-Tetrahydrocannabinol behandelten und nicht behandelten Patientengruppe	77
4.2.1	Lymphatische Oberflächenantigene	79
4.2.2	APC-Oberflächenantigene	92
4.2.3	Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im R1	105
5.	Diskussion	106
5.1	Ergebnisse der Patienten aus der Placebogruppe	107
5.1.1	Relative Zellzahlen und CRP	107
5.1.2	Apoptose-Rezeptor: CD95 und Epitope	107
5.1.3	Pathogenrezeptoren TLR2+4 und CD14	108
5.1.4	Wachstumsfaktorenrezeptoren	110
5.1.5	Lymphozyten-spezifische Oberflächenantigene	112
5.1.6	APC-Antigene	114
5.1.7	Kostimulierende Rezeptoren	118
5.2	Vergleich der mit Delta-9-Tetrahydrocannabinol behandelten und nicht behandelten Patientengruppe Bearbeitung der Fragestellungen I und II	119
5.2.1	Relative Zellzahlen und CRP	119
5.2.2	Apoptose-Rezeptor: CD95 und Epitope	120
5.2.3	Pathogenrezeptoren TLR2+4 und CD14	121
5.2.4	Wachstumsfaktoren	122
5.2.5	Lymphozyten spezifische Oberflächenantigene	124
5.2.6	APC-Antigene	126
5.2.7	Kostimulierende Rezeptorene	129
5.3	Bearbeitung der Fragestellungen III und IV	130
6.	Zusammenfassung	134
7.	Literaturverzeichnis	136
8.	Tabellenanhang	155
9.	Danksagung	164
10.	Lebenslauf	165

1. Abkürzungsverzeichnis

- 8-OH-THC: 8-Beta-Hydroxy-Tetrahydrocannabinol
- 8,11-di-OH-THC: 8,11-Dihydroxy-Tetrahydrocannabinol
- AG: Antigen
- AML: akute myeloische Leukämie
- APC: Antigen-präsentierende Zellen
- APO1: Apoptose-1-Antigen
- ASA: engl. American Society of Anesthesiologists
- ATP: Adenosintriphosphat
- BD: Becton Dickinson
- Bzw.: beziehungsweise
- CAM: engl. Cell Adhesion Molecule
- cAMP: cyclisches Adenosinmonophosphat
- CB: Cannabinoid Rezeptor
- CBD: Cannabidiol
- CBN: Cannabinol
- CD: engl. Cluster of Differentiation
- COX-2: Cyclooxygenase 2
- CRP: engl. C reactive protein
- CSF: engl. Colony Stimulating Factor
- CT3: engl. Ajulemic acid
- d-1: präoperativer Tag
- d+1: erster postoperativer Tag
- d+2: zweiter postoperativer Tag
- D1/2-Rezeptoren: Dopamin1/2-Rezeptoren
- DC: dendritische Zellen
- Δ^9 -THC: Delta-9-Tetrahydrocannabinol
- d.h.: das heisst
- DNA: engl. Desoxyribonucleinacid
- EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

- EDV: Elektronische Datenverarbeitung
- 11-OH-THC: 11-Hydroxy-Tetrahydrocannabinol
- FACS: engl. Fluorescence Activated Cell Sorter
- FADD: engl. Fas associated protein with death domain
- Fc: engl. Fragment crystalline
- FFP : fresh frozen plasma
- FITC: engl. Fluoresceinisothiocyanat
- FSC: Vorwärtsstreulicht
- GABA: Gammaaminobuttersäure
- GATA 3: engl. Zinc-Finger Transcription Factor
- γ -GT: Gammaglutamyltransferase
- GM-CSF: Granulozyten-Makrophagen Kolony stimulierender Faktor
- G-Protein: Guaninnukleotid-bindendes Protein
- G_i -Protein: inhibitorisches Guaninnukleotid-bindendes Protein
- GTP: Guanosintriphosphat
- GTPase: GTP-Hydrolase
- HIV: engl. Human Immunodeficiency Virus
- HLA: Humane Leukozyten Antigene
- I-CAM: interzelluläres Adhäsionsmolekül-1 (intercellular adhesion molecule-1)
- ICH-GCP- Guidelines: Richtlinien der International Conference on Harmonisation (ICH) / WHO Good Clinical Practice standards (GCP)
- IFN- γ : Interferon gamma
- Ig: Immunglobulin
- IgG: Immunglobulin G
- IL: Interleukin
- κ -Rezeptor: Kappa- Opioidrezeptor
- LPB: Lipopolysaccharid-Binde-Protein
- LPS: Lipopolysaccharide
- MHC: engl. Major Histocompatibility Complex
- Min: Minute
- mRNS: engl. messenger RNS

- MSKCC-Kriterien: Kriterien des Memorial Sloan-Kettering Krebscenters (Cancer Center)
- N-CAM: engl. Neural Cell Adhesion Molecule
- NK-Zellen: natürliche Killerzellen
- NYHA: engl. New York Heart Association
- PBS: Phosphat gepufferte Salzlösung (Phosphate buffert saline)
- PCA: Patientenkontrollierte Analgesie
- PE: engl. Phycoerythrin
- PMN: engl. Polymorph nuclear cells
- Post-op1: Blutentnahme am ersten Tag nach der Operation
- Post-op2: Blutentnahme am zweiten Tag nach der Operation
- Prä-op: Blutentnahme am Tag vor der Operation
- PTT: engl. Partial Thromboplastin Time
- R1: Region 1
- R2: Region 2
- R3: Region 3
- R4: Region 4
- SIRS: engl. Systemic Inflammatory Response Syndrome
- SSC: Seitwärtsstreulicht
- s.S.: Siehe Seite
- s.o.: Siehe oben
- SPSS: engl. Statistical Package for the Social Science
- STAT: engl. Signal Transducers and Activators for Transcription
- STAT 6: engl. Signal Transducers and Activators for Transcription 6
- TCR: T-Zellrezeptor
- THC: Tetrahydrocannabinol
- THCS: Tetrahydrocannabinolsäure
- THCV: Delta9-tetrahydrocannabivarin
- TH₁-Zellen: T-Helfer₁-Zellen
- TH₂-Zellen: T-Helfer₂-Zellen
- TLR: engl. Toll like Rezeptor
- TNF: engl. Tumor necrosis factor

- uws.: und so weiter
- WHO: engl. World Health Organization
- WT31: =CD244; NK cell activation-inducing ligand
- z.B.: zum Beispiel

2. Einleitung

In einer Therapie-Kontrollstudie soll die immunmodulatorische und analgetische Wirkung von Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) untersucht werden.

Diese Studie wurde in Kooperation der urologischen Klinik mit der Sektion Schmerztherapie und der Sektion für Experimentelle Anästhesiologie der Universität Ulm durchgeführt.

Hierzu wurden 100 Patienten, welche an einem Prostatakarzinom litten und radikal prostatektomiert werden mussten, in 2 Gruppen von je 50 Personen unterteilt und mit Hilfe statistischer Methoden verblindet. Man bekam man eine Kontrollgruppe von Patienten, die ein Placeboprodukt erhielt und eine weitere Gruppe, der Δ^9 -THC in Form von Hartgelatinekapseln verabreicht wurde.

Jeder Patient bekam drei mal täglich zu festen Uhrzeiten, je eine Kapsel und hatte zusätzlich die Möglichkeit, sich über eine Schmerzpumpe Piritramid bedarfsgerecht zu verabreichen. Weitere Einzelheiten zum Aufbau und Ablauf der Studie kann man dem Kapitel „Material und Methoden“ entnehmen.

Alle Patienten mussten sich einer großen Operation, der radikalen Prostatektomie unterziehen und bekamen zusätzlich zu dem Δ^9 -THC- oder Placeboprodukt ein Opiat zur Schmerzmedikation. Diese Fakten, das operative Trauma, der Blutverlust, die Anästhesieverfahren und die Opiate, müssen bei der Interpretation der Daten hinsichtlich ihrer immunmodulatorischen Wirkung berücksichtigt werden.

Um die Menge des verbrauchten Opiats (Piritramid) zu evaluieren, waren die Patienten angehalten, sowohl ihre Schmerzen in Form von Schmerzskalen, als auch den Piritramid-Verbrauch zu dokumentieren.

Anhand dieser Dokumentation ließ sich die Wirkung von Δ^9 -THCs in der akuten Schmerztherapie eruieren.

Um die immunmodulatorische Wirkung des Δ^9 -THC ermitteln zu können, wurde allen Patienten am Tag vor der Operation, am 1. postoperativen und am 2. postoperativen Tag Blut entnommen und mit einer standardisierten Immunphänotypisierung ausgewertet.

Für diese Immunphänotypisierung wurden dreißig immunologische Marker ausgewählt, deren veränderte Verteilung auf Leukozyten des peripheren Blutes untersucht wurde. Die untersuchten Oberflächenantigene beschreiben T- und B-Zellen, natürliche Killerzellen, sowie Aktivierungs- und Differenzierungsantigene auf zirkulierenden Granulozyten und Monozyten. Weitere Einzelheiten hierzu, kann man dem Kapitel „Material und Methoden“ entnehmen.

Auf den nächsten Seiten sind die wichtigsten Aspekte des Δ^9 -THCs dargestellt.

2.1 Botanik und Chemie der Pflanze Cannabis

Die Gattung der Pflanze Cannabis (dt. Hanf) umfasst drei Arten: Cannabis indica, Cannabis sativa und Cannabis ruderalis.

Im Harz der Drüsenhaare der Hanfpflanze sind neben Steroiden und Terpenen zu 80-90% Cannabinoide enthalten.

Dabei unterscheidet man ca. 80 verschiedene Wirkstoffe:

- Δ^9 -THC
 - o gewinnt man in größeren Mengen aus Cannabis sativa
 - o liegt meist in der trans-Form vor, während die cis-Form keine psychoaktive Wirksamkeit aufweist
- Δ^8 -THC kommt in den natürlichen Harzen nur in sehr geringen Dosen vor und ist nur in der trans-Form psychotrop wirksam
- Δ^6 -trans-THC
- THCV: ein Propyl-Derivat von Tetrahydrocannabinol
- THCS: Carboxy-Tetrahydrocannabinol
 - o ist die Vorstufe aller Derivate
 - o entsteht durch Decarboxylierung
- CBD = Cannabidiol
 - o macht die Hauptmenge des Harzes aus
 - o ist selbst nicht psychotrop wirksam, modifiziert aber die THC-Wirkung, indem es dessen Wirkungseintritt verzögert und die Wirkungsdauer verlängert

- o ist nicht psychotrop, daher kann es eventuell als ungiftiges Antikonvulsivum bei Epilepsien und anderen, von unwillkürlichen Muskelkrämpfen begleiteten Krankheiten, therapeutisch eingesetzt werden
- o es hemmt zu dem mikrosomal abbauende Enzyme und kann hierdurch die Wirkungsdauer anderer zentral wirksamer Medikamente verlängern, (z.B. eine Hexobarbital-Narkose)
- CBN = Cannabinol:
 - o Abbauprodukt durch Oxidation
 - o hat etwa ein 1/10 der psychotropen Wirkung von THC
 - o bei längerer Lagerung wandelt sich THC allmählich in CBN um

In Spuren kommen noch etwa 60 weitere Cannabinoide vor, wie Cannabigerol und Cannabichrom.

Die psychoaktiven THC-Homologe werden meist unter dem Begriff „THC“ (Tetrahydrocannabinol) zusammengefasst.

Diese Verbindungen sind alle in Wasser praktisch gar nicht, in Fetten und flüchtigen Lösungsmitteln gut löslich.

Da alle natürlich vorkommenden Cannabinoide weder hetero- noch exocyclisch angeordnete Stickstoffatome enthalten, handelt sich hierbei definitionsgemäß um keine Alkaloide. Die Hanfpflanze enthält außer Cannabinoiden allerdings auch noch Vorstufen von Alkaloiden, wie L-Prolin und Piperidin.

Für den charakteristischen Cannabisgeruch sind die flüchtigen, niedrig siedenden ätherischen Öle der Pflanze verantwortlich, insbesondere Caryophyllenepoxid, ein Terpen (Kapitel 1.1.3 aus Rauschdrogen, 3. Auflage, Springer-Verlag).

2.2 Metabolisierung der Cannabinoide

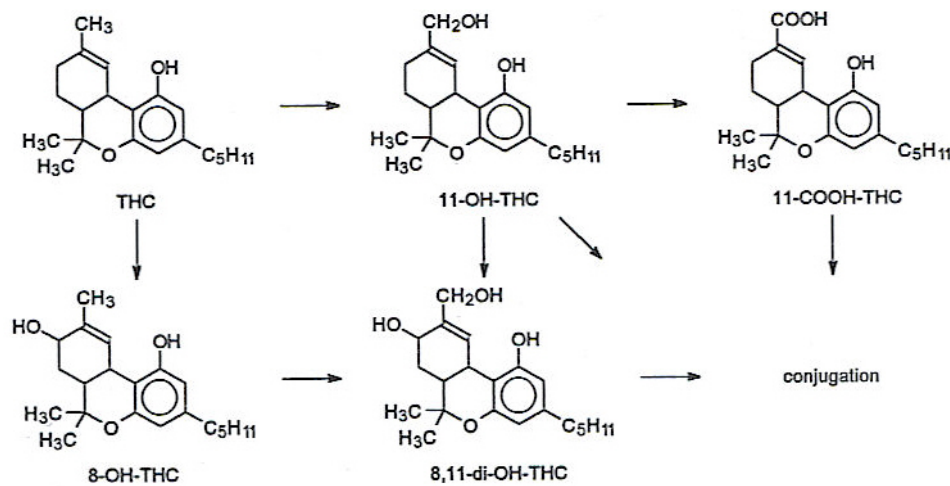


Abb. 1: Metabolisierung von Tetrahydrocannabinol (THC) in 11-Hydroxy-Tetrahydrocannabinol (11-OH-THC) oder 8-beta-Hydroxy-Tetrahydrocannabinol (8-OH-THC), 8,11-Dihydroxy-Tetrahydrocannabinol (8,11-di-OH-THC) und 11-Tetrahydrocannabinolsäure (11-COOH-THC) sowie weitere Metabolite durch Konjugation

Tetrahydrocannabinol hat zwei hydroxylierte Metabolite, 11-OH-THC und 8-OH-THC. Diese sind beide auch psychotrop wirksam, jedoch nicht so stark wie THC selbst. Die zweifach hydroxylierte Form des THC, 8,11-di-OH-THC, ist dagegen nicht mehr psychotrop aktiv.

70% des THC werden innerhalb von 72 Stunden über den Stuhl (ca. 40%) und den Urin (ca. 30%) ausgeschieden.

Das hauptsächliche Ausscheidungsprodukt der Cannabinoide ist 11-OH-THC. Dabei macht die freie 11-OH-THC-Form nur etwa 2% aus, da es hauptsächlich als konjugierte Form ausgeschieden wird (S. 812-814 Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, R.C. Baselt).

Durch die starke Lipophilie des Δ^9 -THCs kann es sich auch in verschiedenen Organsystemen anreichern und kumulieren. Dieses Phänomen ist bei regelmäßigem Gebrauch durch eine Enzymstimulation besonders stark ausgeprägt. Hierdurch lässt sich auch die bei Dauergebrauch eintretende Toleranzentwicklung erklären (Kapitel 1.1.4 Rauschdrogen, 3. Auflage, Springer-Verlag).

2.3 Geschichte von Cannabis

Die betäubende Wirkung von Hanf wurde im Abendland durch die arabische Medizin bekannt.

Seit bereits mehr als 3000 Jahren sind in China und anderen ostasiatischen Staaten die therapeutischen Wirkungen von Cannabis bekannt.

Schon 300 v. Christus wurde in Indien Hanf als Arzneimittel entweder geraucht oder in einer alkoholischen Lösung getrunken.

Etwa seit dem 5. Jahrhundert nach Christus ist der Faserhanf auch in Mitteleuropa bekannt. Von dort aus wurde er im Zuge der Kolonialisierung im 16. Jahrhundert in Mittel- und Südamerika eingeführt.

Ab dem 16. Jahrhundert wurde Hanf in europäischen Kräuterbüchern als Heilmittel geführt und seit 1850 in der amerikanischen Heilmittelliste als Mittel gegen Husten, Müdigkeit, Depressionen, Krämpfe, Rheumatismus und Migräne aufgeführt.

Beschreibungen des Δ^9 -THC-Gebrauch, ausschließlich zu Rauschzwecken, findet man in Europa erst im Zusammenhang mit dem 1844 in Paris gegründeten „Club des Haschischins“. Dieser wurde von einer Bohémien-Gruppe gebildet, zu der vorwiegend Künstler und Literaten gehörten.

Eine erste wissenschaftliche Untersuchung des Haschisch-Konsums erschien 1845 ebenfalls in Paris. In dieser wurde bereits auf Zusammenhänge zwischen dem Haschisch-Rausch und bestimmten Geisteskrankheiten hingewiesen.

Noch im gleichen Jahrhundert wurde Δ^9 -THC Ausgangsstoff für zahlreiche pharmazeutische Präparate, die als Ersatz für das zu dieser Zeit bereits als suchtbildend erkannte Morphinum eingesetzt wurden. So enthielt zum Beispiel das Schlafmittel „Somnium“ eine 15%ige Cannabis-Tinktur.

1870 kamen unter der Bezeichnung „Simon Arzt Nr.2“ Cannabis-Zigaretten mit 7% Cannabis-Anteil auf den deutschen Markt.

Um 1900 ging der medizinische Gebrauch des Cannabis allerdings zu Ende, da das Heroin auf dem Markt erschien und sich schnell verbreitete.

In der Folgezeit spielte Cannabis, außer als Faser- und Öllieferant in den europäischen Ländern kaum noch eine Rolle.

1961 untersagte die WHO den Cannabis-Konsum. Ausgenommen waren lediglich wissenschaftliche oder medizinische Zwecke.

Die Erforschung der medizinischen Wirkungen der einzelnen Cannabinoide begann daher erst ab 1966.

Zwischen 1967/68 fand Cannabis in Europa wieder einen entsprechenden Abnehmerkreis, der es hauptsächlich als Rauschmittel benutzte.

1975 förderte die US-Regierung die weitere Erforschung der verschiedenen Delta-9-Tetrahydrocannabinole, die sie jedoch an die Pharmaindustrie vergab (Kapitel 1.1.2 Rauschdrogen, 3. Auflage, Springer-Verlag).

2.4 Delta-9-Tetrahydrocannabinol-Rezeptoren

1988 wurden zwei Δ^9 -THC-Rezeptoren, der CB1- und CB2-Rezeptor entdeckt.

Der **CB1-Rezeptor** wird überwiegend im zentralen Nervensystem exprimiert. Eine besonders hohe Dichte konnte in den präsynaptischen Nervenendigungen der Basalganglien, des Kleinhirns und bestimmter Teile des Kortex festgestellt werden.

„Die koordinative Aufgabe dieser Hirnregionen in Bereichen der Kognition und der Motorik erklärt die entsprechende Wirkung von Cannabis.“

Die höchste Dichte wurde im Hippocampus gefunden. Hippocampale Strukturen werden mit Gedächtnis und Lernfähigkeit in Zusammenhang gebracht. Eine der am besten untersuchten akuten Cannabiswirkungen beim Menschen ist die Wirkung auf das Kurzzeitgedächtnis, insbesondere in Testungen, die stark von Aufmerksamkeitsleistungen abhängen. Die beeinträchtigende Wirkung von Δ^9 -THC auf das Gedächtnis und die Lernfähigkeit werden dieser hohen Rezeptordichte zugeschrieben.“ (Andor E. Simon 2004)

Eine nur geringe Rezeptordichte stellte man in tieferen Hirnstammregionen, wie z.B. im Hirnstamm, der Medulla oblongata und dem Hypothalamus fest. „Da diese Hirnregionen kardiovaskuläre und respiratorische Funktionen regulieren, erklärt sich die verhältnismäßig geringe akute Toxizität und Letalität durch Cannabis.“ (Andor E. Simon 2004).

Der **CB2-Rezeptor** wird hauptsächlich von Immunzellen produziert und exprimiert (Huffman 2005).

Man fand ihn histologisch im Milzrandbereich, in Lymphknoten und in den Pey-er'schen Plaques, einem in der Dünndarmschleimhaut liegenden Lymphfollikel (Wright 2005).

In der Dünndarmschleimhaut hat sowohl der CB2-Rezeptor, als auch der CB1-Rezeptor eine immunmodulatorische Wirkung. Die Expression des CB2-Rezeptors kann jedoch bei entzündlichen Darmerkrankungen stark ansteigen (Wright 2005).

Beide Cannabisrezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (Mackie 2005).

Sie haben sieben hydrophobe Transmembran-Domänen, welche durch hydrophile extra-, beziehungsweise intrazellulär liegende Bereiche, verbunden werden. Die Rezeptoren können an verschiedenen G-Proteine gekoppelt sein (Demuth 2005).

Durch die Bindung von Guanosintriphosphat (GTP) an den Rezeptor, dadurch ausgelöste Konformationsänderung und Dissoziation der einzelnen Rezeptoruntereinheiten, können verschiedene Effektorwege aktiviert oder gehemmt werden.

Der **CB1-Rezeptor** bewirkt über ein inhibitorisches G-Protein (G_i -Protein) eine Hemmung der Adenylatcyclase. Hierdurch kommt es zu keiner bzw. zu einer geringeren Bildung des cyclischen Adenosinmonophosphates (cAMP).

cAMP ist ein „second messenger“, der zum Beispiel die Proteinkinase A oder Ionenkanäle beeinflusst.

Durch einen gesenkten cAMP-Spiegel kommt es beispielsweise seltener zu einer Öffnung des L-Typs von Kalziumkanälen, welche ihrerseits eine Senkung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration in Neuronen zur Folge hat. Diese verminderte Ca^{2+} -Konzentration führt über eine gesenkte Neurotransmittersekretion zu einer geringeren Konzentration derselben im synaptischen Spalt (Ohno-Shosaku 2005) und damit zu einer verminderten Übertragung neuronaler Informationen.

In tierexperimentellen Studien konnte man auch einen Zusammenhang zwischen den Zellgebieten des dopaminergen Systems und der CB1-Rezeptorexpression feststellen. So werden beispielsweise CB1-Rezeptoren in Affen und Rattengehirnen in den mesozephalen Zellgruppen A 8, 9, 10 oder im Hypothalamus vermehrt mit D1/2-Rezeptoren koexprimiert. Auch konnte man feststellen, dass eine akute Blockade der CB1-Rezeptoren in eben diesen Regionen eine ähnliche Wirkung wie D2-

Rezeptoragonisten auf den Bewegungsablauf hatten. Aus diesen Gründen schloss man, dass die Wirkung der Cannabinoide eventuell zur Therapie des M. Parkinson ausgenutzt werden könnte (Rogriduez de Fonseca 2001).

Ein weiterer Beweis für den Zusammenhang der CB1-Rezeptoren mit dem dopaminergen Systems ist die Wirkung von Δ^9 -THC auf das Tourette-Syndrom. Aus den genannten Gründen werden hier vor allem die motorischen Ticks stark verringert. Daher wird vermutet, dass Δ^9 -THC die Dopaminfreisetzung im Striatum herabsetzt, wodurch die Überstimulation des motorischen Systems gesenkt wird (Guiffrida 1999).

Weitere Einsichten über die Wirkungen der CB1-Rezeptoren fand man durch Studien über die als pro- aber auch als antikonvulsiv bekannte Wirkung des Δ^9 -THCs heraus. Man stellte fest, dass die Koexpression von CB1-Rezeptoren bei aktivierenden glutaminergen Neuronen eine antikonvulsive Wirkung, die Koexpression bei GABAergen Neuronen eine prokonvulsive Wirkung hat. Daraus schloss man, dass das endogene Cannabinoidsystem, sowohl die Wiederaufnahme, als auch die Degradation von endogenen Transmittern beeinflusst (Lutz 2004).

2.5 Endogene Liganden der Cannabinoidrezeptoren

Endogene Liganden der CB-Rezeptoren sind Arachidonsäure-Derivate: Amandamid, Palmitylethanolamid oder auch das 1995 nachgewiesene 2-Arachidonylglycerol. Die Wirkung dieser endogenen Substanzen hält aber nur wenige Minuten an, was bedeutet, dass sie nahe am Wirkort freigesetzt und durch entsprechende Enzyme schnell wieder abgebaut werden.

Da Arachidonsäurederivate nachgewiesener Maßen an der Schmerzentstehung und Schmerzweiterleitung beteiligt sind, wurde vermutet, dass Δ^9 -THC auch als Analgetikum wirken könnte.

Durch eine Studie bewies man, dass Endocannabinoide entweder direkt über CB-Rezeptoren den Schmerz hemmen oder durch vermehrte Ausschüttung von Dynorphin κ -Rezeptoren aktiviert und somit dem Schmerz entgegen wirken können (Gardell 2002).

Diese Vermutung wird auch durch eine Studie des University Health Centers in Montreal bestärkt. In dieser Studie werden verschiedene Schmerzarten (myofazialer,

chronischer und akuter posttraumatischer Schmerz) durch Cannabinoide erfolgreich behandelt (Ware 2003).

Ein weiterer Beweis für die Schmerzeinwirkung auf einer anderen Ebene als Opiate und Morphine konnte man in einem Tierversuch mit diabetischen Mäusen nachweisen, die an einer diabetischen Polyneuropathie litten. Man stellte fest, dass Morphine und Opiate bei diesen Mäusen keine Schmerzlinderung erzielten, Cannabinoide jedoch eine gute schmerzlindernde Wirkung hatten. Daraus schloss man, dass Cannabinoide einen anderen Wirkort als Morphine und Opiate haben müssen (Dogrul 2004).

Andere Studien beweisen, dass die Kombination von Δ^9 -THC und Morphinen zu einer stärkeren Schmerzreduktion führen, als jeder der Stoffe für sich (Naef 2003).

2.6 Heutige Indikationen von Delta-9-Tetrahydrocannabinol

Heutige Indikationen des Δ^9 -THCs sind zum Beispiel, Spastiken bei Multipler Sklerose und Querschnittslähmungen. Bei diesen Erkrankungen ist die Wirksamkeit individuell sehr verschieden. Man konnte aber eine direkte Beeinflussung von Muskelzittern, Schmerzzuständen und Missempfindungen nachweisen. Auch verbesserte Δ^9 -THC bei diesen Erkrankungen die Blasen- und Darmfunktionen.

Andere erfreuliche Ergebnisse sind auch beim Tourette-Syndrom oder anderen Bewegungsstörungen, wie z.B. Torticollis spasmodicus und tardiven Dyskinesien, zu verzeichnen (s.S. 13).

Bei diesen Patienten konnte man durch Δ^9 -THC die „Ticks“, vor allem die motorischen, stark verringern. Bei einigen Patienten wurde sogar eine völlige Beschwerdefreiheit erzielt.

In den achtziger Jahren wandte man Δ^9 -THC auch bei chemotherapeutischen Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen oder bei Gewichtsabnahme von AIDS- oder Hepatitispatienten an. Diese Indikationen waren über längere Zeit in Vergessenheit geraten. Die Wirkung wurde erst neuerdings wieder durch Studien bewiesen. Hier verbesserte sich unter Δ^9 -THC-Gabe der Appetit, die Muskelschmerzen, die Übelkeit, die Anorexie und vieles mehr (Woolridge 2005).

Seit einigen Jahren setzt man Δ^9 -THC auch bei chronischen Schmerzzuständen wie zum Beispiel der Fibromyalgie oder bei Phantomschmerzen ein. Nach dem WHO-Stufenprinzip wird Δ^9 -THC auf Stufe 3 eingeordnet und fällt so unter das Betäubungsmittel-Gesetz. Da Δ^9 -THC für eine Monotherapie ungeeignet ist, sollte es in ein schmerztherapeutisches Gesamtkonzept eingegliedert werden. Außerdem vermag Δ^9 -THC in Kombination mit Opiaten, deren Gesamtdosis und damit auch deren Nebenwirkungen zu senken.

2.7 Nebenwirkungen von Delta-9-Tetrahydrocannabinol

Δ^9 -THC hat aber nicht nur positive Wirkungen, sondern wie jedes Medikament auch Nebenwirkungen. Man unterscheidet zwischen Kurzzeit- und Langzeitnebenwirkungen.

Zu den Kurzzeitnebenwirkungen gehören: Mundtrockenheit, erweiterte Pupillen- als Folge eines gesenkten Augeninnendrucks-, leicht erniedrigte Körpertemperatur und Blutdruckabfall.

Die Langzeitnebenwirkungen sind vielfältiger Natur. Zum einen umfassen sie z.B. Lungenkrebs, da es bei inhalativem Konsum zu einer zwanzig mal höheren Konzentration an Schadstoffen kommt, als beim Zigarettenkonsum.

Zum anderen wird das Aufbrechen von latenten Psychosen, vor allem den schizoiden Psychosen, bei Dauergebrauch beschrieben.

In einer Doppelblindstudie des „Institution Schizophrenia Biological Research Centers“ von West Haven wurde herausgefunden, dass durch regelmäßigen Cannabis-konsum sich nicht nur die Negativ- oder Positivsymptome einer Schizophrenie verstärken können, sondern dass Cannabis diese Menschen auch vulnerabler für das Ausbrechen einer Schizophrenie macht (D'Souza 2005).

Auch eine retrospektive Studie anhand von Autopsien schizophrener Patienten mit, bzw. ohne, Δ^9 -THC-Abusus zeigte, dass die Patienten ohne Abusus einen höheren Dopamintransporter- und Tyrosinhydroxylasegehalt im Nucleus caudatus hatten, als Patienten mit Δ^9 -THC-Abusus (Dean 2003).

Eine weitere Langzeitnebenwirkung konnte man sowohl in Tierversuchen, als auch in in-vitro-Versuchen feststellen: Die Immunsuppression. Man stellt fest, dass sowohl

die Sekretion, als auch die Funktion der Zytokine durch Δ^9 -THC verändert wurde (Croxford 2005).

Das Bundesinstitut für Bildung und Forschung fand zusätzlich heraus, dass CT3, ein synthetisches Molekül, welches dem Abbauprodukt von Δ^9 -THC sehr ähnelt, höchst wahrscheinlich einen COX-2-Inhibitor darstellt (Zurier 1998, Ramer 2003). Dies wäre eine Erklärung sowohl für die analgetische, als auch für die immunmodulatorische Wirkung des Δ^9 -THCs (Dyson 2005).

Auch vermutet man neuerdings einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und der Überexpression von CB1-Rezeptoren im Darm (Massa 2005).

Da eine mögliche Immunsuppression für Patienten eine sehr schwerwiegende Nebenwirkung darstellt, wurde dies in der hier beschriebenen Studie untersucht.

Hierzu bediente man sich der Immunphänotypisierung, indem man die Zusammensetzung der immunkompetenten Zellen im Blut durch die Bindung spezifischer Antikörper an Oberflächenantigene untersuchte.

Gesondert und schon vorab hervorzuheben ist das Oberflächenantigen Valpha 24 ($V\alpha 24$).

$V\alpha 24$ wird von NK-Zellen und T-Helferzellen exprimiert.

Neben aktivierten T-Zellen und B-Zellen spielen auch NK-Zellen eine wichtige Rolle bei der Tumorabwehr.

NK-Zellen sind Elemente der angeborenen Immunität. Ihre spezifische Erkennung durch Oberflächenrezeptoren entsteht nicht neu, sondern ist in der Keimbahn festgelegt. Die NK-T-Zellen spielen eine Sonderrolle, weil sie einen konstanten

T-Zellrezeptor mit alpha/beta Struktur exprimieren, der sich immer aus der $V\alpha 24$ - und der $V\beta 11$ -Kette zusammensetzt. Der $V\alpha 24/V\beta 11$ -Komplex scheint Glykolipide im Kontext von CD1a zu erkennen und bei bakteriellen Infektionen und bestimmten Tumoren eine wichtige Rolle zu spielen, indem er diese NK-T-Zellen zur Zytotoxizität aktiviert.

Gleichzeitig werden die NK-T-Zellen z.B. durch α -Galaktosylceramid stimuliert, wodurch sie vermehrt $V\alpha 24$ bilden, was sich zytotoxisch auf ihre Zielzellen auswirkt. $V\alpha 24$ stellt somit einen Antigenrezeptor für NK-T-Zellen dar (Kawano 1999).

Auch wurde festgestellt, dass Mäuse, welche mit α -Galaktosylceramid stimuliert wurden, entweder bestehende Tumore rückbildeten oder, trotz kanzerogener Einwirkung, keine Tumore ausbildeten (Kawano 1999)

2.8 Fragestellungen der vorliegenden Studie

- I. Beeinflusst Δ^9 -THC die Immunrekonstitution nach operativem Trauma?
- II. Welche immunologischen Oberflächenantigene der Δ^9 -THC positiven Gruppen verändern sich stark zur Δ^9 -THC negativen Gruppe?
- III. Haben die gefundenen Oberflächenantigene einen Bezug zur Tumorimmunität?
- IV. Sollte aufgrund der gefundenen Ergebnisse Δ^9 -THC zur partiellen Substitution eines Opiats verabreicht werden?

3. Material und Methoden

In den folgenden Abschnitten wird auf den Studienaufbau, die Randomisierung, die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie, entstandene Probleme und die Bearbeitung und Auswertung der Ergebnisse nacheinander eingegangen.

3.1 Studiendesign

Die Studie ist als Therapie-Kontroll-Studie aufgebaut.

Hierzu werden 100 Patienten, welche einer großen Operation- der radikalen Prostatektomie- zugeführt werden mussten, ausgewählt.

Die Art der Prüfung sollte monozentrisch, randomisiert, doppelblind und placebokontrolliert im Parallelgruppenvergleich sein.

3.1.1 Randomisierung

Mit Hilfe eines EDV-Zufallsgenerators werden 100 Zufallszahlen erstellt. Jede Medikamentennummer in der Reihenfolge 1-100 wird nun mit einer Zufallszahl, entsprechend ihrem fortlaufenden Erscheinen aus dem Zufallsgenerator, versehen. Zufallszahlen und fortlaufende Medikamentennummern sind jetzt fest miteinander verbunden. Die Zufallszahlen werden der Größe nach geordnet, dadurch werden die Medikamentennummern „zufällig in Unordnung“ gebracht. Die fortlaufenden Zufallszahlen werden jetzt in Blöcken A (1-50) und B (51-100) geordnet. Mit einem Münzwurf wird entschieden, ob Block A oder Block B „Verum“ ist; der komplementäre Block ist dann „Placebo“. Dies wird auf jeder Zufallszahl/Medikamentennummer vermerkt. Nun werden jeweils 50 Zubereitungen „Verum“ und 50 Zubereitungen „Placebo“ hergestellt und verpackt. Die 50 „Verum“-Präparate werden mit den Etiketten des Zufallszahlenblockes „Verum“ versehen, die 50 „Placebo“-Präparate mit den Etiketten der Zufallszahlen „Placebo“ versehen. Jetzt werden die Medikamentenzubereitungen wieder entsprechend der fortlaufenden Medikamentennummern 1-100 geordnet. Dadurch entscheidet nur der Zufall, ob ein bestimmter Patient „Verum“ oder „Placebo“ erhält. Bei einem schwerwiegenden unerwünschten Ereignis erhält jede Arzneimittel-

zubereitung zur Dekodierung einen verschlossenen Umschlag. Der Inhalt informiert den Prüfarzt darüber, ob das an den Patienten verabreichte Präparat „Verum“ oder „Placebo“ ist.

Als Verumpräparat werden 5mg Δ^9 -THC in Hartgelantinekapseln in der Apotheke des Universitätsklinikums hergestellt, das Placebopräparat ist eine Hartgelatine kapsel ohne Inhaltsstoff.

Die Medikamentengabe beginnt am Abend um 22.00 Uhr vor der Operation mit einer Kapsel. Weitere zwei Kapseln werden am Morgen des Operationstages zwischen 6.00 Uhr – 7.00 Uhr, weitere einzelne Kapseln am Operationstag um 14.00 Uhr und um 22.00 Uhr verabreicht.

Am ersten postoperativen Tag bekommen die Patienten gegen 6.00 Uhr zwei Kapseln und gegen 14.00 Uhr und 22.00 Uhr wieder je eine Kapsel. Die letzten zwei Kapseln bekommen alle Patienten am zweiten postoperativen Tag um 6.00 Uhr morgens.

An jedem dieser Tage werden den Patienten für die Immunphänotypisierung Blut entnommen.

Als zusätzliche Schmerzmedikation verfügt jeder Patient über ein PCA-Gerät, mit dem er sich bedarfsgerecht einen oder mehrere Bolusgaben Piritramid applizieren kann. Natürlich ist auch jede weitere Eskalation der Schmerztherapie möglich.

3.1.2 Komedikation bzw. Schmerzmedikamente

Zur Anästhesie bei der Operation werden in der Regel folgende Medikamente wirksamkeitsangepasst appliziert:

- Einleitungshypnotikum: Propofol
- Opioidanalgetika: Fentanyl und Remifentanyl (Ultiva®)
- Muskelrelaxans: Rocuroniumbromid (Esmeron®)
- Inhalationsanästhetikum: Desflurane

In der postoperativen Phase (48 Stunden) soll auf ein Nichtopioidanalgetikum, Metamizol, verzichtet werden, obwohl es sonst in dieser Phase mit Piritramid appliziert wird.

Piritramid (Dipidolor®) wird betäubungsmittelrechtlich nicht von dem Prüfarzt, sondern durch das Anästhesie- bzw. Intensiv- und Stationspersonal in einem dafür vorgesehenen Betäubungsmittelbuch protokolliert.

Piritramid, ein schwaches Opioidanalgetikum und findet bei starken und stärksten Schmerzen Anwendung.

Nebenwirkungen sind Singulus, Blutdruckabfall, Tachykardie und Schwindel. Das Risiko der Abhängigkeit nimmt mit höherer Dosierung und längerer Anwendungsdauer zu. Zudem kann Piritramid auch eine Kreuztoleranz mit anderen Opioiden auslösen.

3.1.3 Studieneinschlusskriterien

- Jeder Patient der urologischen Klinik mit einem Prostatakarzinom, bei dem eine „radikale Prostatektomie“ vorgesehen ist
- ASA-Risikogruppen, nur Gruppen 1, 2 und ggf. 3
- Schriftliche Einwilligung des Patienten

3.1.4 Studienausschlusskriterien

- Patienten, bei denen die Einschlusskriterien nicht erfüllt sind
- Aus der Anamnese bekannte psychotische oder affektive Störungen, Angst-, und Panikstörungen, Suchterkrankungen
- Mittelschwere bis schwere Lebererkrankungen (Transaminasen > 50mU/l, γ GT > 150mU/l)
- Niereninsuffizienz (Plasmakreatinin > 150 μ mol/l)
- Dekompensierte Herzinsuffizienz (NYHA >3)
- Instabile koronare Herzerkrankung
- Instabiler Hypertonus

- Dauermedikation mit Analgetika und Koanalgetika wegen chronischer Schmerzen
- Patienten mit schwerer kognitiver Beeinträchtigung, die eine korrekte Anamneseerhebung, gültige Studieneinwilligung, die Handhabung des PCA-Gerätes und die Selbstbeurteilung ihrer postoperativen Schmerzen fragwürdig erscheinen lassen

3.1.5 Verlauf der durchgeführten Operation

Durchführung einer Unterbauchlaparotomie: Nach dem Durchtritt durch die Haut, wird das Endoskop in den paravesikalen Raum vorgeschoben. Anschließend wird eine Lymphadenektomie nach den MSKCC-Kriterien durchgeführt. Nach Inzision der endopelvinischen Faszien und Raffung derselben auf den Blasen Hals werden die puboprostatistischen Bänder marginal inzidiert, der Plexus prostaticus sukzessive mit 2.0 Vicrylnähten umstochen und mit der Schere abgesetzt. Anschließend wird die Harnröhre ventral eröffnet, die 3 ventralen Anastomosennähte vorgelegt und die hintere Harnröhrenkommissur durchtrennt. Die Vorderwand des Rektums wird freipräpariert, die Samenblasen und die Ducti deferentes mit Overholt-Klemmen abgesetzt. Weitere deszendierende Präparation bis zur Prostata am Blasen Hals und deren Entfernung. Evertierung der Blaseschleimhaut mit 4.0 Vicrylnähten und Rekonstruktion des Blasen Halses mit 2.0 Vicrylnähten. Danach wird der Silikondauerkatheter durch die Harnröhre bis in die Blase gelegt, die Anastomosennähte durch den Blasen Hals gestochen und verknotet. Einlage einer 216 Charr. Redon-Drainage ins kleine Becken. Durchgreifende Faszien- und Muskelrückstichnähte. Dann Subkutannaht und Einlage einer subkutanen Redon-Drainage. Anschließend Hautnaht und steriler Verband.

Da es bei dieser Operation zu einem großen Blutverlust kommt, erhält ein Teil der Patienten Erythrozyten-Konzentrate oder Frischplasma (Fresh Frozen Plasma = FFP). Diese Blutprodukte enthalten jedoch keine Leukozyten und verändern somit das Ergebnis der Studie nicht.

3.1.6 Ethikkommission

Der Prüfplan wird vor Beginn der Studie der Ethikkommission der Universitätsklinik Ulm vorgelegt.

Benachrichtigungen und Berichte an Ethikkommissionen erfolgen durch den Leiter der klinischen Prüfung entsprechend den Vorgaben der ICH-GCP-Guideline im Rahmen der zu berücksichtigenden bundesdeutschen Vorschriften.

3.1.7 Probleme im Verlauf der Datenauswertung

Ein Problem in der Auswertung der Ergebnisse ergibt sich aus den oben erwähnten Einschlusskriterien. Diese schränken ausschließlich das Patientengut einer Schmerztherapiestudie ein. Einflussgrößen des Immunsystems auf die spezielle Situation eines Tumorpatienten konnte durch die fehlenden Untersuchungen altersgemachter Kontrollpersonen nicht beurteilt werden.

Auch wurde in der Interpretation der Daten keine weiteren, das Immunsystem beeinflussenden Erkrankungen, wie Zweitumore und chronisch entzündliche Erkrankungen, sowie keine anderen immunmodulatorischen Medikamente, wie Glukokortikoide usw. berücksichtigt.

Wie eingangs schon erklärt, wird jedem Patienten an drei Tagen Blut entnommen, mit einem standardisierten Immunphänotypisierungsprotokoll gemessen und ausgewertet. Hierfür sind dreißig immunologische Marker ausgewählt worden, deren veränderte Oberflächenexpression auf Zellen des peripheren Blutes untersucht werden soll.

Die wichtigsten immunologischen Marker werden paarweise zusammengefasst, so dass auch die Koexpression untersucht werden kann, welche ein zusätzliches Differenzierungskriterium darstellt. Die Expression des Markerprofils wird mit Hilfe der Software des Durchflusszytometers qualifiziert. Nach Übertragung in eine Datenbank können Abfragen generiert werden, welche im weiteren Verlauf zu spezifischen Berechnung eingesetzt werden können.

3.2 Versuchsdesign

3.2.1 Durchflusszytometrie oder FACS-Analyse

Die Durchflusszytometrie wird in der Medizin zur Untersuchung von antigenen Eigenschaften der Blutzellen eingesetzt.

Während die Zellen hintereinander durch eine ovale Messkammeröffnung (ca. $60\mu\text{m} \times 120\mu\text{m}$) (= "nozzel") gedrückt werden, kann man verschiedene Eigenschaften von Zellen und anderen Teilchen untersuchen.

Für die meisten Anwendungen der Durchflusszytometrie verwendet man eine Messkammer („flow cell“ = Flusszelle) aus Glas, in der jede einzelne Zelle beim Durchfließen von der Seite mit einem Laserlicht angestrahlt wird.

Aufgrund der verschiedenen Eigenschaften einer Zelle entsteht beim Bestrahlen mit Laserlicht Streulicht. Je größer die Zelle ist und je mehr Membranvesikel in ihrem Inneren sind, desto größer ist das entstehende Streulicht. Durch die Messung des Streulichtes kann man so biophysikalische Eigenschaften einzelner Leukozytensubpopulationen (Größe, Membranrigidität, Granularität und Clusterbildung) untersuchen und dokumentieren. Dazu wird das Streulicht des senkrecht und im 90° Winkel auf die Zelle gerichteten Laserstrahls gemessen.

Folgende Arten von Streulicht können gemessen werden:

- 1.) Streulicht, fast in der Richtung des ursprünglichen Strahls = Vorwärtsstreulicht (FSC)
- 2.) Streulicht, etwa im 90° Winkel zum ursprünglichen Strahl = Seitwärtsstreulicht (SSC)

3.2.1.1 Vorwärtsstreulicht (FSC)

Das Vorwärtsstreulicht hängt vor allem von der Größe einer Zelle ab. Das heißt, kleine Zellen verursachen ein kleines Vorwärtsstreulicht, große Zellen ein großes.

3.2.1.2 Seitwärtsstreulicht (SSC)

Das Seitwärtsstreulicht hängt neben der Größe auch stark von intrazellulären Strukturen ab. Finden sich in der Zelle sehr viele Lysosomen (kleine Enzym-speichernde Vesikel), dann verursacht sie ein großes Seitwärtsstreulicht. Finden sich nur wenige Lysosome in der Zelle, dann ist das Seitwärtsstreulicht gering.

Man kann also sagen: Das Seitwärtsstreulicht hängt von der Granularität einer Zelle ab. Hohe Granularität bedeutet hohes Streulicht und umkehrt.

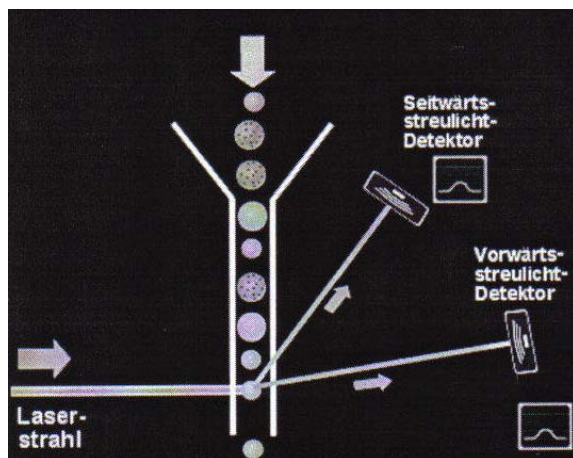


Abb. 2: Darstellung des Prinzips eines Durchflusszytometers mit Laserstrahlengang, Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht sowie deren Detektoren

Um die Streulicht-Messergebnisse zu verdeutlichen, werden die Zellen in einer Grafik, einem sog. Dot-Plot, dargestellt. Dabei ist auf der x-Achse das Vorwärts- und auf der y-Achse das Seitwärtsstreulicht aufgetragen.

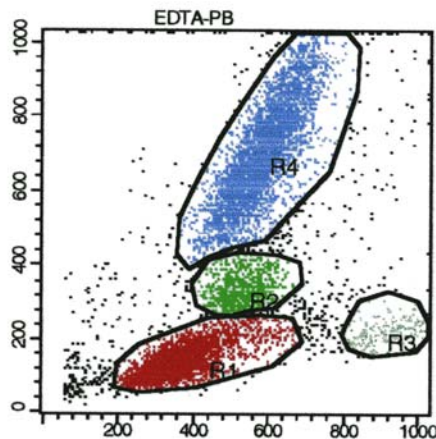


Abb. 3: Dot-Plot-Darstellung mit Auftragung des Vorwärtsstreulichtes auf x-Achse und des Seitwärtsstreulichtes auf der y-Achse, sowie die „Gates“ R1 (Lymphozytenpopulation), R2 und R4 (Monozytenpopulation) sowie R3 (Polymorph nuclear cells)

In dem dargestellten Dot-Plot kann man verschiedene Populationen von Zellen erkennen, die offenbar ähnliche Streulichteigenschaften haben. Sie sind hier mit R (= region) und einer Ziffer von 1 bis 4 bezeichnet.

R1: Lymphozyten, kleine Zellpopulation mit niedrigem FSC und SSC

R2 und R4: Monozytenpopulationen

R2: etwas höheres FSC und SSC als R1

R4: höheres FSC, niedriges SSC, wobei die SSC-Werte bei R2 etwa gleich hoch sind wie die Werte von R4

R3: PMN, große Population mit starker SSC-Ausbreitung und mäßigem FSC (vielleicht eosinophile Granulozyten)

Um die dargestellten Regionen aufzuzeigen, wird eine weitere wichtige Auswertetechnik der Durchflusszytometrie angewandt: Das Gaten. Ziel des Gatens ist, die Zellen auszuwählen, welche am interessantesten sind. Will man z.B. Lymphozyten mit bestimmten Oberflächenantigenen untersuchen, würden Monozyten oder Granulozyten die Darstellung der Lymphozyten stören. Daher gibt man dem Computerprogramm die wichtige Region im Streulichtdiagramm an, wodurch nur die Zellen dieser Region in dem Fluoreszenz-Dot-Plot dargestellt werden.

3.2.2 Markierung der Zellen

Will man ein bestimmtes Merkmal einer Zelle untersuchen, muss man dieses Merkmal markieren. Dies geschieht mit einem Antikörper, der gegen dieses Merkmal gerichtet ist.

Für jede Analyse, werden 50 µl Blut, das mit EDTA ungerinnbar gemacht wurde, mit 3–5 ng von FITC- und PE-markierten monoklonalen Antikörpern inkubiert, um damit die verschiedenen Leukozytenoberflächenantigene nachzuweisen.

Nach 30 min Inkubation und Lyse der Erythrozyten und Thrombozyten durch die FACS-Lyse-Lösung (Becton Dickinson), wäscht man die Zellen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Danach wird die markierte Zellpopulation im Durchflusszytometer (FACScalibur, Becton Dickinson) gemessen.

Verschiedene Markierungen FITC und PE der monoklonalen Antikörper werden zur Differenzierung der Subpopulationen in Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten verwendet.

Die FITC-Markierung entspricht einer Grünfluoreszenz und wird auf der x-Achse dargestellt. Die PE-Markierung fluoresziert rot und wird auf der y-Achse aufgetragen.

Danach werden die Fluoreszenzmessungen wieder in einer anschaulichen Grafik der Dot-Plots dargestellt.

Zur Auswertung werden die Dot-Plots in vier Quadranten eingeteilt: UL: upper left (oben links), LL: lower left (unten links), UR: upper right (oben rechts), LR: lower right (unten rechts).

Der Anteil der Zellen in jedem Quadranten wird getrennt dargestellt und tabellarisch angegeben.

Hier sind die für diese Versuchsreihe verwendeten monoklonalen Antikörper, ihre Fluoreszenzfarbe und ihre Kombinationen für die Markierung aufgelistet.

Universitätsklinikum Ulm – Experimentelle Anästhesiologie

Patienten-Typisierung

Datum: _____ # _____ Name: _____

Einsender: _____ Material: _____ µl EDTA-PB / Tube

- 1) Isotyp: **Mouse IgG1 FITC**(BD) / **Mouse IgG2a PE** (BD Kombi)
- 2) Leucogate: **CD45 FITC** (*IgG1*) / **CD14 PE** (*IgG2a*) (Kombi, BD)
- 3) **CD4 FITC** (*IgG1*) / **CD8 PE** (*IgG1*) (Kombi, Immunotech)
- 4) **Anti-TCR α/β -1FITC** (*IgG1*)(BD) / **CD 3PE** (*IgG1*) (BD)
- 5) **CD57 FITC** (*IgM*) (BD) / **CD69 PE** (*IgG1*) (BD)
- 6) **CD80 FITC** (*IgG1*) (Immunotech) / **CD2 PE** (*IgG1*) (Immunotech)
- 7) **CD86 FITC** (*IgG1*) (BDPharMingen) / **CD2 PE** (*IgG1*) (Immunotech)
- 8) **CD3 FITC** (*IgG1*) (Immunotech) / **Cytotox PE**(*IgG1 K-mouse*)(Immunotech)
- 9) **CD3 FITC** (*IgG1*) (Immunotech) / **CD 56 PE** (*IgG1*) (BD)
- 10) **CD16 FITC** (*IgG1*) (PharMingen) / **CD56 PE** (*IgG1*) (BD)
- 11) **CD23 FITC** (*IgG1*) (DAKO) / **CD19 PE** (*IgG1*) (Dako)
- 12) **CD39 FITC (1:10)** (*IgG1*) (Serotech) / **CD40 PE** (*IgG1*) (Immunotech)
- 13) **CD64 FITC** (*IgG1*) (Immunotech) / **CD25 PE** (*IgG1*) (BD)
- 14) **CD1a FITC** (*IgG2a*) (Dako) / **CD83 PE** (*IgG2b*) (Immunotech)
- 15) **CD95 FITC** (*IgG3*) (Alexis)(APO 1-3) / **CD95 PE** (*IgG1*) (BD)
- 16) **CD56 FITC** (*IgG1*) (BD) / **CD161 PE** (*IgG1*) (PharMingen)
- 17) **Anti-HLA-DR FITC** (*IgG2a*) (BD) / **CD123 PE** (*IgG1*) (**1:20**) (PharMingen)
- 18) **CD163 FITC (1:10)** (*IgG1*) (BMA) / **V Alpha 24 PE** (*IgG1*) (Immunotech)
- 19) **Anti-TCR α/β -1FITC** (*IgG1*)(BD) / **CD 117 PE** (*IgG1*) (Immunotech)
- 20) **TLR 2 FITC** (*IgG2a*) (Bioscience) / **TLR 4 PE** (*IgG2a*) (Serotech)

Abb. 4: Patienten-Typisierung mit verwendeten monoklonalen Antikörpern CD (CDx= Cluster of Differentiation und mit dem Anti-T-Zellrezeptor mit den Ketten α und β (Anti-TCR α/β), den Toll-like Rezeptoren (TLR), dem humanen Leukozyten Antigen der Klasse II (HLA-DR), WT31 und Valpha24 (V α 24)) in Röhrchen 1)-20); FITC-Markierung entspricht der Grünfluoreszenz und der Ausbreitung der Expression entlang der x-Achse; PE-Markierung entspricht der Rotfluoreszenz und der Ausbreitung der Expression entlang der y-Achse

3.3 Molekulare Grundlagen der Cluster of Differentiation (CD)

Bei den CD-Molekülen handelt es sich meistens um membrangebundene Glykoproteine, welche teilweise zellspezifisch exprimiert werden und verschiedenste Funktionen haben können: Einige CDs haben Rezeptor- oder Signalfunktion, während bei anderen enzymatische Aktivität nachgewiesen werden konnte; darüber hinaus wird einigen Clustermolekülen eine zentrale Rolle bei der interzellulären Kommunikation zugeschrieben.

Nachdem es Köhler und Milstein Ende der 70er gelungen war, monoklonale Antikörper herzustellen, wurden innerhalb weniger Jahre hunderte verschiedener Klone mit meist unterschiedlichen, teils aber auch überlappenden Spezifitäten generiert. Hierbei war die molekulare und genetische Identität des erkannten Merkmals jedoch meist unbekannt. Um eine Ordnung in das Chaos zu bringen, wurden 1981 zum ersten Mal Antikörper, die das gleiche Merkmal erkannten, in Gruppen zusammengefasst.

Nach der vorletzten Human Leukocyte Differentiation Antigens (HLDA) Konferenz im Jahr 2000 umfasst die CD Nomenklatur 247 Cluster (CD1 – CD247), welche teilweise noch weiter unterteilt werden (z.B. CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ oder CD8a, CD8b).

Das Zusammenfassen in ein Cluster heißt nicht, dass die Antikörper notwendigerweise das gleiche Epitop des Proteins erkennen müssen. Des Weiteren sind auch Überschneidungen im Erkennungsspektrum der Antikörper möglich.

Die CD Nomenklatur bezieht sich ursprünglich auf den Menschen, jedoch werden den orthologen Proteinen in anderen Spezies (vor allem der Maus, aber auch anderen) die entsprechenden Cluster zugewiesen. Um Verwechslungen zu vermeiden, wird in unklaren Fällen dem CDxx ein Spezies-Kürzel vorangestellt (z.B. hCD4: humanes CD4 oder mCD25: Maus CD25).

Zu beachten ist außerdem, dass Protein- und Genname nicht identisch sein müssen: mCD161c (CD) –NKR-P1C (Protein) und bei Ly55c handelt es sich um das kodierende Gen.

Im Laufe der Differenzierung der einzelnen Zellen verändert sich ihre CD-Expression. Anhand dieser kann man auch die einzelnen Entwicklungsstufen der immunologischen Zellen differenzieren.

Im Folgenden werden nun die verwendeten Oberflächenantigene in ihrer physiologischen Wirkung, Expressionsort, Struktur und molekularen Wechselwirkungen beschrieben.

Um die Beschreibung der Zellen zu vereinfachen, werden die mit einem Oberflächenantigen positiven Zellen mit einem Pluszeichen (+) und die mit einem Oberflächenantigen negativen Zellen mit einem Minuszeichen (-) versehen.

3.4 Oberflächenantigene

3.4.1 Lymphatische Oberflächenantigene

3.4.1.1 T-lymphozytäre Oberflächenantigene

- **CD2:**
 - o Expressionsort:
 - o Gesamt-T-Zellen
 - o Thymozyten
 - o NK-T-Zellen
 - o NK-Zellen
 - o Funktion:
 - o Korezeptor
 - o bindet CD58 der Antigen-präsentierenden Zellen und induziert damit eine T-Zellantwort
 - o dadurch kommt CD2 eine wichtige Aufgabe zu, bei:
 - T- oder NK-Zell abhängigen Zytolyse
 - Apoptose-Induktion peripherer aktivierter T-Zellen
 - Zytokinproduktion
 - Regulierung der T-Zellaktivität
 - o Struktur:
 - o Typ-1-Transmembranprotein
 - o besitzt 2 Immunglobulin-ähnliche Domänen

- **CD3:**

- o Expressionsort:
 - o T- und NK-Zellen mit CD3-Immunaktivierungskomplex
 - o wird auf allen peripheren T-Zellen und Thymozyten exprimiert
 - o ist exprimiert mit Prä-TCR-Komplex auf CD4-/CD8- und auf CD4+/CD8+ Thymozyten bevor sich die TCR α -Kette bildet
 - o CD3 wird auch von NK-Zellen produziert, wobei dieses nicht auf der Zelloberfläche exprimiert wird, sondern nur zytoplasmatisch vorkommt
- o Funktion:
 - o der CD3-Komplex leitet das AG-Signal in das Zytoplasma der T-Zellen und reguliert damit deren TCR-Expression
 - o es spielt eine große Rolle in der Differenzierung der Thymozyten, die durch das CD3-Signal die TCR α -Kette bilden
- o Struktur:
 - o bildet mit TCR $\alpha\beta$ oder TCR $\gamma\delta$ den T-Zell-Rezeptor
 - o besteht selbst aus einem Komplex aus 6 Polypeptiden, welche 3 verschiedene Heterodimere bilden

- **CD8:**

- o Expressionsort:
 - o Zytotoxische und suppressive T-Zellen
 - o Thymozyten
 - o In Tierversuchen stellte man fest, dass die Differenzierung in die unterschiedlichen T-Helfer-Zellen einerseits von CD28 und die Differenzierung in die unterschiedlichen suppressiven Zellen andererseits von den verschiedenen CD4+ Helferzellen abhängt. Die unterschiedlichen Zellarten unterscheiden sich in ihrer Zytokinsekretion. Wird zum Beispiel eine CD8+ Zelle mit anti-CD3 und einem Recall-Antigen stimuliert, kommt es bei Kostimulation mit B7-Ig (= Ig gegen CD80 und CD86) zu einer vermehrten IL4 Sekretion (Bian 2005).

- o Funktion:
 - o Verschiedene Reaktionen auf das Antigen, welches mit Hilfe der Antigen-präsentierenden Zellen erkannt wird.
 - o CD8+ Zellen sind die hauptsächlichen Produzenten von IFN- γ . Versetzt man reife dendritische Zellen mit einer bestimmten Menge an entsprechenden Agonisten wird die Zellproliferation getriggert, die IFN- γ -Sekretion hingegen kaum. Versetzt man aber unreife dendritische Zellen mit der gleichen Menge an Agonist, wird viel IFN- γ sezerniert und die Zellproliferation hingegen wenig angekurbelt. Das zeigt, dass die IFN- γ -Sekretion unabhängig und umgekehrt proportional zur stimulatorischen Kraft der nativen T-Zellen ist (Hall 2004).
 - o In weiteren Tierversuchen, in denen man Mäusen Synovialmembran von rheumatisch erkrankten Patienten transplantierte und anschließend CD8+/CD56+ Zellen transfundierte, stellte man fest, dass diese Zellen stark antiinflammatorisch wirkten. Sie unterdrückten die Sekretion von IFN- γ , TNF- α und Chemokinen. Auch wurden die kostimulierenden Moleküle CD80 und CD86 auf synovialen Fibroblasten herab reguliert, was man als Zeichen einer Immunsuppression werten kann (Davila 2005).

- **CD4:**

- o Expressionsort:
 - o T-Helfer-Zellen
 - o Thymozyten
 - o periphere Blutmonozyten
 - o Gewebsmakrophagen
 - o Granulozyten
- o Funktion:
 - o Korezeptor des MHC-II-Antigens auf T-Zellen
 - o reguliert die B-Zelladhäsion bei der Antigenpräsentation
 - o reguliert die thymische Differenzierung

- o Struktur:
 - o gehört zur Ig-Supergen-Familie
 - o 4 extrazelluläre Ig-ähnliche Domänen
 - o eine intrazelluläre und eine transmembrane Domäne
 - o Disulfidbrücken zur Stabilisierung
 - o 2 N-linked Glykane
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o Extrazellulärer Rezeptor für:
 - MHC-II
 - HIV
 - IL16
 - Secretory actin-binding protein
 - Prolactin inducible protein
 - Extra-parotid glycoprotein
 - P56lck
- **CD25:**
 - o Synonym zu CD4+/CD25+ Zellen: T_{regulatorischen}-Zellen
 - o Funktion:
 - o In einer Studie stellte man fest, dass die CD4+/CD25+ Zellen im Lymphknoten den T/B-Zellquotienten senken (Battaglia 2003).
 - o IL-2-Rezeptor positive Zellen beeinflussen die Zellproliferation, das Zellüberleben und den programmierten Zelltod. In Versuchen stellte man fest, dass der IL-2-Rezeptor über den extrazellulären Signalweg der Janus-Kinase → STAT 5, Phosphatidylinositol-3-Kinase und Ras-mitogen-activated-Proteinkinase, die Genexpression verändert und damit die oben beschriebenen Zellfunktionen beeinflusst (Bensinger 2004).
 - o Struktur:
 - o Typ-1-Transmembranprotein
 - o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o CD25+/CD4+ Zellen werden im Thymus gebildet. In Tierversuchen mit Mäusen stellte man zusätzlich fest, dass diese

Bildung wohl IL-2 abhängig ist (Bayer 2005). Ebenso zeigte diese Studie, dass die entsprechenden Knock-out-Mäuse mehr autoimmune und lymphoproliferative Erkrankungen entwickelten als der nicht veränderte Wildtyp.

- o Koexprimieren zusätzlich I-CAM-1 und L-Selectin

- **CD69:**

- o Expressionsort:
 - o aktivierte B-Zellen und Monozyten
- o Funktion:
 - o ist ein Rezeptor der Signaltransduktion verschiedener Zellen
 - o ist involviert in der frühen Lymphozyten-, Monozyten- und Thrombozyten-Aktivität
 - o über intrazelluläre Calciumkonzentrationsänderung beeinflusst es die Zytokinbildung, die Plättchenaggregation und die Lyse durch NK-Zellen
- o Struktur:
 - o Homodimer verbunden durch Disulfidbrücken
 - o 1 oder 2 N-linked Oligosaccharide

- **WT31:**

- o Expressionsort:
 - o alle T-Zellerezeptor alpha/beta positiven T-Zellen
- o Funktion:
 - o erkennt den T-Zellrezeptor und die CD3 ϵ -Kette
- o Struktur:
 - o Homodimer verbunden durch Disulfidbrücken

3.4.1.2 B-Lymphozytäre Oberflächenantigene

- **CD40:**

- o Expressionsort:
 - o CD34+ hämatopoetische Progenitorzellen Differenzierungsmarker (auch der Makrophagen)
 - o B-Zellen, bis Pro-B-Zellen
 - o Makrophagen
 - o Follikuläre dendritische Zellen
 - o Endothelzellen
 - o Fibroblasten
 - o Keratinozyten
- o Funktion:
 - o spielt eine zentrale Rolle in der T-Zell abhängigen Immunantwort
 - o reguliert das B-Zell-Wachstum, die Differenzierung, und den Iso-typenwechsel
 - o ist ein Rescue-Signal gegen Apoptose der germinalen B-Zellen
 - o reguliert die Zytokinproduktion der Makrophagen und der dendritischen Zellen
 - o erhöht die Adhäsionsmoleküle auf den dendritischen Zellen und Keratinozyten
- o Struktur:
 - o gehört zur TNF-Rezeptor-Superfamilie
 - o Single-Chain Type-I-Transmembranprotein
 - o zysteinreiche extrazelluläre Domäne
 - o die intrazelluläre Domäne enthält wahrscheinlich zwei funktionelle Domänen
 - o enthält phosphorylierte Serin/Threonin-Reste
 - o enthält keine phosphorylierten Tyrosin-Reste

- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o In einer Studie fand man heraus, dass die CD40-Expression, sowie die Expression von MHCII auf immunologischen Zellen des Gehirns durch 17-Beta-Estradiol abnimmt, wohingegen die Expression von CD8, CD86 und CD28 unbeeinflusst bleibt und die von CD80 ansteigt (Dimayuga 2005).
- **CD19:**
 - o Expressionsort:
 - o alle reifen B-Zellen
 - o CD19 wird auf allen B-Zellen exprimiert
 - o zusätzlich auch auf den frühen B-Progenitorzellen und geht erst spät in der Differenzierung bei den Plasmazellen verloren
 - o Funktion / molekulare Wechselwirkungen:
 - o CD19 ist an den frühen Phasen der B-Zell-Aktivierung beteiligt
 - o wird CD19 durch Anti-Ag dimerisiert, erhöht sich intrazellulär das Calcium, wodurch die Proliferation der B-Zellen gehemmt wird
- **CD23:**
 - o Expressionsort:
 - o aktivierte B-Zellen und Monozyten
 - o auf folliculären Mantel-B-Zellen
 - o wird nicht auf Plasmazellen und B-Progenitorzellen exprimiert
 - o Funktion:
 - o vermehrte CD23-Expression bei B-Zell-Aktivierung
 - o hat eine proinflammatorische Funktion, d.h. triggert die Monokin-Freisetzung (TNF, IL-1, IL-6, GM-CSF) durch Monozyten
 - o Antikörper gegen CD23 sind involviert bei der Kollagen-induzierten Arthritis.
 - o Struktur:
 - o Typ-2-Transmembranprotein
 - o gehört zur Immunglobulin-Superfamilie
 - o ist ein IgE-Rezeptor mit niedriger Affinität = FcεR2; reguliert die IgE-Synthese meist mit negativem Feedback.

- **CD39:**

- o Expression:
 - o dendritische Zellen
- o Funktion:
 - o auf der Plasmamembran-Außenseite liegende ATPase.
 - o hydrolysiert Nukleotide und kontrolliert damit die extrazelluläre Menge der Nukleotide.
 - o Positive Zellen können nicht mehr in die Apoptose übergehen.

3.4.2 NK-Zell-Oberflächenantigene

- **CD161:**

- o Synonym: natürliche Killerzellen Rezeptor Protein 1 = NKR-P1
- o Expressionsort:
 - o NK-Vorläufer
 - o T-Lymphozyten und Gedächtniszellen
- o Funktion:
 - o Durch p56 wird die NK-Zytotoxizität induziert (Ljutic 2005).
 - o In Tierversuchen mit durch Inzucht erzeugten Ratten stellte man fest, dass je höher die CD161+ einfach positive NK-Zellzahl in Darmregionen ist, desto resistenter sind diese Ratten gegen die Manifestation eines kolorektalen Karzinoms. Man vermutet, dass die Anwesenheit CD161+ einfach positiver NK-Zellen durch ihre Zytotoxizität diese Resistenz auslöst (Hong Xu 2005).
- o Struktur:
 - o Homodimer, welche durch Disulfidbrücken verbunden sind
 - o gehört zu den Typ2-Transmembranproteinen
 - o hat einen C-Typ Lecin-Like-Rezeptor
 - o besteht aus verschiedenen Subtypen
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o Ist assoziiert mit der Tyrosinkinase, p56(lck).

- **CD56:**

- o Expressionsort:
 - o alle aktivierten NK-Zellen
 - o auf humanen natürlichen Killerzellen (NK)
 - o auf einer Untergruppe von CD4+ und CD8+ T-Zellen im peripheren Blut
 - o im Cerebellum und im Kortex und an neuromuskulären Verbindungen
- o Funktion / Struktur:
 - o Im ZNS verantwortlich für die homo- und heterophile Adhäsion durch N-CAM.
 - o gehört zur Ig-Supergen-Familie
 - o Auf NK- und T-Zellen stellt es eine Isoform von N-CAM dar.
 - o Die extrazelluläre Domäne enthält das N-CAM-Glykoprotein.
 - o besitzt eine Typ-III-Domäne

- **CD16:**

- o Expressionsort:
 - o alle FcR-Typ-III positiven Zellen
- o Funktion:
 - o Stimulieren T-Zellen, wodurch sie opsonierte Bakterien phagozytieren.
 - o leitet auch den Zelltod ein
 - o Durch die CD16-Expression wird die Zelle zur Antikörper-abhängigen Zytotoxizität befähigt.

- **V α 24 (V α 24):**

- o Expressionsort:
 - o von NKT-Zellen mit monomorphem T-Zellrezeptor exprimiert
- o Funktion:
 - o Aktivierung der T- und NK-Zellen zur Zytotoxizität.
 - o Durch α -Galactosylceramid stimulierte NKT-Zellen erkennen das Antigen über ihren Rezeptor, der die V α 24-Kette enthält (Kawano 1999).

Humane NK1-T-Zellen produzieren sehr schnell hohe Zytokinemengen wie IL-4, INF γ und spielen bei Entzündungen im Epithel eine wichtige Rolle.

3.4.3 Antigen-präsentierende Zellen

- **CD80:**

- o Expressionsort
 - o Antigen-präsentierende Zellen
- o Funktion:
 - o T-DC-Interaktionen
 - o Syn. B7.1, reguliert mit CD86 die T-Zellaktivität
- o Struktur:
 - o gehört zur Ig-Superfamilie
 - o Besitzt eine extrazelluläre V-Typ-Ig-Domäne und eine C-Typ-Ig-Domäne; beide sind stark glykolysiert, eine Transmembrandomäne.
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o Gehört als B7.1 zur CD28-Familie, welche auch CD86 als B7.2, inducible costimulator ligand (ICOS-L), programmed death-1-Ligand (PD-L1), programmed death-2-Ligand (PD-L2) und andere Moleküle beinhaltet (Collins, 2005).
 - o APC-Molekül, (syn. B7.1), interagiert mit CD28 auf T-Helferzellen oder zytotoxischen Zellen mit CD8-Expression.

- **CD1a:**

- o Expressionsort:
 - o T-Zell-Vorstufen und monozytäre Zellen
- o Funktion:
 - o reagiert auf Endotoxin
 - o erzeugt eine T-Zellantwort auf Lipid- und Glykolipidantigene

- o Induziert eine hohe IL-12-Produktion und bewirkt damit eine starke TH₁-Zellreaktion (Roy 2004).
- o Struktur:
 - o gehört zur Immunglobulin-Superfamilie
 - o MHC-I-ähnlich
 - o besteht aus einem glykolisierten Typ-1-Transmembranprotein
 - o besitzt nur eine Alpha-Kette, welche mit Mikroglobulin assoziiert ist
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o Die Expression von CD1a ist von GM-CSF abhängig (Roy 2004).
 - o Hemmt oder aktiviert die Proteinkinase C.
- **CD86:**
 - o Expressionsort:
 - o auf dendritischen Zellen in der T-Zell-Zone der sekundären lymphatischen Gewebe
 - o schwächer auf dendritischen Zellen im peripheren Blut und auf Langhans-Zellen
 - o auf Gedächtnis-B-Zellen und B-Zellen im Follikelzentrum: Centrozyten > Centroblasten
 - o Monozyten (Expression steigt bei Stimulation durch γ -Interferon)
 - o Endothelzellen
 - o aktivierte T-Zellen
 - o Funktion:
 - o ist ein Ligand für das T-Zell kostimulierende Molekül CD28
 - o Man vermutet es bindet auch an CD152, welches ein negatives Signal in T-Zellen weiterleitet.
 - o wandelt T-Zellen in Th₁-Zellen um
 - o leitet Ig-Klassen-Switch und die Follikelzentrum-Bildung ein
 - o ist für die humorale Immunantwort mitverantwortlich

- o Struktur:
 - o gehört zur Ig-Supergen-Familie
 - o ist ein einzelnes Polypeptid (single chain) mit einer extrazellulären, einer transmembranen und einer intrazellulären Domäne
 - o die extrazelluläre Domäne besitzt eine IgV-like und eine IgC₂-like Domäne
 - o die extrazelluläre Domäne hat 8 Stellen für N-Glykosylierung
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o aktiviert Tyrosin-Kinasen, Phospholipase C, Sphingomyelinase, und hemmt die Phosphatidylinositol-3-Kinase
 - o Ligand von CD28 und CD152
 - o Korezeptor von CD80
 - o In einer Studie stellte man fest, dass Lipoteichonsäure und Muraminsäure die Expression von CD86 regelt, während die Expression von CD80 unbeeinflusst bleibt (Galdiero 2004).
- **CD14:**
 - o Expressionsort:
 - o alle Monozyten und bei schwacher Expression auch monozytäre Vorläufer im Lymphozytenfenster.
 - o starke Expression auf Monozyten
 - o schwache Expression auf Granulozyten
 - o keine Expression auf myeloischen Progenitorzellen
 - o Funktion:
 - o Rezeptor für Endotoxine (LPS)
 - o vermutlich involviert im Lipidtransfer mit LBP:
 - LPS bindet an LBP, welches dadurch an CD14 binden kann
 - dadurch Aktivierung von Monozyten oder Makrophagen; Sekretion von Zytokinen wie TNF und vermehrte Expression von Oberflächen- und Adhäsionsmolekülen
 - o auch werden dadurch andere nicht CD14 exprimierende Zellen aktiviert und ihre Adhäsionsmoleküle erhöht

- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o LBP: bringt LPS, Phosphatidylinositol und andere Phospholipide in Verbindung mit CD14 (s.o.)
 - o LPS: 1-2 Moleküle werden auch direkt von CD14 gebunden (s.o.)
 - o man vermutet, dass auch Lipoteichonsäure und Phosphatidylinositol direkt an CD14 binden
- **CD64:**
 - o Expressionsort:
 - o Monozyten
 - o Makrophagen
 - o Dendritische Zellen im Blut und im Follikelzentrum
 - o PMN, wenn sie durch IFN- γ oder G-CSF aktiviert wurden.
 - o Frühe myeloische Zelllinie
 - o Mastzellen
 - o Funktion:
 - o vermittelt die Rezeptor-abhängige Phagozytose von IgG-Antigen-Komplexen
 - o Antigenbindestelle für T-Zell-Präsentation
 - o verantwortlich für die durch Antikörper vermittelte Zelltoxizität
 - o erhöht Zytokine und reaktive O₂-Mediatoren
 - o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o STAT1: IFN erhöht die Transkription von CD64 in PMN
 - o bindet IgG: IgG₃>IgG₁>IgG₄>>IgG₂
- **CD95:**
 - o Expressionsort:
 - o aktivierte T- und B-Zellen
 - o Funktion:
 - o Mediator für Apoptose
 - o Apoptose durch zytotoxische T-Zellen

- o Struktur:
 - o gehört zur TNF-Rezeptor-Superfamilie, Stress-Antigen
 - o Type-I-Transmembran Protein
 - o 3 Zystein-reiche Domänen
 - o intrazytoplasmatische Todesdomäne interagiert mit FADD über eine Todesdomäne-Todesdomäne-Interaktion
 - o Fas-Ligand ist ein Ligand von CD95 und gehört auch zur TNF-Familie
 - o 2 Serin/Treonin glykolysierte extrazelluläre Bereiche
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o Apoptose Antigen1
 - o APO1
 - o Fas Antigen
- **TLR 2/4:**
 - o Funktion / Struktur:
 - o Transmembranprotein mit vielen Leucin-reichen Repeats in der extrazellulären Domäne und ein IL-1-Motiv intrazytoplasmatisch
 - o Toll-like Rezeptoren sind essentiell für die mikrobielle Erkennung
 - o stellt einen Endotoxin-Rezeptor dar
 - o TLR-4 erkennt LPS von gramnegativen Bakterien
 - o Bindet das Adaptermolekül TIRAP an den TLR, wird die Zelle gehemmt, bzw. nicht aktiviert. Zudem wird die Interleukin-1-Receptor-assoziiated-Kinase (= IRAK) gehemmt. Diese ist wiederum mit verschiedenen anderen Signalwegen assoziiert, wodurch dann im Endeffekt die Genexpression und damit der Aktivitätszustand der Leukozyten geregelt wird.
 - o Tierversuche zeigten, dass eine Koexpression von TLR4 und MART-1 auf dendritischen Zellen zu einer vermehrten Expression von CD80 und CD83, welche wiederum zu einer vermehrten Sekretion von Zytokinen wie IL6, IL12 oder TNF- α führt (Abdel-Wahab 2005).

- o In weiteren Studien stellte man fest, dass oxidierte Phospholipide, wie sie z.B. bei Infektionen, Zelluntergang oder Gewebszerstörung vorkommen, die durch TLR3 und TLR4 induzierte Vermehrung der costimulierenden Faktoren, wie CD40, CD80, CD83 und CD86, als auch die vermehrte Sekretion von Zytokinen wie IL12 und TNF blockieren. Auch wird die Zytokinsekretion durch CD40 und TLR2 verhindert, wohingegen die Expression kostimulierender Faktoren dieser Rezeptoren unbeeinflusst bleibt. Daher vermutet man, dass die oxidierten Phospholipide eine Art negatives Feedback von Immunreaktionen darstellen (Bluml 2005).

- **CD 163:**

- o Expressionsort:
 - o nur auf Monozyten, Makrophagen, Kupferzellen exprimiert
 - o auf allen CD14+ Monozyten
 - o auf dem Großteil aller CD64+ Monozyten
 - o stark auf CD16+ Monozyten
 - o Follikuläre dendritische Zellen, Langhanszellen und Mantelmakrophagen exprimieren kein CD163
- o Funktion / Struktur:
 - o Rezeptor für Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex.
 - o wird vermehrt exprimiert durch IL-10, IL-6 und Dexamethason.
 - o vermehrte Expression bei der Umwandlung der Monozyten in gewebständige Makrophagen ⇒ an Aktivierung und Differenzierung beteiligt
 - o Anhand von Tierversuchen stellte man eine vermehrte Expression von CD80/86 und eine ansteigende Expression von CD14, CD16 und CD163 bei der Umwandlung von Monozyten in gewebständige dendritische Zellen fest (Chamorro 2004).
 - o vermehrte Expression in der späten Phase der Entzündung
 - o gehört zur „scavenger receptor“-Superfamilie

- **HLA-DR:**

- o Expressionsort:
 - o B-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen
 - o aktivierten T-Lymphozyten und NK-Zellen
- o Funktion:
 - o stellt das MHC-II-Molekül dar
 - o Humanes Leukozyten Antigen der Klasse II
- o Struktur:
 - o ist ein Transmembran-Histokompatibilitätsantigen
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o Korezeptor für CD4+ T-Zellen

- **CD83:**

- o Expressionsort:
 - o Vorläuferzellen
 - o Nicht follikuläre und zirkulierende dendritische Zellen
 - o Langhanszellen
 - o aktivierte dendritische Zellen als intrazelluläres Antigen (Cao 2005)
 - o auf mit INF- α aktivierten CD14+ Monozyten
- o Struktur:
 - o gehört zu Ig-Superfamilie
 - o Besteht aus einer einzigen Polypeptidkette mit einer V-Typ-Domäne, einer Ig-ähnliche N-terminalen extrazellulären und einer kleinen C-terminalen zytoplasmatischen Domäne.
- o Molekulare Wechselwirkungen:
 - o In einer Studie stellte man fest, dass eine verstärkte Expression von CD83 auf dendritischen Zellen, Monozyten und Makrophagen durch Lipopolysaccharide (LPS) induziert werden kann (Cao, 2005). Diese vermehrte Expression konnte man innerhalb von 4 Stunden nach Stimulation mit LPS auf dendritischen Zellen feststellen; dagegen war die Expressionsvermehrung auf Makropha-

gen und Monozyten verzögert (innerhalb von 24 Stunden nach Stimulation) (Cao 2005).

3.4.4 Allgemeine Oberflächenantigene

- **CD117:**
 - o Synonym: c-kit = Stammzell-Wachstumsfaktor-Rezeptor (SCR)
 - o Expressionsort:
 - o hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen
 - o Mastzellen
 - o Melanozyten
 - o Funktion:
 - o SCF (Stammzellfaktor)-Rezeptor
 - o stimuliert die Proliferation von Progenitorzellen
 - o wird auf vielen Tumoren exprimiert, z.B.: Gastrointestinale Stromazelltumore, Kleinzelliges Bronchialkarzinom, Mammakarzinom, AML und anderen Leukämien
 - o Struktur:
 - o Tyrosin-Kinase-Rezeptor
 - o Durch das Binden des Stammzellfaktors phosphoryliert sich der Rezeptor selbst und andere Moleküle und verändert so die Transkription anderer Gene.
 - o Dadurch werden Apoptose, Zelldifferenzierung, Zellproliferation, Chemotaxis und Zelladhäsion reguliert.
- **CD 123:**
 - o Expressionsort:
 - o peripheren dendritischen Zellen, Monozyten, eosinophile und basophile Granulozyten
 - o Subpopulation der Progenitorzellen
 - o fehlt auf lymphoiden Vorstufen

- o Funktion / Struktur:
 - o durch die Expression wird durch IL-3 eine vermehrte Produktion von hämatopoetischen Zellen induziert
 - o Alpha-Kette des Interleukin-3-Rezeptors
 - o interagiert mit der Beta-Kette von IL-3, IL-5 und GM-CSF
 - o bindet mit niedriger Affinität IL-3 $\Rightarrow$ stimuliert die Zellproliferation, Zelldifferenzierung und das Zellüberleben

3.5 Auswertung

Für den effizienten Vergleich der quantitativen Expression der einzelnen Oberflächenantigene müssen Daten aus dem Durchflusszytometer ausgelesen und geeignet aufbereitet werden. Der Durchflusszytometer liefert die Anzahl der Zellen, welche ein bestimmtes Oberflächenantigen exprimieren, als Funktion der Streulichter in vier Quadranten (sog. „Gates“). Mit Hilfe einer Designtabelle wurde die für jeden Marker unterschiedliche spezifische Expressionsrate auf den verschiedenen Zellpopulationen berechnet.

Beispiele:

CD4 FITC ist ein B-Lymphozyten-Oberflächenantigen und ist mit einem grünen Fluoreszenzfarbstoff markiert. Dadurch werden die Ergebnisse entlang der x-Achse aufgetragen. Um die Zellen zu bestimmen, welche dieses Oberflächenantigen exprimieren, muss man die Zellen mit niedrigem Vorwärtsstreulicht (Quadrant:LR) quantifizieren.

CD 3 FITC ist ebenfalls ein Antikörper gegen ein Lymphozytenantigen. Dieser Antikörper ist mit einem grünen Farbstoff markiert. Die relevanten Zellen wiesen hier jedoch unabhängig vom Vorwärtsstreulicht ein hohes Seitwärtsstreulicht auf. Man muss hier also die „events“ (d.h. die Menge der CD3+ Zellen) in den „gates“ UR und LR addieren.

Auf diese Weise wurden alle verwendeten Oberflächenantigene in einer Designtabelle definiert und anhand dieser, die prozentualen Anteile der positiven Zellen in den „gates“ berechnet.

Zudem wurden die Patienten in Placebo oder Verum gegliedert, um anhand dieser Aufteilung die oben berechneten Expressionen in den unterschiedlichen Patientengruppen vergleichen zu können. Hier wurde zudem der Austausch einzelner Oberflächenantigene festgehalten.

So wurden in der Auswertung der relativen Expressionsraten der einzelnen Oberflächenantigene nur die Blutproben mit einbezogen und zwischen den beiden Patientengruppen verglichen, welche auch wirklich mit dem entsprechenden Antigen markiert und gemessen wurden.

Im Rahmen einer deskriptiven Analyse der Merkmalsanteile beider Patientengruppen konnten relevante Unterschiede bei einzelnen Oberflächenantigenen festgestellt werden.

Für die Beschreibung der Grafiken wurden Mediane verwendet, welche sich - im Gegensatz zu arithmetischen Mittelwerten - robuster gegenüber extremen Beobachtungen verhalten und nicht so sehr von einzelnen asymmetrisch auftretenden Ausreißern beeinflusst werden. Dies ist hier insofern von Bedeutung, als sich die untersuchten Patienten in sehr unterschiedlicher immunologische Abwehrlage befanden und Reaktionen im Einzelfall stark streuen konnten .

Für sämtliche Auswertungen, d.h. die Ermittlung der Mediane und die grafische Darstellung (sog. „Boxplots“), wurde das Statistikprogramm SPSS (Statistical Package for Social Science) verwendet. Ein Boxplot veranschaulicht die Lage des Medians und der Streuverhältnisse.

So zeigt das Boxplot den Interquartilsabstand, d.h. den Bereich zwischen den beiden mittleren Quartilen. Liegt der Median in der Mitte, so verteilen sich die Messwerte symmetrisch. Schließlich wird hierdurch die Größe der Streubreite und das Vorhandensein von Extremwerten („Ausreißern“) deutlich.

Sofern der Wirkstoff Einfluss auf die gesundheitliche Lage der Patienten ausübt, ist zu erwarten, dass sich die Ausprägung einzelner Oberflächenantigene in beiden Patientengruppen unterscheiden.

Die Veränderungen durch den großen operativen Eingriff sind exemplarisch durch die Ergebnisse der Placebogruppe dargestellt. Auch werden die Ergebnisse der Placebogruppe mit denen der Verumgruppe verglichen.

4. Ergebnisse

Mit Antikörpern, welche die in „Material und Methoden“ aufgeführten Strukturen erkennen, wurde die Oberflächenexpression auf Leukozyten aller Patienten am Tag vor der Operation, am 1. und am 2. post-operativen Tag untersucht.

Alle Ergebnisse wurden in dem FASC-Gerät (FACScalibur) aufgezeichnet und dem dazugehörigen Programm (Cellquest) ausgewertet.

Cellquest erlaubt die Differenzierung von Antigenen in unterschiedlichen Zellpopulationen, welche durch Streulichtmessungen differenzierbar sind. Die Expressionen wurden in drei elektronischen Fenstern: das Lymphozyten-(R1), Monozyten-(R2) und Granulozytenfenster (R3) ausgewertet.

Zusätzlich wurde auch die gesamte Zellpopulation unter dem Datensatz: „no gate“ abgebildet, in welchem man alle Zellpopulationen betrachten kann (Siehe Seite 25).

Auch werden bei allen Messungen in „%gated“ und „%total“ unterschieden:

„%gated“:

Stellt die Anzahl der Zellen in einem bestimmten Fenster dar, welche diesen Marker exprimieren.

„%total“:

Stellt den prozentualen Anteil aller gemessenen Zellen dar.

Relative Anteile:

Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten, sollten der Bestimmung des Blutbildes ungefähr entsprechen.

4.1 Ergebnisse der Patienten aus der Placebogruppe

Als Einstieg werden zunächst die relativen Zahlen der Leukozyten grafisch dargestellt.

Alle beschriebene Werte werden als Median der eingerechneten Patienten angegeben.

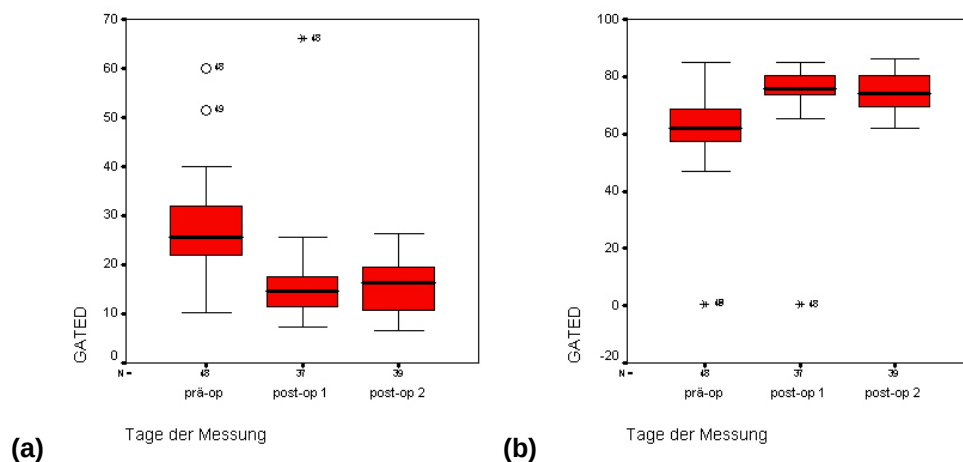


Abb. 5: Streudiagramme relativer Lymphozytenanteile (a) und relativer Granulozytenanteile (b) am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), * mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Am präoperativen Tag liegt der Median der relativen Lymphozytenzahlen bei 27,5% und ist im Vergleich zum ersten und zweiten postoperativen Tag am höchsten (1.postoperativer Tag 16,1% als Medianwert; zweiter postoperativer Tag 15,6% als Medianwert).

Die relativen Granulozytenanteile sind an allen drei Tagen ähnlich. Präoperativ liegt die Granulozytenzahl bei 60,7%, am ersten postoperativen bei 74,4% und am zweiten postoperativen bei 74,7% (Medianwerte).

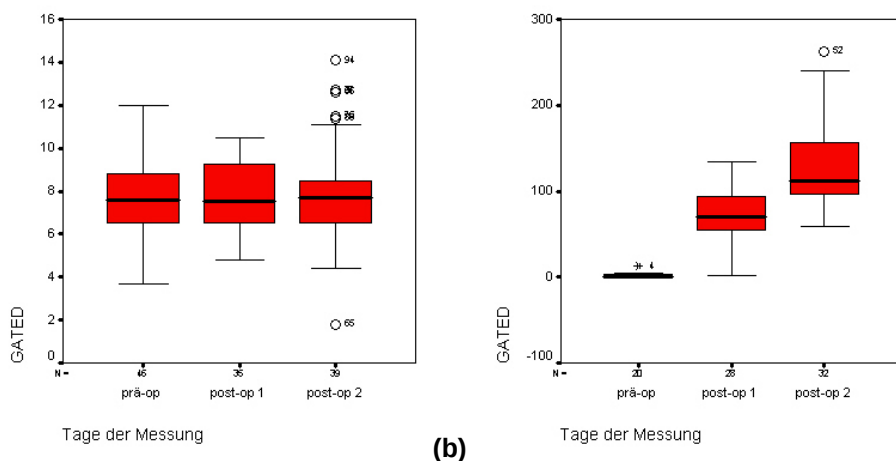


Abb. 6: Streuungsdiagramme relativer Monozytenanteile und des C-reaktiven Proteins (CRP) am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Grafik macht den Anschein, dass die Monozytenanteile konstant sind. Doch steigen die Werte sehr leicht an (präoperativ: 7,6%, erster postoperativer Tag: 7,8%, zweiter postoperativer Tag: 7,9%; Medianwerte).

Die Werte des CRPs steigen sichtlich während des gesamten Untersuchungszeitraumes an. (präoperativ: 0,8%, erster postoperativer Tag: 69,4%, zweiter postoperativer Tag: 111,2%, Medianwerte).

4.1.1 Lymphatische Oberflächenantigene

Wie in Material und Methoden beschrieben, hatten alle der Studienpatienten ein lokalisierendes Stadium eines Prostatakarzinoms.

Mit dem hier eingesetzten Immunphänotypisierungsmodell sollte der Immunstatus der Patienten in seinen wichtigsten Aspekten bestimmt werden.

Die Oberflächenantigene wurden anhand der oben beschriebenen „Gates“ R1, R2 und R3, sowie anhand der zur Immunphänotypisierung der PCA-Patienten verwendeten Kategorien (Material und Methoden ab S.26) in entsprechenden Grafiken geschrieben.

Im folgenden werden die Veränderungen der lymphozytären Oberflächenantigene dieser Studie beschrieben. Die zahlenmäßige Dokumentation der Bestimmungen befindet sich im Anhang.

Zusätzlich findet sich unter jeder Kategorie von Oberflächenantigenen eine Tabelle, welche die Werte der zuvor beschriebenen Grafiken enthält. Durch schwarz ausge- malte Pfeile im Tabellenabschnitt „Bewertung“ werden die in der Diskussion interpre- tierten Veränderungen vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) und vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) der entsprechenden Oberflächenantigene besonders hervorgehoben.

Um zusätzlich in der Beschreibung für eine Erleichterung zu sorgen, werden die mit einem Oberflächenantigen positive Zellen mit einem Pluszeichen dargestellt, z.B. CD2 positive Zellen entspricht CD2+ Zellen.

4.1.1.1 T-lymphozytäre Oberflächenantigene im R1

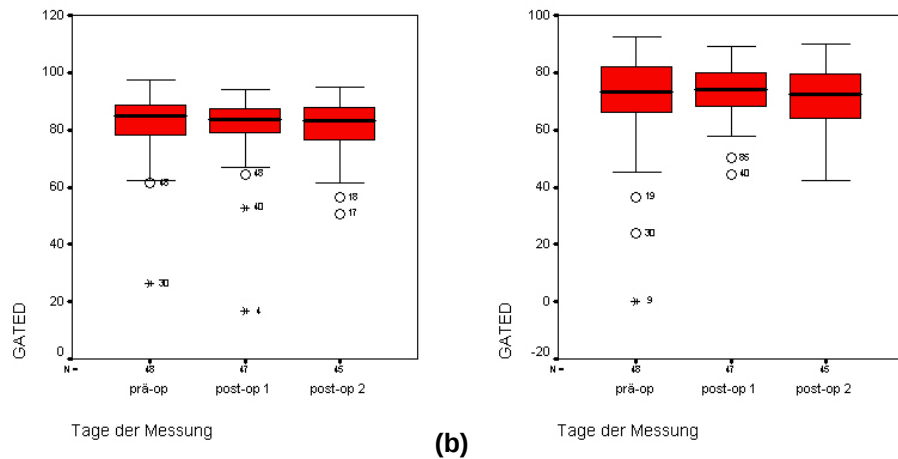


Abb. 7: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD2 (a) und CD3 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD2+ Zellen bleiben während des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant. Die CD3+ Zellen nehmen zum ersten postoperativen Tag zu und fallen dann wieder ab.

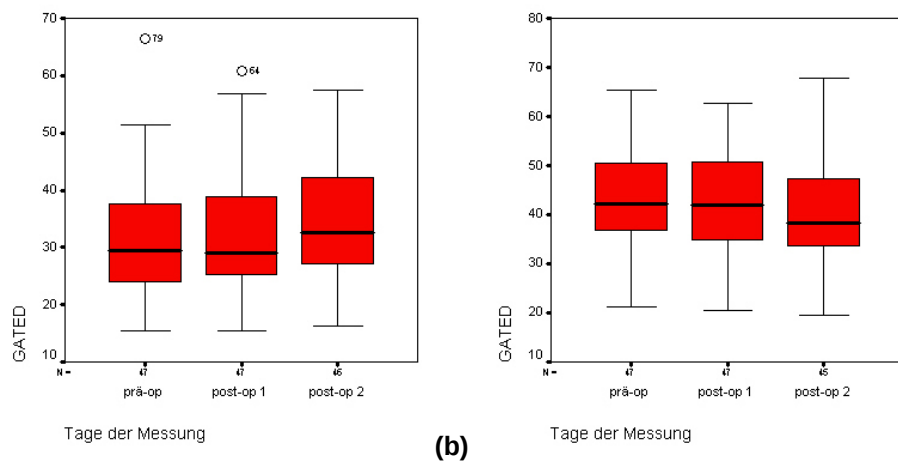


Abb. 8: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD8 (a) und CD4 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD8-Expression der Zellen bleibt zum ersten postoperativen Tag konstant, während sie zum zweiten postoperativen Tag wieder ansteigt.

Auch die CD4+ Zellzahl bleibt zum ersten postoperativen Tag konstant und fällt dann zum zweiten postoperativen Tag ab.

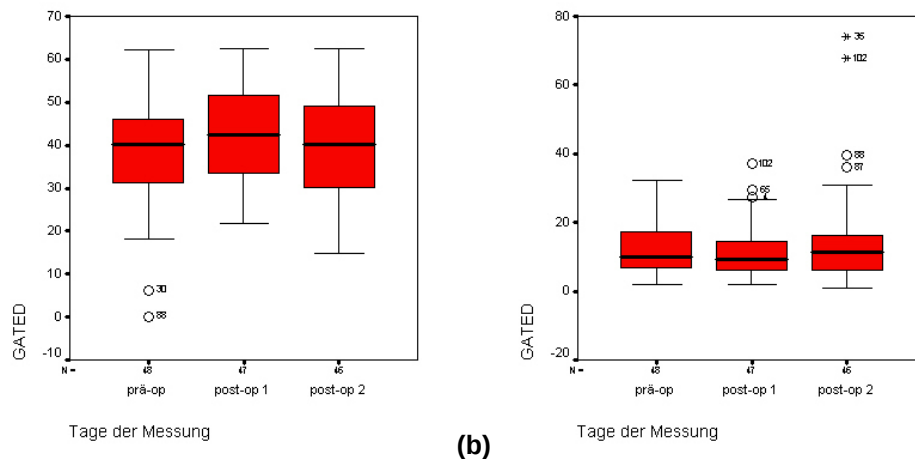


Abb. 9: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD25 (a) und CD69 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD25+ Zellzahl bleibt am präoperativen und am zweiten postoperativen Tag annähernd gleich. Vom präoperativen zum ersten postoperativen Tag steigt die positive Zellzahl an, um dann wieder fast auf den Ausgangswert abzufallen.

Die CD69+ Zellzahl hingegen bleibt zum ersten postoperativen Tag konstant, um dann zum zweiten postoperativen Tag wieder anzusteigen.

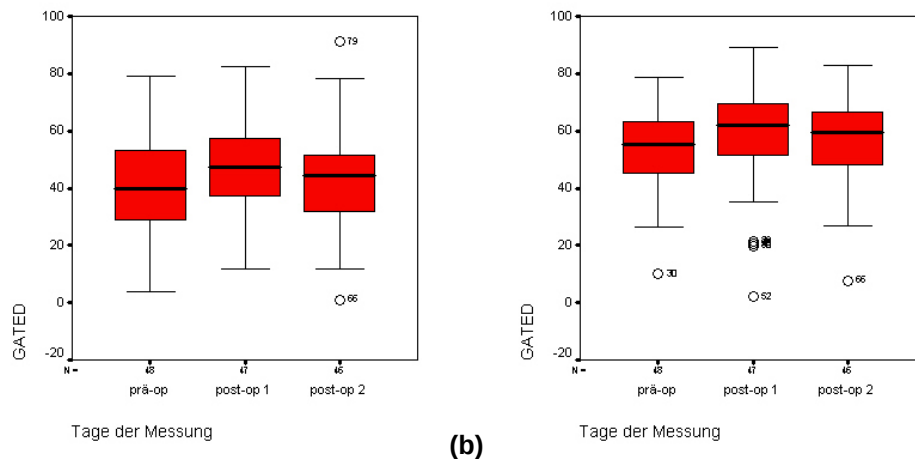


Abb. 10: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz) CD95PE (a) und CD95FITC (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD95 PE und die CD95 FITC-Expression steigt vom präoperativen Tag zum ersten postoperativen Tag an, um dann zum zweiten postoperativen Tag wieder abzusinken.

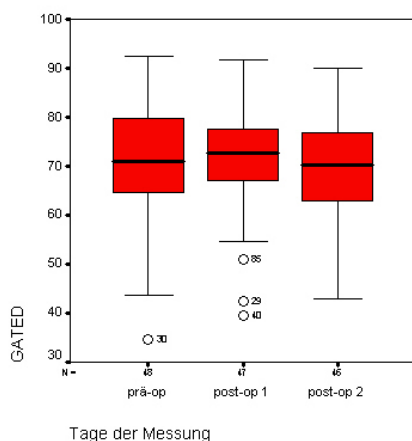


Abb. 11: Streuungsdiagramm des Oberflächenantigens WT31 positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die WT31+ Zellzahl nimmt zum ersten postoperativen Tag leicht zu und zum zweiten postoperativen Tag bis unter den Ausgangswert ab.

Tab. 1: Vergleich der Mediane T-lymphozytärer Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz sowie des Oberflächenantigens WT31) im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1), sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

T-Lymphozytäre Oberflächenantigene im R1						
Marker	Messtag			Wertung		
	d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)	
CD2	84,8	83,5	83,0	■	■	
CD3	73,3	74,1	72,5	↑	↓	
CD8	29,5	29,0	32,5	■	↑	
CD4	42,2	41,9	38,3	■	↓	
CD25	40,0	42,3	40,2	↑	↓	
CD69	9,9	9,1	11,3	□	↑	
CD95 PE	40,0	47,5	44,2	↑	↓	
CD95 FITC	55,3	62,2	59,2	↑	↓	
WT31	70,9	72,6	70,2	↑	↓	

4.1.1.2 B-lymphozytäre Oberflächenantigene im R1

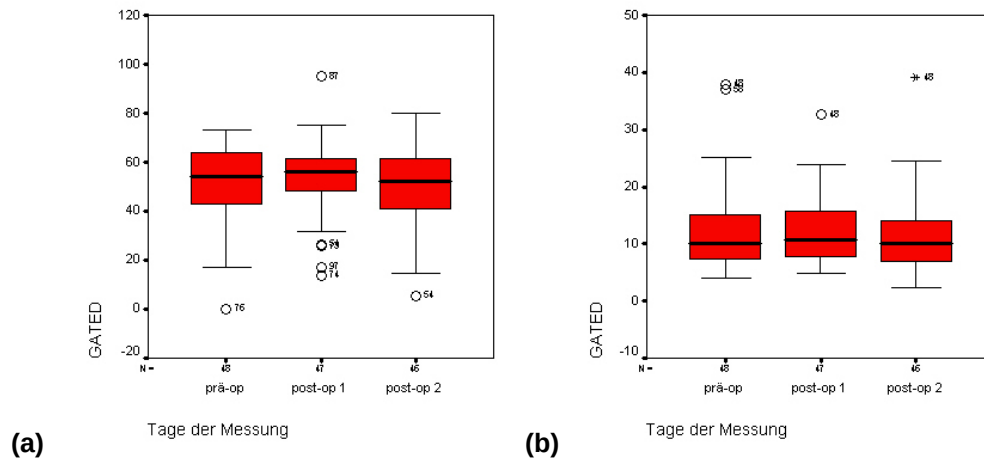


Abb. 12: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD40 (a) und CD19 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Oberflächenantigenexpression von CD40 nimmt zum ersten postoperativen Tag zu und zum zweiten postoperativen Tag ab.

Die CD19+ Zellzahl bleibt innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant.

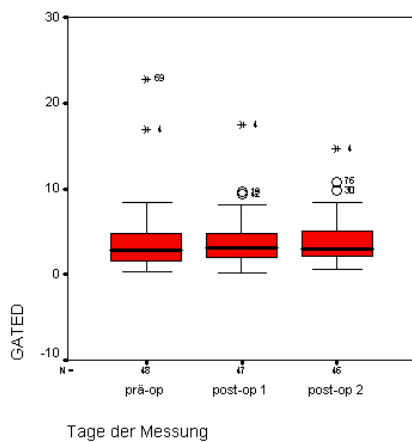


Abb. 13: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigen (CDx= Cluster of Differentiation) CD23 positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD23-Expression verändert sich zu allen Tagen nicht.

Tab. 2: Vergleich der Mediane B-lymphozytärer Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1), sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

B-Lymphozytäre Oberflächenantigene im R1					
Marker	Messtag			Wertung	
	d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
CD40	54,3	55,9	52,4	↑	↓
CD19	10,0	10,7	10,1	■	■
CD23	2,9	3,1	3,0	□	□

4.1.1.3 NK-Zelloberflächenantigene im R1

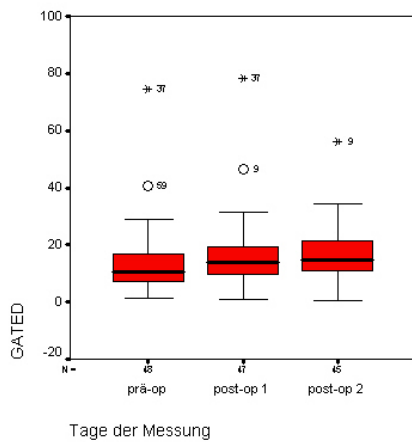


Abb. 14: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigen (CDx= Cluster of Differentiation) CD16 positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD16-Expression auf NK-Zellen steigt während des gesamten Messzeitraumes an.

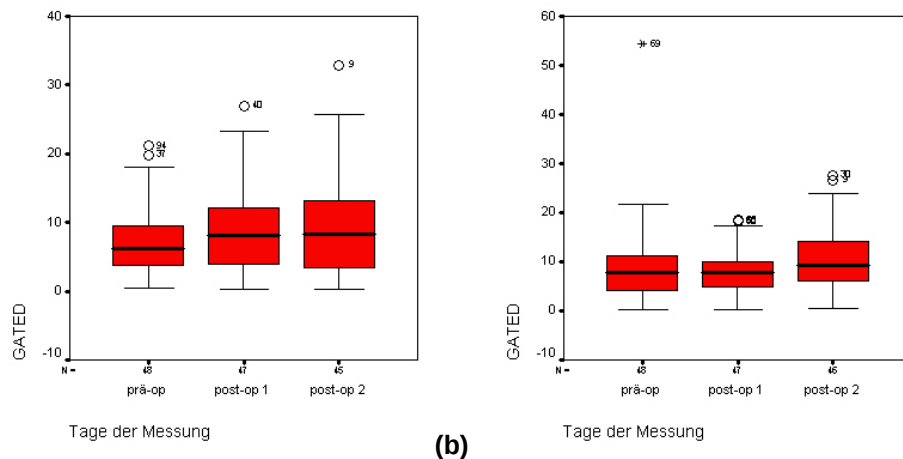


Abb. 15: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD56 in Kombination mit CD16 (a) und CD56 Kombination mit CD161 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD56+ Zellzahl in den oben genannten Kombinationen verhalten sich zum ersten postoperativen Tag verschieden. In Kombination mit CD161 bleibt die Expression zum ersten postoperativen Tag konstant und steigt dann zum zweiten postoperativen Tag an. In Kombination mit CD16 nimmt die Expression zum ersten postoperativen Tag zu und bleibt dann zum zweiten postoperativen Tag konstant.

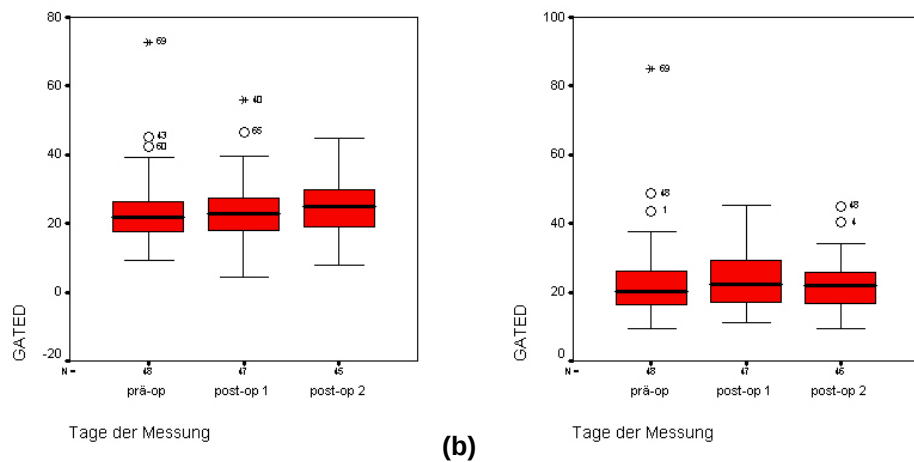


Abb. 16: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD56 in Kombination CD3 (a) und des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Bei CD56 in Kombination mit CD3 nimmt die Expression zu allen Messtagen zu. Auch steigt die HLA-DR-Expression zum ersten postoperativen Tag an. Sie sinkt allerdings zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

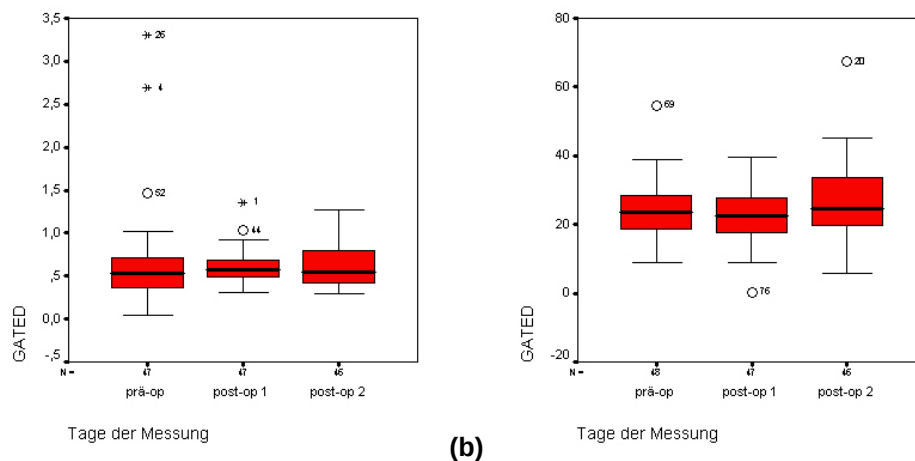


Abb. 17: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) Valpha 24 ($V\alpha 24$) (a) und CD161 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression von $V\alpha 24$ bleibt zu allen Messtagen konstant. Im Gegensatz dazu nimmt die CD161-Expression zum ersten postoperativen Tag ab und steigt dann wieder an.

Tab. 3: Vergleich der Mediane der NK-Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation, des Humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) und Valpha24 ($V\alpha 24$)) im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1), sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

NK-Oberflächenantigene im R1						
Marker	Messtag			Wertung		
	d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)	
CD16	10,6	13,8	14,7	↑	↑	
CD56/ CD16	6,2	8,1	8,4	↑	■	
CD56/ CD161	7,7	7,8	9,4	□	↑	
CD56/ CD3	21,9	22,7	24,9	↑	↑	
HLA-DR	20,2	22,2	21,8	↑	↓	
$V\alpha 24$	0,5	0,6	0,5	■	■	
CD161	23,5	22,5	24,7	↓	↑	

4.1.2 APC-Oberflächenantigene

4.1.2.1 APC-Oberflächenantigene im R2

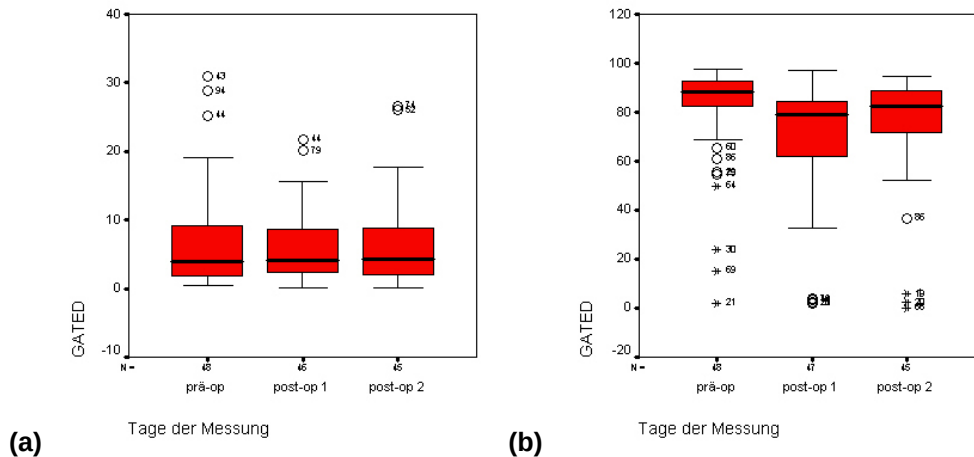


Abb. 18: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD80 (a) und CD86 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientenummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD80+ Zellzahl bleibt innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant.

Zum ersten postoperativen Messtag fällt die CD86-Expression stark ab und steigt dann zum zweiten postoperativen Tag an.

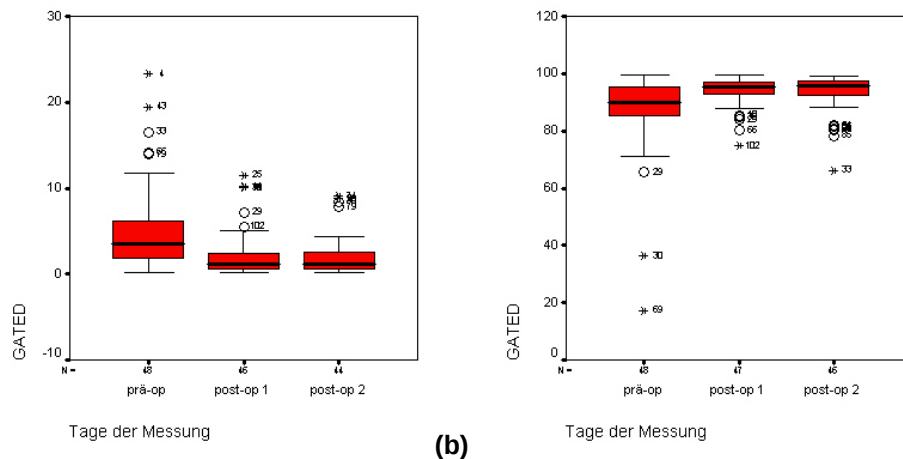


Abb. 19: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD83 (a) und CD64 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD83-Expression nimmt zum ersten postoperativen Tag ab und bleibt dann konstant. Im Gegensatz dazu nimmt die Expression von CD64 zum ersten postoperativen Tag zu und bleibt dann konstant.

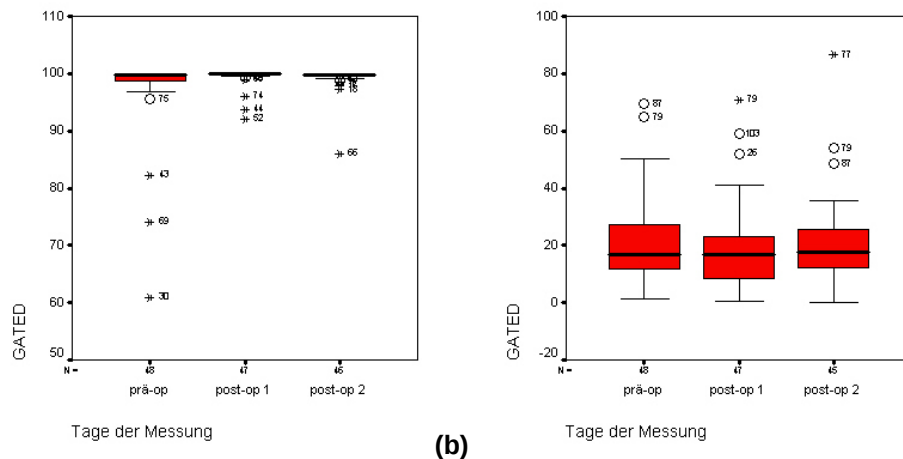


Abb. 20: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD14 (a) und CD1a (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expressionen von CD14 und CD1a verhalten sich fast gleich. Die CD14+ Zellen bleiben zu allen Messtagen konstant, wohingegen die CD1a-Expression nur zum ersten postoperativen Tag gleich bleibt und zum zweiten postoperativen Tag ansteigt.

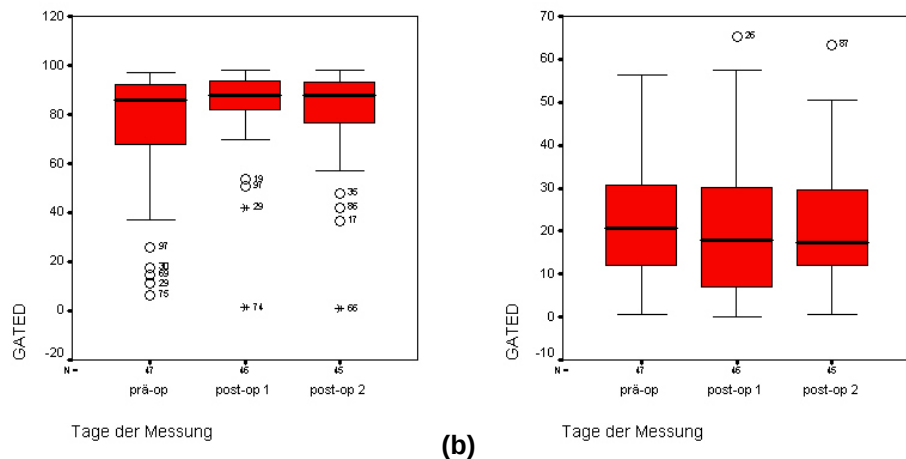


Abb. 21: Streuungsdiagramm der Toll-like Rezeptoren TLR2 (a) und TLR4 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die TLR-Expressionen unterscheiden sich nur zum ersten postoperativen Tag. Die TLR2-Expression nimmt zu, die TLR4-Expression nimmt ab. Zum zweiten postoperativen Tag bleibt dann die Expressionsrate beider TL-Rezeptoren auf ihrem Niveau gleich.

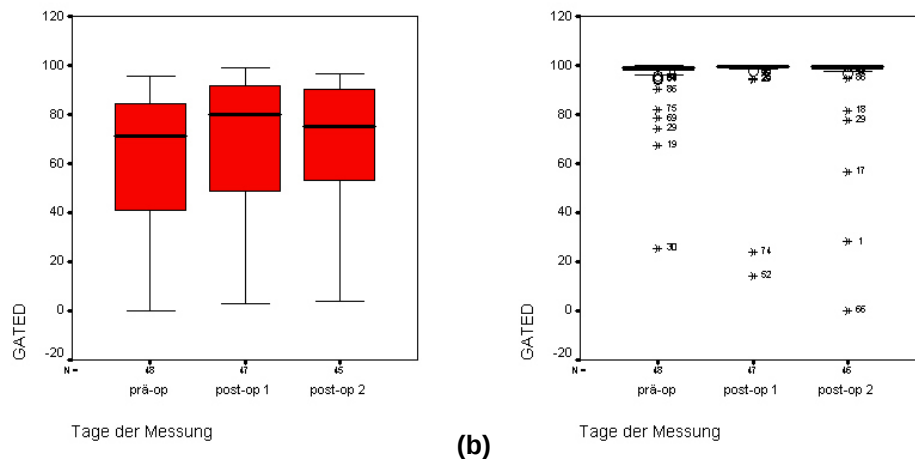


Abb. 22: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz) CD95 PE (a) und CD95 FITC (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD95 PE+ Zellzahlen nimmt zum ersten postoperativen Tag zu und fällt dann zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

Die CD95 FITC+ Zellzahl bleibt innerhalb des gesamten Messzeitraumes konstant.

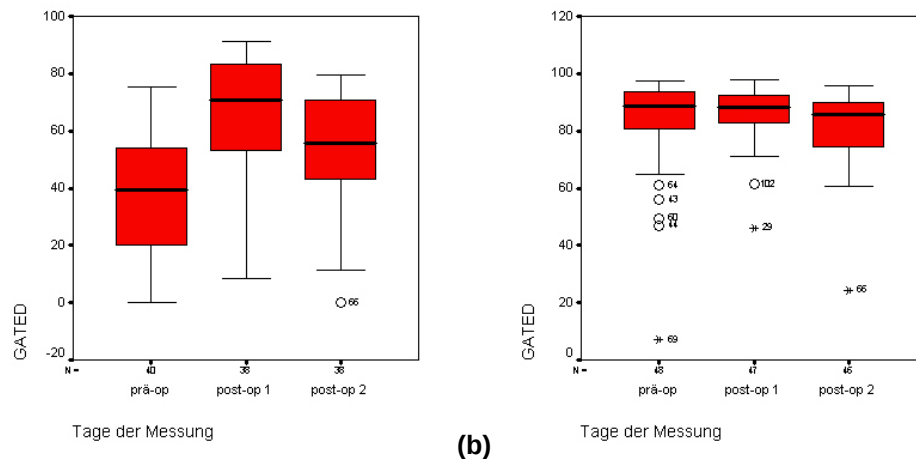


Abb. 23: Streudiagramm des Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD163 (a) und des Humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expressionen von CD163 und HLA-DR im R2 verhalten sich zu allen drei Mess-
tagen genau entgegengesetzt. Die Expression von CD163 nimmt zum ersten post-
operativen Tag zu und zum zweiten postoperativen Tag wieder ab. Dahingegen
nimmt bleibt die Expression von HLA-DR zum ersten postoperativen Tag gleich und
fällt zum zweiten postoperativen Tag ab.

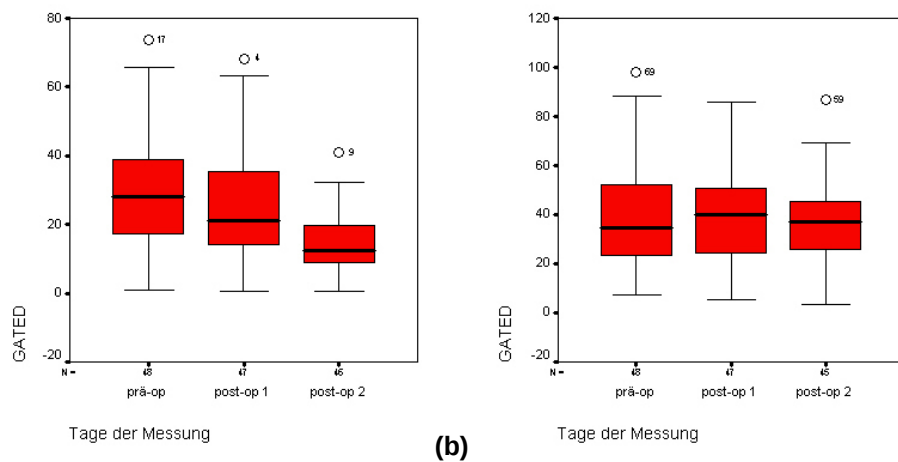


Abb. 24: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD123 (a) und CD16 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Zum ersten postoperativen Tag verhalten sich die Expressionen beider Oberflächenantigene genau gegensätzlich. Die CD123-Expression nimmt zu, während die CD16-Expression abnimmt. Zum zweiten postoperativen Tag sinken dann bei beiden Oberflächenantigenen die Expressionen ab.

Tab. 4: Vergleich der Mediane der Antigen-präsentierenden Zellantigene (APC-Oberflächenantigene als CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz, der Toll-like Rezeptoren (TLR) sowie des humanes Leukozyten Antigen der Klasse II (HLA-DR)) im Monozytenfenster (R2) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1), sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

APC-Oberflächenantigene im R2					
Marker	Messtag			Wertung	
	d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
CD80	3,9	4,1	4,4	■	■
CD86	88,5	78,8	82,6	↓	↑
CD83	3,5	1,2	1,2	↓	□
CD64	89,7	95,5	95,7	↑	■
CD14	99,8	100,0	99,8	■	■
CD1a	16,7	16,7	17,6	■	↑
TLR2	85,7	87,9	87,6	↑	■
TLR4	20,6	17,8	17,2	↓	■
CD95 PE	71,1	79,8	75,1	↑	↓
CD95 FITC	98,9	99,4	99,4	↑	■
CD163	39,5	70,8	55,8	↑	↓
HLA-DR	88,6	88,2	85,9	■	↓
CD123	28,2	21,1	12,4	↓	↓
CD16	34,8	40	37,2	↑	↓

4.1.2.2 APC-Oberflächenantigene im R3

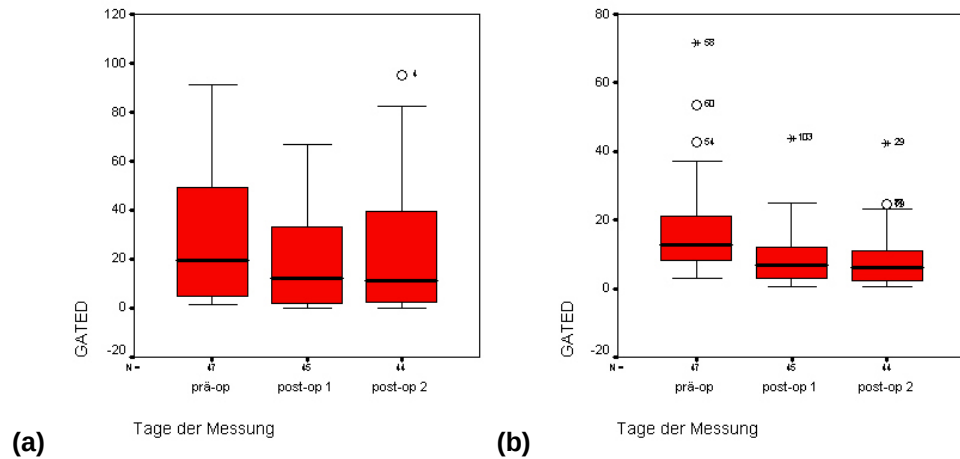


Abb. 25: Streuungsdiagramm der Toll-like Rezeptoren TLR2 (a) und TLR4 (b) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression beider TL-Rezeptoren verhalten sich in beiden Patientengruppen innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes gleich. Die TLR+ Zellen nehmen zum ersten postoperativen Tag ab und bleiben dann konstant.

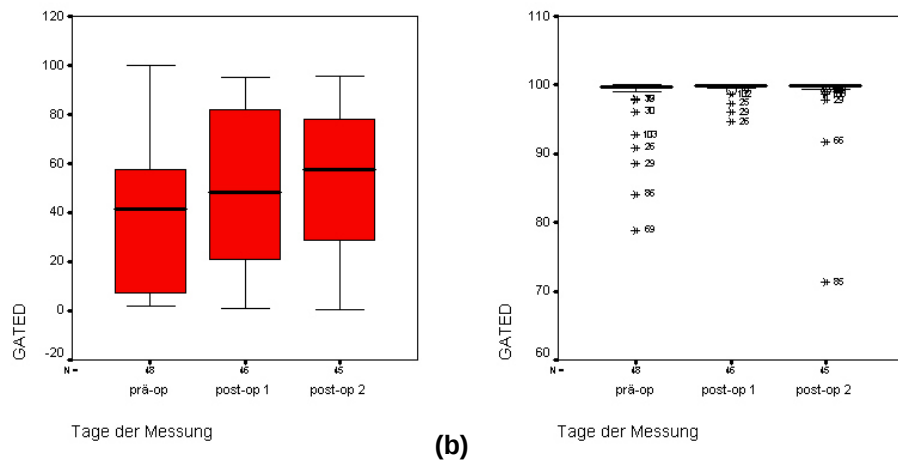


Abb. 26: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD64 (a) und CD16 (b) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD64-Expression nimmt zu allen Messtagen zu. Im Gegensatz dazu bleibt die CD16-Expression zu allen Messtagen gleich.

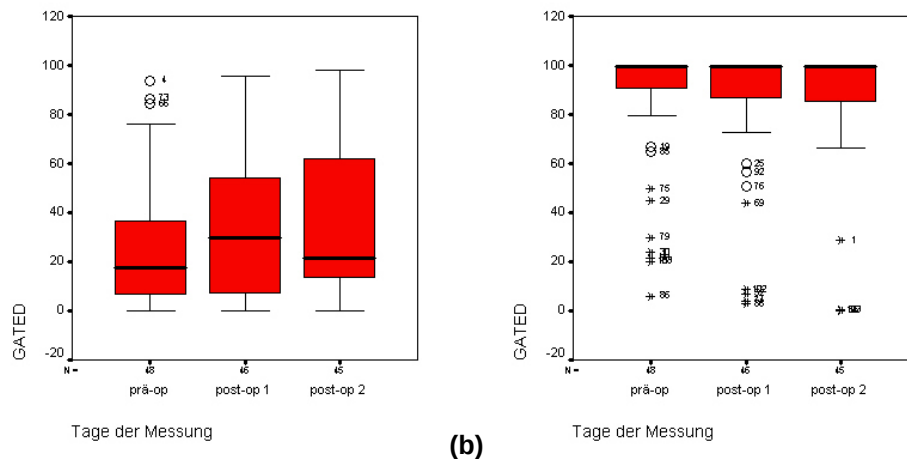


Abb. 27: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz) CD95 PE (a) und CD95 FITC (b) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expressionen beider Epitope des CD95-Oberflächenantigen unterscheiden sich zu allen Messtagen. Die CD95 FITC-Expression auf Granulozyten bleibt zu allen Messtagen gleich. Dagegen nimmt die CD95 PE+ Zellzahl erst zu und dann zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

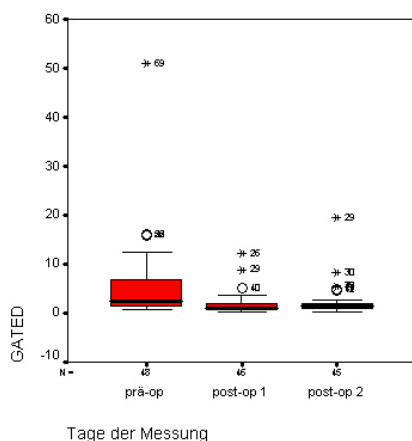


Abb. 28: Streudiagramm der humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die HLA-DR-Expression auf Granulozyten nimmt zum ersten postoperativen Tag ab und bleiben dann zum zweiten postoperativen Tag konstant.

Tab. 5: Vergleich der Mediane der Antigen präsentierenden Zellantigene (APC-Oberflächenantigene als CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz, der Toll-like Rezeptoren (TLR) und des humanen Leukozyten Antigen der Klasse II (HLA-DR)) im Granulozytenfenster (R3) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1), sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

APC-Oberflächenantigene im R3					
Marker	Messtag			Wertung	
	d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
TLR2	19,4	12,2	11,4	↓	—
TLR4	12,6	6,7	6,2	↓	—
CD64	41,3	48,3	57,5	↑	↑
CD16	99,8	99,9	99,8	—	—
CD95 PE	17,4	29,5	21,6	↑	↓
CD95 FITC	99,5	99,5	99,4	—	—
HLA-DR	2,5	1,0	1,4	↓	—

4.1.3 Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im R1

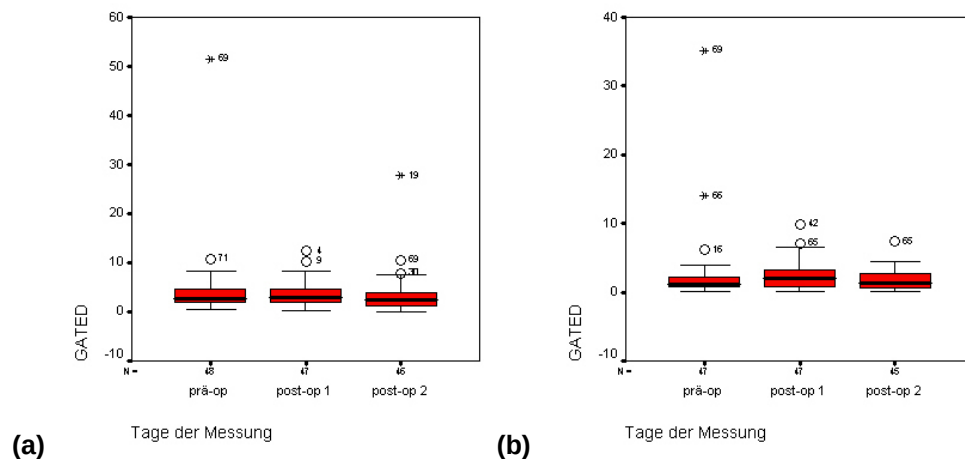


Abb. 29: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD123 (a) und CD117 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe; o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartil-sabstand)

Die CD123+ Zellzahl bleibt innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant. Die CD117+ Zellzahl nimmt zum ersten postoperativen Tag zu. Zum zweiten postoperativen Tag nimmt sie dann wieder ab.

Tab. 6: Vergleich der Mediane der Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1), sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2) und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im R1					
Marker	Messtag			Wertung	
	d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
CD123	2,7	3,0	2,5	→	→
CD117	1,2	2,1	1,3	↑	↓

4.2 Vergleich der mit Delta-9-Tetrahydrocannabinol behandelten und nicht behandelten Patientengruppe

Die Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen, der Verum- und der Placebogruppe werden im folgenden für die Leukozytensubpopulationen dargestellt.

Die in Grün dargestellten Boxplots zeigen Median und Verteilung der Patienten ohne Δ^9 -THC und roten Boxplots die Patienten mit Δ^9 -THC. Auch hier werden nach der Grafikdarstellung in Tabellen die wichtigsten Werte aufgeführt. Weitere beschreibende Werte kann man dem Anhang entnehmen.

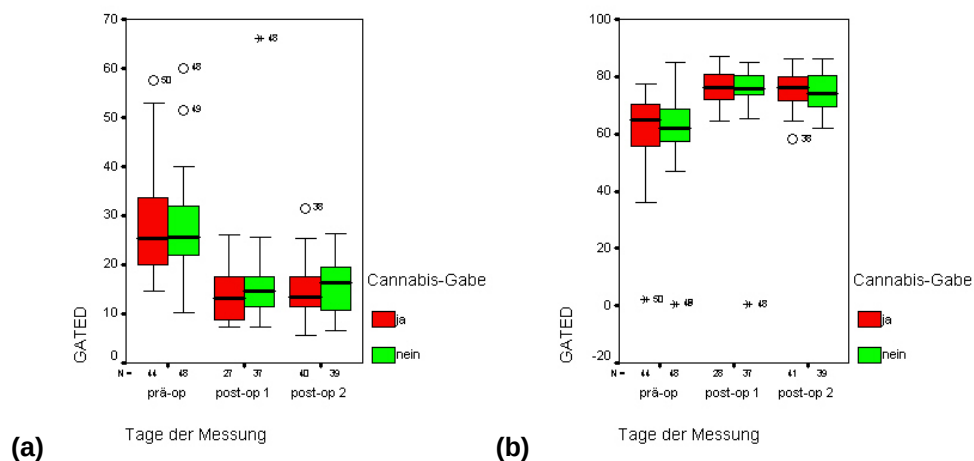


Abb 30: Relative Lymphozytenanteile (a) und relative Granulozytenanteile (b) am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die relativen Lymphozytenzahlen (Medianwerte) beider Gruppen fallen zum ersten postoperativen Tag ab (präoperativer Tag: Verum: 25,4%, Placebo: 25,6%; 1. postoperativer Tag: Verum: 13,1%; Placebo: 14,7%) und steigen dann zum zweiten postoperativen Tag wieder an (Verum:13,5%, Placebo: 16,3%).

Die Medianwerte der relativen Granulozytenzahlen steigen in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag an und bleiben dann konstant (präoperativer Tag: 64,7%, erster und zweiter postoperativer Tag: 76,2%).

In der Placebogruppe steigt der Median der relativen Granulozytenzahlen zum ersten postoperativen Tag an und fallen dann wieder ab (präoperativer Tag: 61,9%, erster postoperativer Tag: 75,8% und zweiter postoperativer Tag: 74,2%).

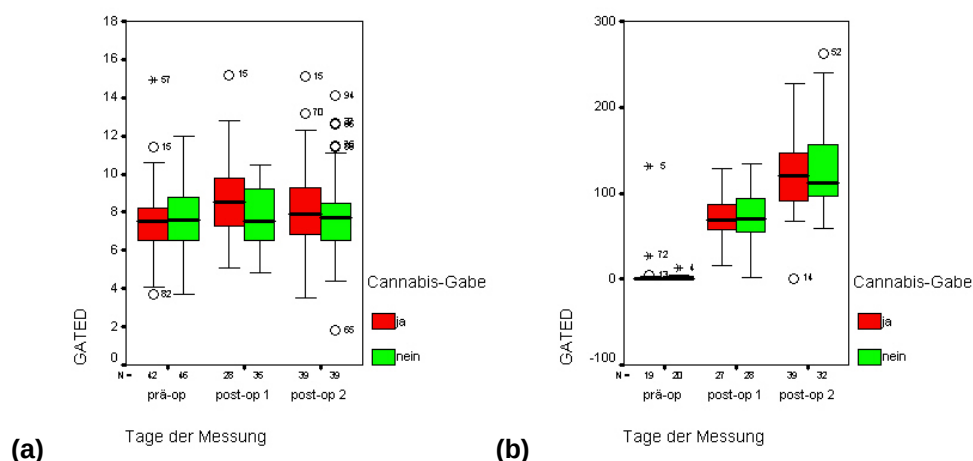


Abb 31: Relative Monozytenanteile relativ und des c-reaktiven Proteins (CRP) am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die relativen Monozytenzahlen (Medianwerte) steigen in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag an und fallen dann wieder ab (präoperativer Tag: 7,6%, erster postoperativer Tag: 8,5% und zweiter postoperativer Tag: 7,9%). In der Placebogruppe fallen die relativen Monozytenzahlen zum ersten postoperativen Tag ab und steigen dann wieder an (präoperativer Tag: 7,6%, erster postoperativer Tag: 7,5% und zweiter postoperativer Tag: 7,7%; Medianwerte).

Das CRP steigt in beiden Patientengruppen innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes an (präoperativer Tag: Verum: 0,5, Placebo:0,8; erster postoperativer Tag: Verum: 68,4, Placebo: 69,4; zweiter postoperativer Tag: Verum: 120,1, Placebo:111,2; Medianwerte).

4.2.1 Lymphatische Oberflächenantigene

4.2.1.1 T-lymphozytäre Oberflächenantigene im R1

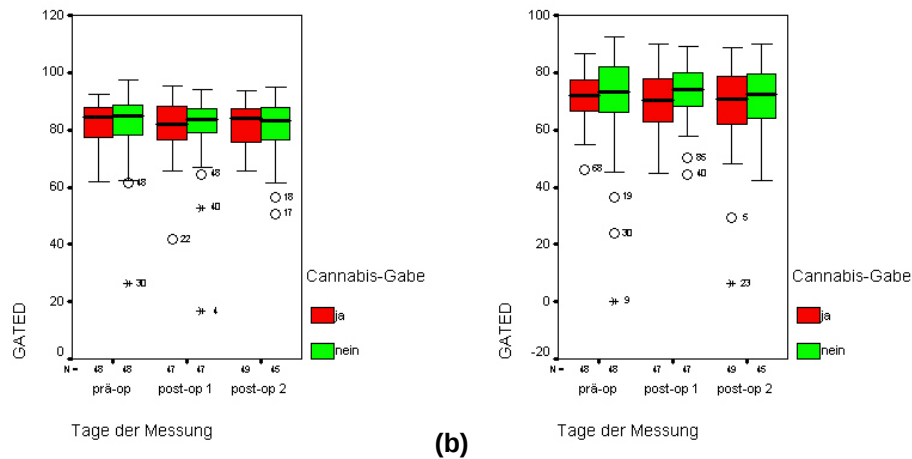


Abb. 32: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD2 (a) und CD3 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD2- und CD3-Expressionen beider Gruppen unterscheiden sich; jedoch verhalten sie sich innerhalb der Patientengruppen gleich. Während die Expressionsraten beider Oberflächenantigene in der Placebogruppe zu allen Messtagen gleich bleiben, nehmen die Expressionen in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag leicht ab und zum zweiten postoperativen Tag wieder zu.

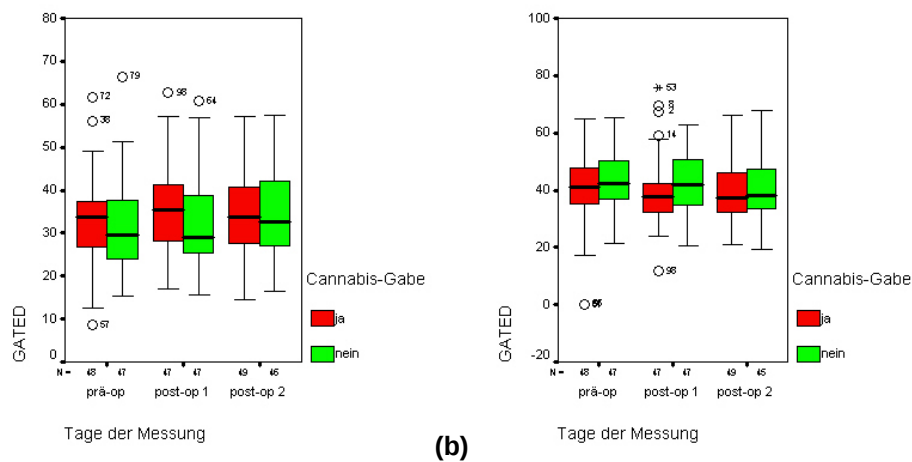


Abb. 33: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD8 (a) und CD4 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expressionen von CD8 unterscheiden sich in beiden Patientengruppen. Während in der Placebogruppe die CD8+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag gleich bleibt und zum zweiten postoperativen Tag leicht ansteigt; steigt sie in der Verumgruppe erst an, um dann zum zweiten postoperativen Tag wieder abzufallen.

Die CD4+ Zellzahl fällt in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag ab und bleibt dann gleich. Wohingegen die CD4+ Zellzahl der Placebogruppe zum ersten postoperativen Tag konstant bleibt, sinkt sie zum zweiten postoperativen Tag ab.

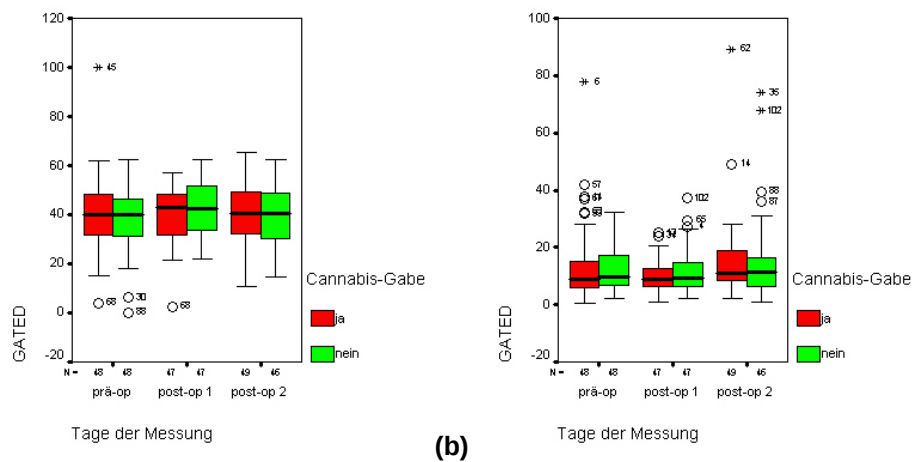


Abb. 34: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD25 (a) und CD69 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1. postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD25-Expression beider Patientengruppen nimmt zu allen Messtagen ab. Die CD69-Expressionen beider Gruppen unterscheiden sich. Während die CD69+ Zellzahl in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag konstant bleibt und zum zweiten postoperativen Tag zunimmt, sinkt sie in der Placebogruppe erst ab, um dann zum zweiten postoperativen Tag wieder anzusteigen.

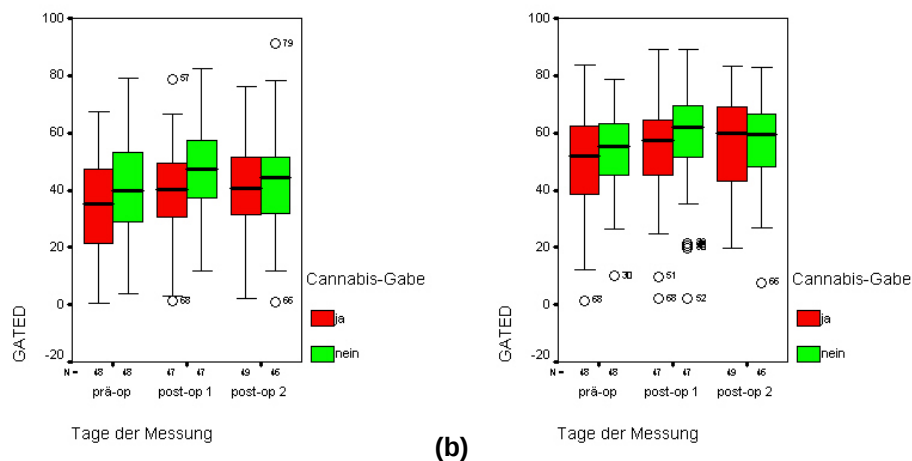


Abb. 35: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz) CD95 PE (a) und CD95 FITC (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1. postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD95-Expressionen beider Epitope verhalten sich annähernd gleich, auch unterscheiden sich beide Patientengruppen kaum. Die CD95-Expressionen beider Epitope nehmen zum ersten postoperativen Tag in den Patientengruppen zu. Zum zweiten postoperativen Tag bleibt die CD95 PE-Expression in der Verumgruppe annähernd gleich, wohingegen sie in der Placebogruppe abfällt.

Die CD95 FITC-Expression der Verumgruppe steigt zum zweiten postoperativen Tag weiter an, wohingegen sie in der Verumgruppe wieder abnimmt.

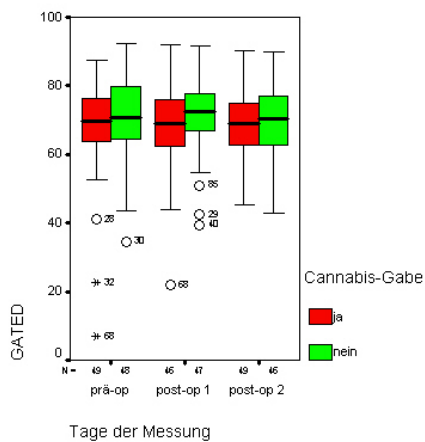


Abb. 36: Streudiagramm der Oberflächenantigen WT31 positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

In der Expression von WT31 unterscheiden sich beide Gruppen. Während die Expressionsrate der Verumgruppe zu allen Tagen konstant bleibt, nimmt sie in der Placebogruppe zum ersten postoperativen Tag zu, um dann wieder abzufallen.

Tab. 7: Vergleich der Medianwerte T-lymphozytärer Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz und des Oberflächenantigens WT31) zwischen der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) positiven (Delta-9-THC: ja) und der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) negativen (Delta-9-THC: nein) Patientengruppe im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2), und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

T-Lymphozytäre Oberflächenantigene im R1						
Marker	Delta-9-THC	Messtag			Wertung	
		d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
CD2	ja	84,6	82,1	83,9	↓	↑
	nein	84,8	83,5	83,0	■	■
CD3	ja	72,2	70,3	70,9	↓	↑
	nein	73,3	74,1	72,5	■	■
CD8	ja	33,8	35,5	33,8	↑	↓
	nein	29,5	29,0	32,5	■	↑
CD4	ja	41,0	37,9	37,4	↓	■
	nein	42,2	41,9	38,3	■	↓
CD25	ja	39,9	42,9	40,5	↑	↓
	nein	40,0	42,3	40,2	↑	↓
CD69	ja	8,7	9,0	10,8	□	↑
	nein	9,9	9,1	11,3	↓	↑
CD95 PE	ja	35,0	40,4	40,5	↑	■
	nein	40,0	47,5	44,2	↑	↓
CD95 FITC	ja	52,1	57,4	59,7	↑	↑
	nein	55,3	62,2	59,2	↑	↓
WT31	ja	69,7	69,0	69,1	□	□
	nein	70,9	72,6	70,2	↑	↓

4.2.1.2 B-Lymphozytäre Oberflächenantigene im R1

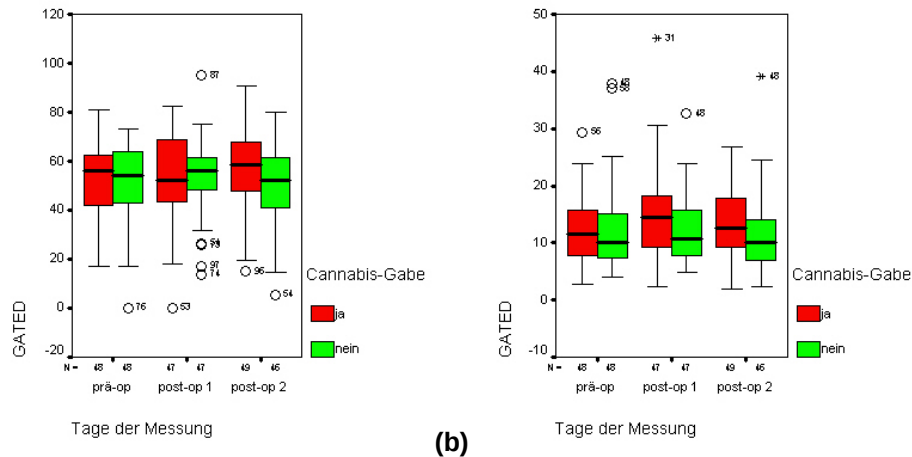


Abb. 37: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD40 (a) und CD19 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientenummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientenummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression von CD40 ist genau gegensätzlich in den beiden Patientengruppen. Sie nimmt in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag ab, um dann zum zweiten postoperativen Tag wieder anzusteigen. In der Placebogruppe hingegen nimmt sie zuerst zu und fällt dann zum zweiten postoperativen Tag ab.

Die Expression von CD19 nimmt in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag zu und fällt dann wieder ab. In der Placebogruppe hingegen bleiben die CD19+ Zellzahl konstant.

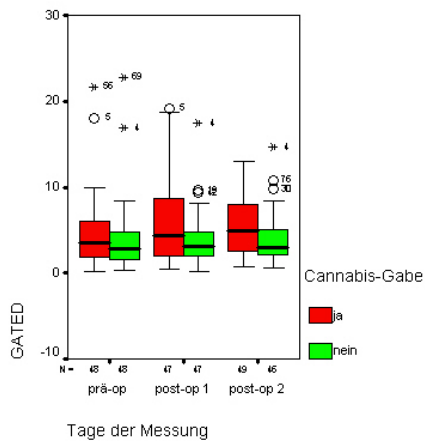


Abb. 38: Streudiagramm der Oberflächenantigen (CDx= Cluster of Differentiation) CD23 positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), * mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

In der CD23-Expression unterscheiden sich beide Gruppen. Während die CD23-Expressionsrate in der Verumgruppe zu allen Messtagen zunimmt, bleibt sie in der Placebogruppe zu allen Messtagen gleich.

Tab. 8: Vergleich der Medianwerte B-lymphozytärer Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) zwischen der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) positiven (Delta-9-THC: ja) und der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) negativen (Delta-9-THC: nein) Patientengruppe im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2), und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

B-Lymphozytäre Oberflächenantigene im R1						
Marker	Delta-9-THC	Messtag			Wertung	
		d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
CD40	ja	56,1	52,2	58,7	↓	↑
	nein	54,3	55,9	52,4	↑	↓
CD19	ja	11,5	14,4	12,6	↑	↓
	nein	10,0	10,7	10,1	—	—
CD23	ja	3,5	4,3	5,0	↑	↑
	nein	2,9	3,1	3,0	□	□

4.2.1.3 NK-Oberflächenantigene im R1

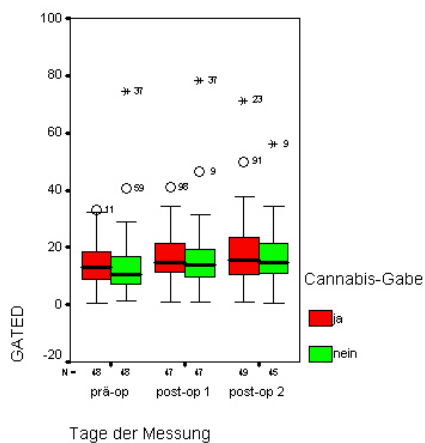


Abb. 39: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigenen (CDx= Cluster of Differentiation) CD16 positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD16-Expression auf NK-Zellen verhält sich in beiden Patientengruppen gleich – sie nimmt zu allen Messtagen zu.

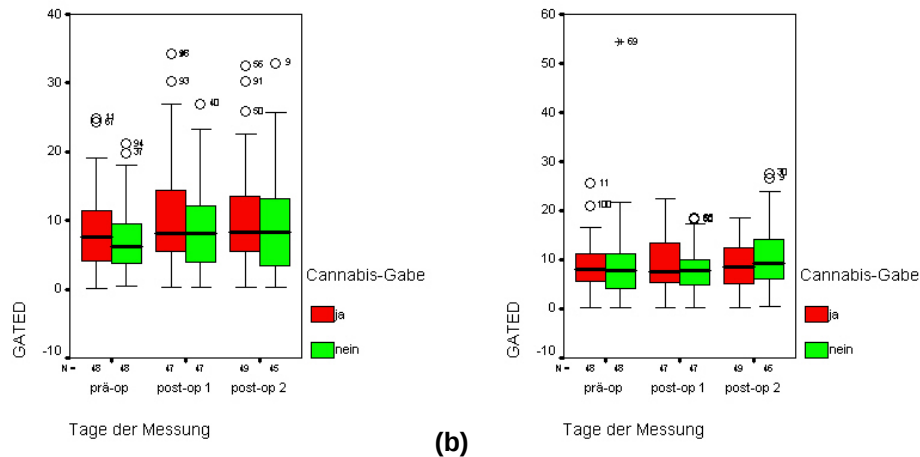


Abb. 40: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD56 in Kombination mit CD16 (a) und CD56 in Kombination mit CD161 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreißer und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression von CD56 in Kombination mit CD16 bleibt innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant. In der Verumgruppe steigt die CD56+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag an und bleibt zum zweiten postoperativen Tag konstant.

Bei der Expression von CD56 in Kombination mit CD161 unterscheiden sich beide Patientengruppen. In der Verumgruppe bleibt die CD56+ Zellzahl innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant. Dagegen nimmt sie in der Placebogruppe zum ersten postoperativen Tag konstant, um dann anzusteigen.

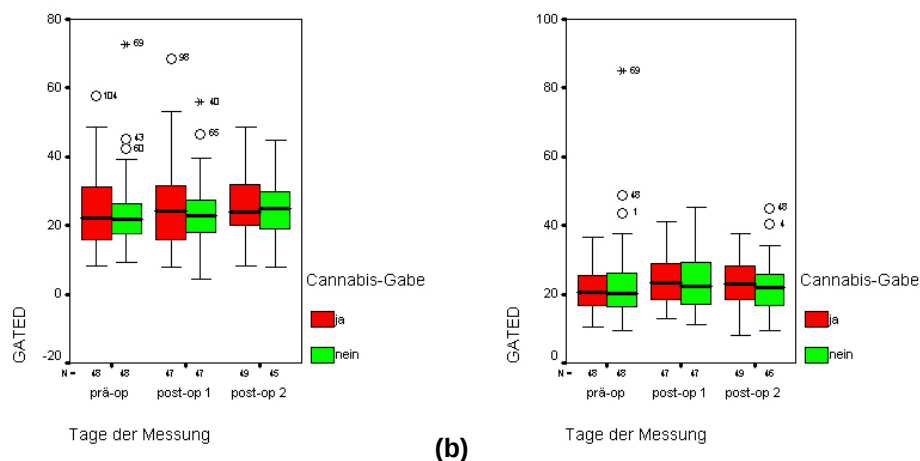


Abb. 41: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD56 in Kombination mit CD3 (a) und des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD56-Expression in Kombination mit CD3 und die Expression von HLA-DR in der Verumgruppe verhalten sich zu allen Messtagen gleich. Sie nehmen zum ersten postoperativen Tag zu, um dann zum zweiten postoperativen Tag konstant zu bleiben.

Auch die CD56-Expression der Placebogruppe bleibt zum ersten postoperativen Tag gleich und steigen dann zum zweiten postoperativen Tag an, wohingegen die HLA-DR-Expression zum ersten postoperativen Tag ansteigt und bleibt dann zum zweiten postoperativen Tag konstant.

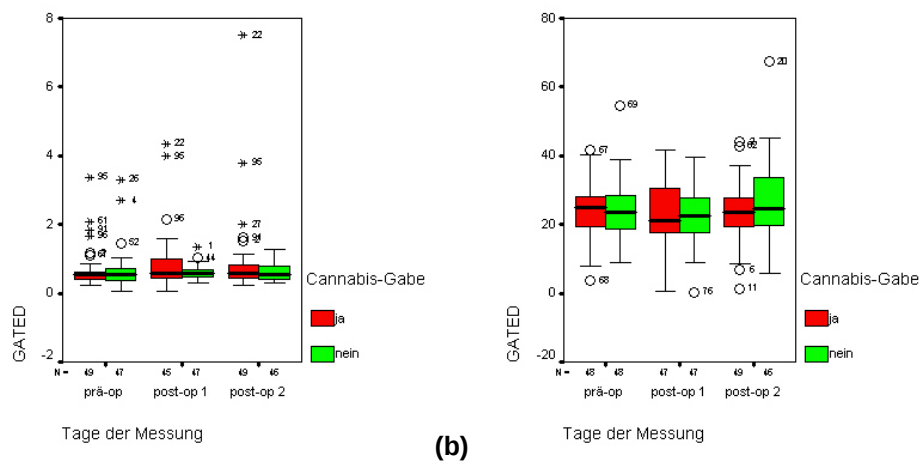


Abb. 42: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) Valpha 24 (V α 24) (a) und CD161 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die V α 24- und CD161-Expressionen verhalten sich innerhalb beider Gruppen zu allen Messtagen gleich.

Die V α 24-Expression bleibt zu allen Messtagen konstant. Im Gegensatz dazu steigt die CD161-Expression zum ersten postoperativen Tag an und sinkt zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

Tab. 9: Vergleich der Medianwerte natürlichen Killerzell-Oberflächenantigene (NK-Oberflächenantigene, CDx= Cluster of Differentiation, des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) und Valpha 24 (V α 24)) zwischen der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) positiven (Delta-9-THC: ja) und der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) negativen (Delta-9-THC: nein) Patientengruppe im Lymphozytenfenster (R1) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2), und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

NK-Oberflächenantigene im R1						
Marker	Delta-9-THC	Messtag			Wertung	
		d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
CD16	ja	13,0	14,8	15,7	↑	↑
	nein	10,6	13,8	14,7	↑	↑
CD56 /CD16	ja	7,7	8,1	8,2	■	—
	nein	6,2	8,1	8,4	↑	■
CD56/ CD161	ja	8,0	7,6	8,4	■	□
	nein	7,7	7,8	9,4	□	↑
CD56/ CD3	ja	22,2	24,3	24,1	↑	□
	nein	21,9	22,7	24,9	□	↑
HLA-DR	ja	20,5	23,5	23,1	↑	■
	nein	20,2	22,2	21,8	↑	■
Va24	ja	0,5	0,6	0,6	■	■
	nein	0,5	0,6	0,5	■	■
CD161	ja	24,8	21,2	23,4	—	—
	nein	23,5	22,5	24,7	↓	↑

4.2.2 APC-Oberflächenantigene

4.2.2.1 APC-Oberflächenantigene im R2

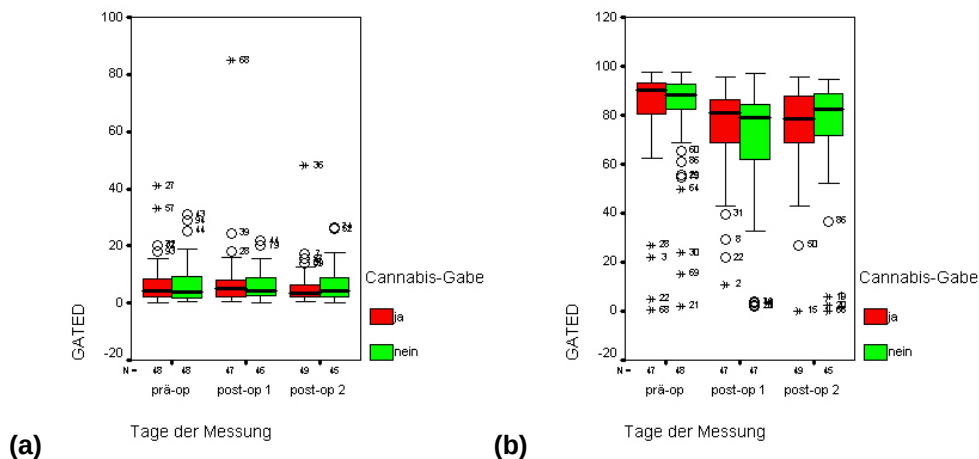


Abb. 43: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD80 (a) und CD86 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), * mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression von CD80 unterscheidet sich innerhalb beider Patientengruppen. Während sie in der Placebogruppe an allen Messtagen konstant bleibt, bleibt die Expression in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag auch konstant, um dann abzusinken.

Bei CD86 verhalten sich die Expressionen zum ersten postoperativen Tag in beiden Patientengruppen gleich, sie nehmen ab. Zum zweiten postoperativen Tag steigt die Expressionsrate in der Placebogruppe wieder an, während sie in der Verumgruppe weiter absinkt.

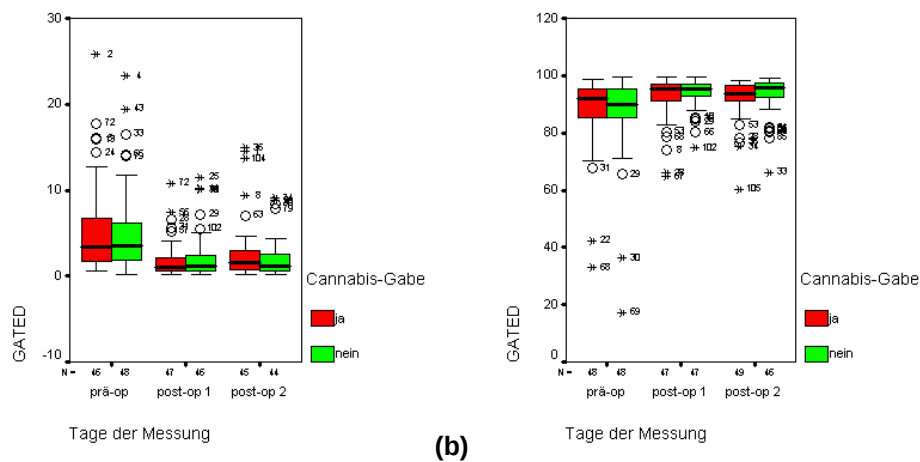


Abb. 44: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD83(a) und CD64(b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD83-Expression verhält sich zum ersten postoperativen Tag in den beiden Patientengruppen gleich. Sie nimmt ab. Zum zweiten postoperativen Tag bleibt dann die Expression in der Placebogruppe konstant, während sie in der Verumgruppe wieder ansteigt.

Die CD64-Expression nimmt in beiden Patientengruppen zum ersten postoperativen Tag zu. Zum zweiten postoperativen Tag nimmt sie in der Verumgruppe ab oder bleibt, wie in der Placebogruppe, konstant.

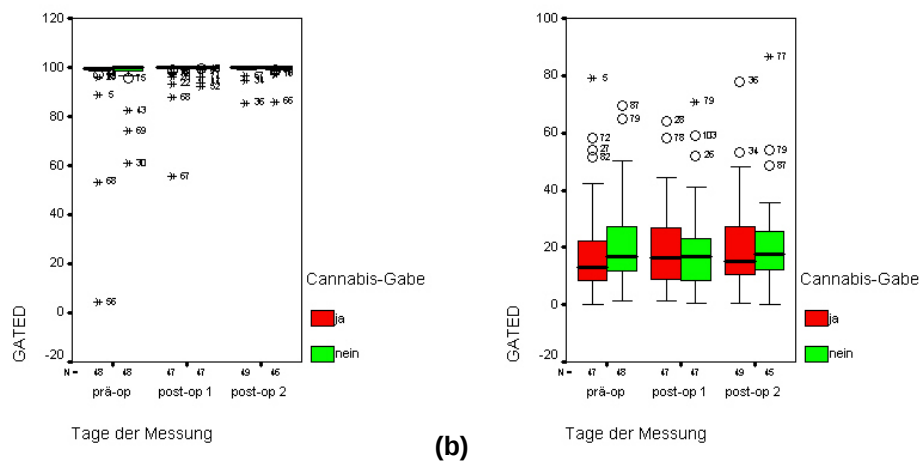


Abb. 45: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD14 (a) und CD1a (b) positiven Zellen im Monozytenfenster am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Zum ersten postoperativen Tag nimmt die CD1a-Expression der Verumgruppe zu und in der Placebogruppe bleibt die CD1a+ Zellzahl konstant. Zum zweiten postoperativen Tag sinkt die Expressionsrate von CD1a in der Verumgruppe ab, wohingegen sie in der Placebogruppe ansteigt.

Die Expressionen von CD14 bleiben an allen Messtagen in beiden Patientengruppen konstant.

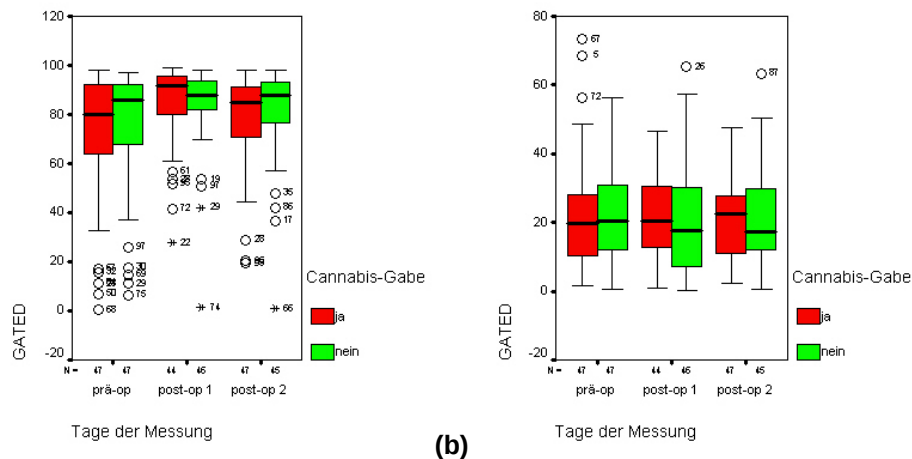


Abb. 46: Streudiagramm der Toll-like Rezeptoren TLR2 (a) und TLR4 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientenummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientenummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Zum ersten postoperativen Tag verhalten sich die Expressionen von TLR2 beider Gruppen gleich, sie nehmen zu. Die TLR4+ Zellzahlen bleiben in der Verumgruppe konstant oder nehmen wie in der Placebogruppe zum ersten postoperativen Tag ab. Zum zweiten postoperativen Tag nimmt die Expression von TLR2 in der Verumgruppe ab. Die Expressionen von TLR2 und der TLR4 der Placebogruppe bleiben zum zweiten postoperativen Tag konstant.

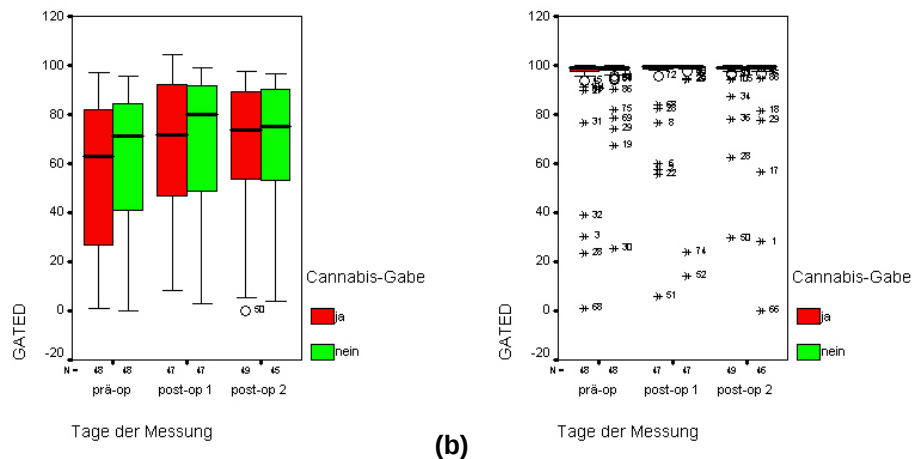


Abb. 47: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz) CD95 PE (a) und CD95 FITC (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientenummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientenummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD95 FITC+ Zellzahlen beider Patientengruppen bleiben innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant.

Zum ersten postoperativen Tag steigen die CD95 PE+ Zellzahlen beider Patientengruppen an. In der Verumgruppe steigt dann zum zweiten postoperativen Tag die Expression weiter an, wohingegen sie in der Placebogruppe abfällt.

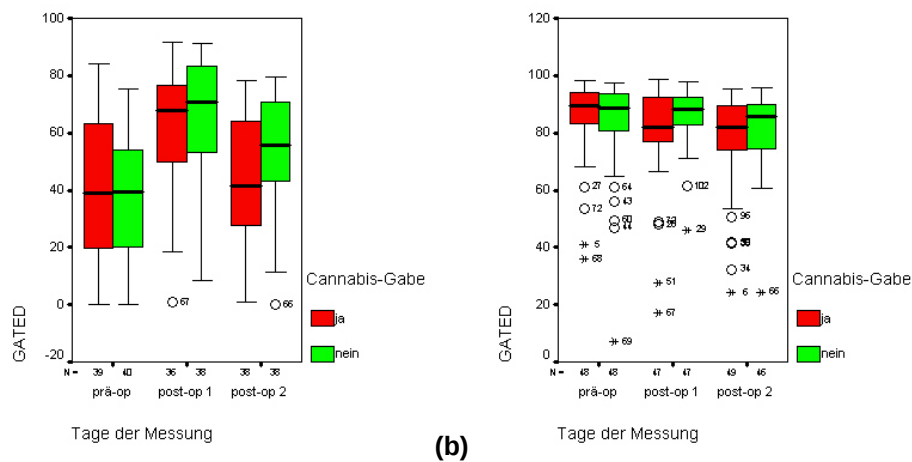


Abb. 48: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD163 (a) und humanes Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD163-Expression beider Patientengruppen steigen zum ersten postoperativen Tag an und sinken zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

Die HLA-DR-Expression verhält sich innerhalb beider Patientengruppen genau entgegengesetzt. Zum ersten postoperativen Tag sinkt die Expressionsrate der Verumgruppe ab, während die Expressionsrate der Placebogruppe konstant bleibt. Zum zweiten postoperativen Tag bleibt die Expressionsrate der Verumgruppe konstant während die Expressionsrate der Placebogruppe sinkt.

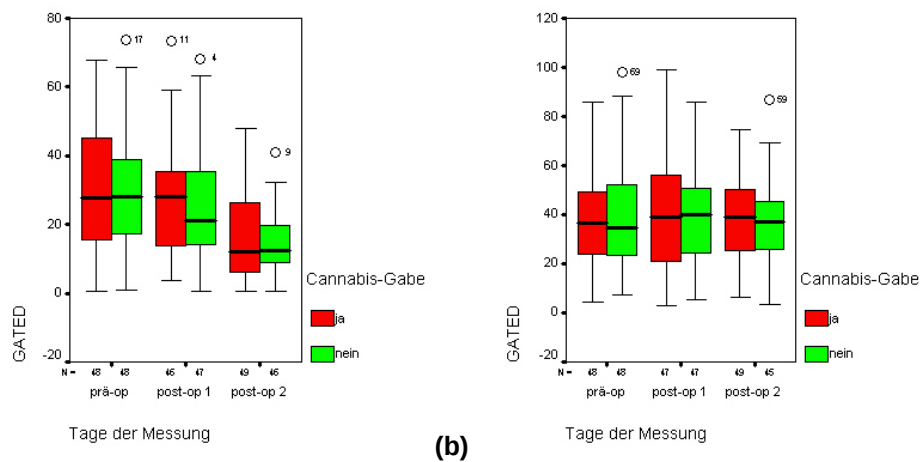


Abb. 49: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD123 (a) und CD16 (b) positiven Zellen im Monozytenfenster R2 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Zum ersten postoperativen Tag verhalten sich die CD123-Expressionen beider Patientengruppen genau entgegengesetzt: In der Verumgruppe steigt sie an und in der Placebogruppe bleibt sie konstant. Zum zweiten postoperativen Tag sinkt bei beiden Patientengruppen die CD123-Expressionsrate.

Auf Monozyten verhält sich die Expression von CD16 in beiden Gruppen annähernd gleich. Zum ersten postoperativen Tag nimmt sie zu und zum zweiten postoperativen Tag bleibt sie entweder gleich, wie in der Gruppe der Verumpatienten, oder nimmt wieder ab, wie in der Placebogruppe.

Tab. 10: Vergleich der Medianwerte Antigen-präsentierenden Zelloberflächenantigene (APC-Oberflächenantigene, CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz, der Toll-like Rezeptoren (TLR) und des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR)) zwischen der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) positiven (Delta-9-THC: ja) und der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) negativen (Delta-9-THC: nein) Patientengruppe im Monozytenfenster (R2) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2), und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

APC-Oberflächenantigene im R2							
Marker	Delta-9-THC	Messtag			Wertung		
		d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)	
CD80	ja	4,3	4,9	3,6	— —	— —	
	nein	3,9	4,1	4,4	—	—	
CD86	ja	90,2	81,1	78,5	↓	↓	
	nein	88,5	78,8	82,6	↓	↑	
CD83	ja	3,3	1,0	1,6	↓	↑	
	nein	3,5	1,2	1,2	↓	□	
CD64	ja	92,2	95,3	93,7	↑	↓	
	nein	89,7	95,5	95,7	↑	—	
CD14	ja	99,7	99,9	99,9	—	—	
	nein	99,8	100,0	99,8	—	—	
CD1a	ja	12,8	16,3	15,2	↑	↓	
	nein	16,7	16,7	17,6	—	↓	
TLR 2	ja	80,0	91,9	85,0	↑	↓	
	nein	85,7	87,9	87,6	↑	—	
TLR4	ja	19,6	20,4	22,5	—	↑	
	nein	20,6	17,8	17,2	↓	↓	
CD95 PE	ja	62,8	71,6	73,5	↑	↑	
	nein	71,1	79,8	75,1	↑	↓	
CD95 FITC	ja	99,1	99,5	99,2	—	—	
	nein	98,9	99,4	99,4	↑	—	
CD163	ja	39,0	67,6	41,4	↑	↓	
	nein	39,5	70,8	55,8	↑	↓	
HLA-DR	ja	89,7	82,1	82,1	↓	—	
	nein	88,6	88,2	85,9	—	↓	
CD123	ja	27,8	28,1	12,1	↑	↓	
	nein	28,2	21,1	12,4	↓	↓	
CD16	ja	36,8	39,1	39	↑	—	
	nein	34,8	40	37,2	↑	↓	

4.2.2.2 APC-Oberflächenantigene im R3

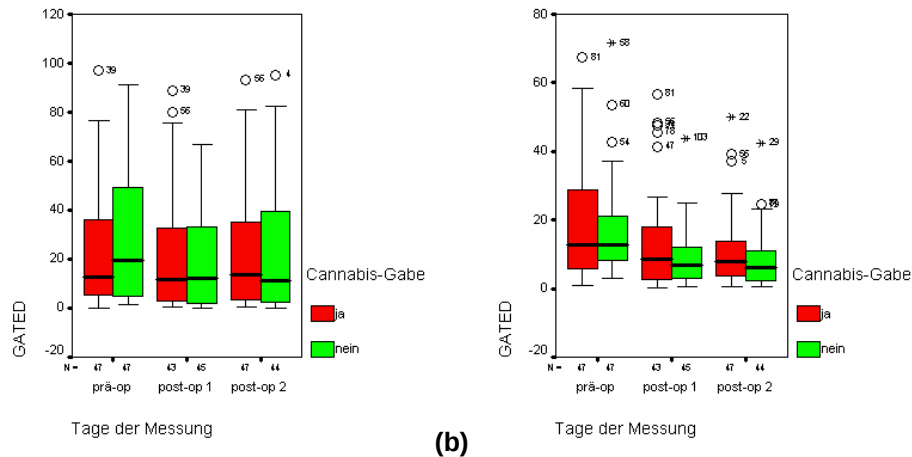


Abb. 50: Streuungsdiagramm der Toll-like Rezeptoren TLR2 (a) und TLR4 (b) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression von TLR2 der Placebogruppe und die TLR4-Expression beider Patientengruppen verhalten sich zum ersten postoperativen Tag gleich, sie nehmen ab. Zum zweiten postoperativen Tag bleiben die TLR4-Expressionen konstant, wohingegen die TLR2-Expression der Placebogruppe weiter abnimmt. Auch die TLR2-Expression der Verumgruppe nimmt zum ersten postoperativen Tag ab, aber dann zum zweiten postoperativen Tag wieder zu.

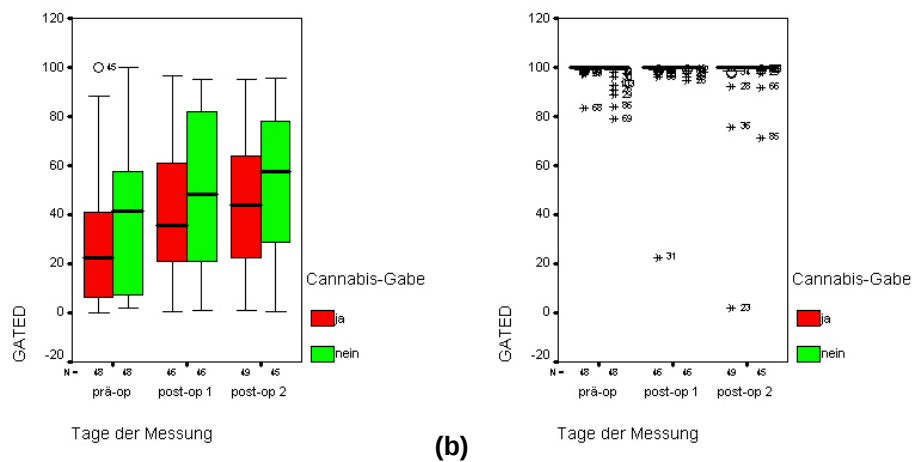


Abb. 51: Streuungsdiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD64 (a) und CD16 (b) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die CD64- und die CD16-Expressionen beider Patientengruppen verhalten sich gleich.

Die CD64+ Zellzahl nimmt zu allen Messtagen zu; die CD16-Expression bleibt an allen Messtagen konstant.

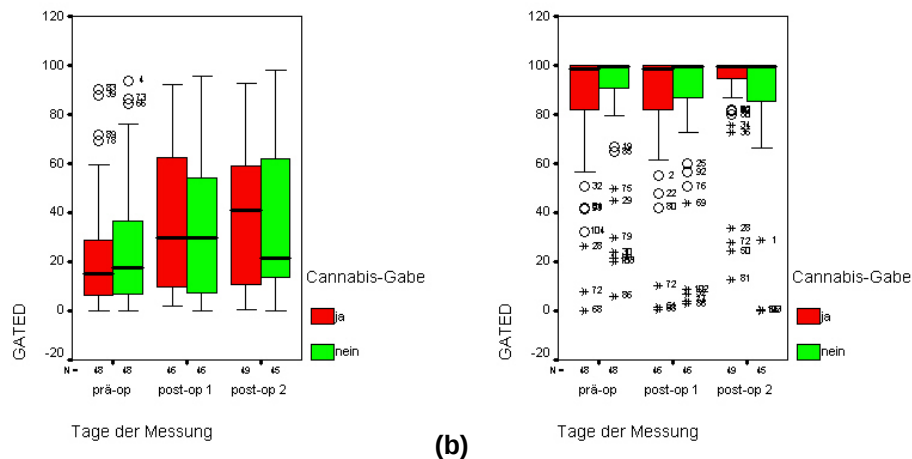


Abb. 52: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz) CD95 PE (a) und CD95 FITC (b) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientenummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientenummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Zum ersten postoperativen Tag nimmt die CD95 PE-Expression der Patientengruppen zu. In der Verumgruppe steigt sie zum zweiten postoperativen Tag weiter an, wohingegen die CD95 PE+ Zellzahl in der Placebogruppe wieder abnimmt.

Die CD95 FITC-Expressionen beider Patientengruppen bleiben innerhalb des Messzeitraumes konstant. Lediglich die CD95 FITC+ Zellzahl der Verumgruppe nimmt zum zweiten postoperativen Tag leicht zu.

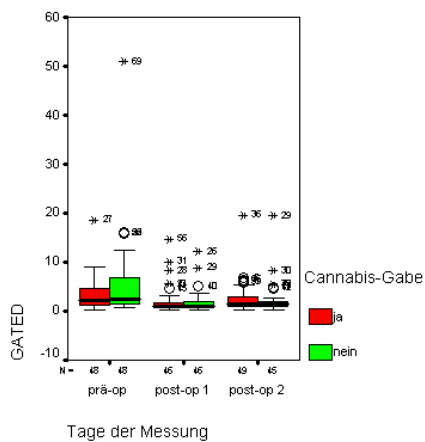


Abb. 53: Streuungsdiagramm des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) positiven Zellen im Granulozytenfenster R3 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die HLA-DR-Expressionen beider Patientengruppen verhalten sich innerhalb des Messzeitraumes gleich; zum ersten postoperativen Tag nimmt die positive Zellzahl ab und zum zweiten postoperativen Tag zu.

Tab. 11: Vergleich der Medianwerte Antigen-präsentierenden Zelloberflächenantigene (APC-Oberflächenantigene, CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz, der Toll-like Rezeptoren (TLR) und des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR)) zwischen der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) positiven (Delta-9-THC: ja) und der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) negativen (Delta-9-THC: nein) Patientengruppe im Granulozytenfenster (R3) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2), und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

APC-Oberflächenantigene im R3						
Marker	Delta-9-THC	Messtag			Wertung	
		d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+1)	(d+1) zu (d+2)
TLR 2	ja	12,7	11,8	13,4	↓	↑
	nein	19,4	12,2	11,4	↓	↓
TLR4	ja	12,9	8,6	8,0	↓	-
	nein	12,6	6,7	6,2	↓	-
CD64	ja	22,2	35,5	44,0	↑	↑
	nein	41,3	48,3	57,5	↑	↑
CD16	ja	99,8	99,9	99,8	□	□
	nein	99,8	99,9	99,8	□	□
CD95 PE	ja	15,1	29,8	41,2	↑	↑
	nein	17,4	29,5	21,6	↑	↓
CD95 FITC	ja	98,5	98,6	99,5	-	↑
	nein	99,5	99,5	99,4	-	-
HLA-DR	ja	2,1	1,0	1,4	↓	↑
	nein	2,5	1,0	1,4	↓	↑

4.2.3 Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im R1

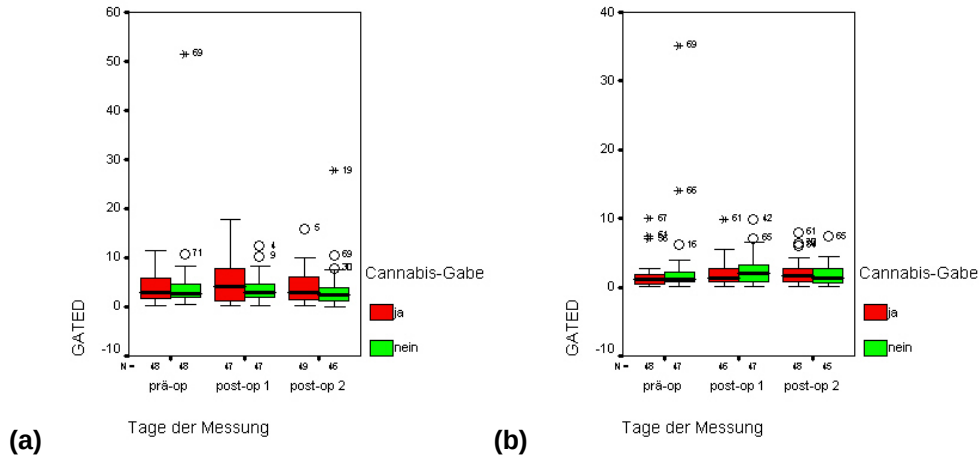


Abb. 54: Streudiagramm der Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) CD123 (a) und CD117 (b) positiven Zellen im Lymphozytenfenster R1 am präoperativen (=prä-op), 1.postoperativen (=post-op1) und am 2. postoperativen Tag (=post-op2) (Tage aufgetragen auf der x-Achse) angegeben als %gated (=Zellen, welche dieses Merkmal tragen) auf der y-Achse der Placebogruppe (=grün, Cannabis-Gabe nein) und der Verumpatienten (=rot, Cannabis-Gabe ja); o mit Zahl= Ausreisser und Patientennummer (Wert ist größer gleich 1,5facher Interquartilsabstand und kleiner 3facher Interquartilsabstand), ε mit Zahl= Extremwerte von Patienten (Patientennummer) (Wert ist größer gleich 3facher Interquartilsabstand)

Die Expression von CD123 nimmt in der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag zu und fällt zum zweiten postoperativen Tag wieder ab. Dagegen bleibt die CD123+ Zellzahl der Placebogruppe innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant

Die CD117+ Zellzahlen bleiben in beiden Patientengruppen und innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant.

Tab. 12: Vergleich der Medianwerte der Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene Oberflächenantigene (CDx= Cluster of Differentiation) zwischen der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) positiven (Delta-9-THC: ja) und der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) negativen (Delta-9-THC: nein) Patientengruppe im Granulozytenfenster (R3) vom präoperativen (d-1) zum ersten postoperativen Tag (d+1) sowie vom ersten postoperativen Tag (d+1) zum zweiten postoperativen Tag (d+2), und die Bewertung der Veränderung; Ausgemalte Symbole stellen die diskutierten Veränderungen dar

Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im R1 und R2						
Marker	Delta-9-THC	Messtag			Wertung	
		d-1	d+1	d+2	(d-1) zu (d+2)	(d+1) zu (d+2)
CD123	ja	2,9	4,2	2,9	↑	↓
	nein	2,7	3,0	2,5	—	—
CD117	ja	1,1	1,4	1,6	—	—
	nein	1,2	2,1	1,3	—	—

5. Diskussion

Im folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchung besprochen. Zur Interpretation der Daten werden ausschliesslich Mediane herangezogen, da sich Mediane wie schon in Material und Methoden erklärt, im Gegensatz zu den arithmetischen Mittelwerten - robuster gegenüber extremen Beobachtungen verhalten. D.h. sie werden nicht so sehr von einzelnen asymmetrisch auftretenden Ausreißern beeinflusst. Im weiteren sind alle genannten Werte als Mediane definiert.

Da man Veränderungen der Expression von Oberflächenantigenen durch operatives Trauma oder durch die immunmodulatorische Wirkung von Δ^9 -THC darstellen will, werden die Expressionsdifferenzen vom präoperativen auf den ersten postoperativen Tag (gleichbedeutend mit „zum ersten postoperativen Tag“ oder „durch die Operation“) und vom ersten postoperativen auf den zweiten postoperativen Tag (gleichbedeutend mit „zum zweiten postoperativen Tag“ oder „nach der Operation“) beschrieben.

5.1 Ergebnisse der Patienten aus der Placebogruppe

5.1.1 Relative Zellzahlen und CRP

Mit der Auswertung der Oberflächenantigenprofile von radikal prostatektomierten Patienten sollte die Wirkung einer großen Operation, die Wirkung der Opiate und des Δ^9 -THCs auf das Immunsystem abgeschätzt werden. Ein grosses operatives Trauma ist gleichbedeutend mit einer SIRS (Lozano 2005) und löst eine entzündungsspezifische Reaktion aus (Kell 1999). Wie auch schon *Arkader et al* beschrieb, steigt z.B. das CRP durch die Wirkungen einer SIRS an (Abbildung 6b) (Arkader 2004). *Saenz et al* beschrieb zusätzlich eine Zunahme der Monozyten und deren Subpopulationen. Durch diese Zunahme konnte man die Patienten in eine Risikogruppe mit hoher und niedriger Mortalität unterteilen (Saenz 2001). Dieser Zusammenhang steht im Gegensatz zu den in dieser Studie mit der Placebogruppe gemachten Ergebnissen (Abbildung 6a).

5.1.2 Apoptose-Rezeptor: CD95 und Epitope

Apoptoserezeptoren werden bei SIRS vermehrt exprimiert.

Hier wurde der wichtigste Apoptoserezeptor mit zwei monoklonalen Antikörpern getestet. Die beiden Antikörper erkennen verschiedene Epitope (APO-1 = CD95 FITC = Fas und DX-2 = CD95 PE). Es wird angenommen, dass die CD95-Epitope durch Oxidation von Cystinbereichen verändert werden. Vermutlich verändert auch die Bindung des CD95-Liganden (sCD178) die Zugänglichkeit der CD95-Epitope.

Wie man in Abbildung 10 sehen kann, nimmt die Expression beider Epitope von CD95 auf den Lymphozyten zum ersten postoperativen Tag zu und dann wieder ab. Abbildung 22 zeigt, dass der Median beider Epitope auf den Monozyten durch die Operation zunimmt. Nach der Operation nimmt die erhöhte Expressionsrate dann wieder ab (CD95 PE) oder bleibt konstant (CD95 FITC).

Auf den Granuloyzyten dagegen bleibt die CD95 FITC-Expression innerhalb des Messzeitraumes konstant. Dagegen nimmt die CD95 PE+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag zu und dann zum zweiten postoperativen Tag wieder ab (Abbildung 27).

Da CD95 auf aktivierten T- und B-Zellen exprimiert wird, ist die Apoptose durch CD95 eine geeignete Möglichkeit, nach einer Infektion, die Anzahl aktivierter Effektorzellen durch CD95+ regulierende Zellen zu reduzieren (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.17). Auch ist die Apoptose durch CD95 eine Möglichkeit, intrazelluläre Erreger abzutöten (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.21). Durch eine Signaltransduktionskette werden sogenannte Caspasen aktiviert, die nach mehreren Zwischenschritten eine Endonuklease aktivieren, welche in den Zellkern transloziert wird und die DNA abbaut (Janeway Teil III, Kapitel 6, 6.18). Dabei kann auch eingebaute virale DNA abgebaut und dadurch verhindert werden, dass sich noch vor Untergang der Zelle Virione zusammenlagern und beim Untergang der Zelle infektiöse Viren freierwerden, die andere Zellen befallen können (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.21).

Wie man in verschiedenen Studien feststellte, nimmt die CD95-Expression zumeist im Rahmen einer postoperativen SIRS zu (Doughty 2002). Auch *Freitas et al* fanden einen Zusammenhang zwischen erhöhten sCD95- und CD95-Liganden-Werten und dem Auftreten einer SIRS. Zusätzlich fanden sie erhöhte Werte bei an einer SIRS oder an einem Multiorganversagen verstorbenen Patienten. Dies lässt vermuten, dass die sFas-Liganden-Werte einen Rückschluss auf die Überlebensrate der Patienten ermöglichen (Freitas 2004).

Kawahito et al vermutete auch einen Zusammenhang zwischen der Zunahme der CD95-Expression und dem chirurgischen Schaden (Kawahito 2000). *Scholz et al* fanden in Tierversuchen ähnliche Ergebnisse. Daher vermutete man, dass die Herabregulierung der Leukozyten durch die erhöhte CD95-Expression, den Nutzen einer Operation beeinflusst (Scholz 2004).

Die hier gewonnenen Ergebnisse bestätigen diese Zusammenhänge und zeigen zusätzlich, dass die Veränderungen eher das DX-2-Epitop als das APO-1-Epitop betreffen.

5.1.3 Pathogenrezeptoren TLR2+4 und CD14

In dem Immunphänotypisierungsmodell wurden zwei Pathogenrezeptoren, TLR2 und TLR4, untersucht. Sie gehören zu der Toll-Rezeptorfamilie und unterscheiden sich lediglich durch ihre Liganden: TLR2 bindet an mikrobielle Lipoteichonsäureproteogly-

kane, CMV-Antigene und Determinanten anderer Viren (Compton 2003; Lee 2006; Janeway Teil I, Kapitel 2, 2.16 und Netea 2004). TLR4 bindet an Lipopolysaccharid/Lipopolysaccharid-Binding-Protein-Komplex (LPS/LPB-Komplex) (Janeway Teil I, Kapitel 2, 2.16).

TLR4 bindet nicht direkt an den LPS/LPB-Komplex. Die Bindung wird durch das Oberflächenantigen CD14 vermittelt. Bildet nun LPS, als Bestandteil der Bakterienwand gramnegativer Bakterien, einen Komplex mit LPB, kann dieser an CD14 binden. Dies veranlasst CD14 mit TLR4 zu aggregieren. Durch den dadurch aktivierten Signalweg transloziert der Transkriptionsfaktor NF κ B in den Zellkern und beeinflusst die Transkription verschiedener Gene, welche zur Inflammationskaskade gehören (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.6).

So werden z.B. durch die veränderte Transkription in dendritischen Zellen vermehrt die Korezeptoren CD80 (B7.1) und CD86 (B7.2) und verschiedene inflammatorische Zytokine gebildet.

Wie man in Abbildung 21 und Abbildung 25 sieht, nimmt die TLR2- und TLR4-Expression auf den Granulozyten und die TLR4-Expression auf den Monozyten durch die Operation ab. Nur die TLR2-Expression auf den Monozyten nimmt durch die Operation zu.

Nach der Operation, also zum zweiten postoperativen Tag, bleibt die TLR-Expression sowohl auf Monozyten als auch auf Granulozyten konstant.

Auch andere Studien beschrieben, dass nach einem operativen Eingriff die TLR4-Expression auf den verschiedenen Leukozytenarten abnimmt (Sbrana 2005). *Sbrana et al* stellten fest, dass bei einer Reperfusion der Koronarien nach einer Bypass-Operation verschiedene Oberflächenantigene, darunter auch TLR4 in ihrer Expressionsrate herab reguliert werden (Sbrana 2005).

CD14 auf Monozyten bleibt innerhalb des Messzeitraumes konstant (siehe Abbildung 20a).

Kawasaki et al stellten fest, dass operativer Stress die CD14-Expression herab regelt, was die Gefahr postoperativer Komplikationen, wie Sepsis und Multiorganversagen in den Patientengruppen erhöht (Kawasaki 2001). Auch *Ono et al* stellten in

ihrer Studie fest, dass Patienten im septischen Schock eine signifikant niedrigere Expression von CD14 als die gesunde Kontrollgruppe haben (Ono 2004).

Lediglich *Hiki et al* fanden heraus, dass große Operationen die CD14-Expression fördern, was wohl mit dem Versuch einer möglichst effektiven Abwehr von gramnegativen Infektionen interpretiert werden kann (Hiki 2000).

Die Ergebnisse unserer Studie könnten durch eine gute perioperative Antibiotikaprophylaxe erklärt werden, welche eine mögliche Infektion verhindern.

5.1.4 Wachstumsfaktorenrezeptoren

Für die unterschiedlichen Zellpopulationen werden Wachstumsfaktoren benötigt. Man kann allerdings die Wachstumsfaktoren nicht einer bestimmten Leukozytensubpopulation zuschreiben, da sie zumeist mehrerer Leukozytenarten beeinflussen.

5.1.4.1 Alpha-Kette des IL-2-Rezeptors CD25

CD25 ist die Alpha-Kette des IL-2-Rezeptor. Eine vermehrte Expression und Stimulation des Rezeptors ist mit einer T-Zellaktivierung verbunden. Durch die IL-2-Stimulation kommt es zu einer vermehrten Produktion von Zytokinen und zur Proliferation (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.9).

Auch ist IL-2 bei der Antigenpräsentation wichtig. Wird einer nativen CD4⁺ T-Zelle durch eine dendritische Zelle ein Antigen präsentiert, wird diese durch den Kontakt mit dem MHC-I/TCR-Komplex und dem Komplex aus den kostimulatorischen Rezeptoren CD28/B7 aktiviert und produziert nun IL-2. Dieser Vorgang stimuliert ihre eigene Proliferation und Differenzierung, um auf dieses Antigen entsprechend reagieren zu können (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.10).

Wenn CD8⁺ T-Zellen aktiviert werden, benötigen sie die Hilfe einer CD4⁺ T-Zelle. Diese bindet einmal über ihren MHC-II-Rezeptor an den präsentierten Antigen/MHC-II-Komplex und zusätzlich durch den CD40-Liganden an CD40. Dadurch werden dann auf der Antigen-präsentierenden Zelle vermehrt CD80 und CD86 exprimiert, also das B7-Komplex-Molekül.

Wie man in Abbildung 9a sieht, steigt die CD25-Expression auf Lymphozyten durch die Operation an und sinkt nach der Operation wieder auf den Ausgangswert ab.

Lee et al/ stellten in ihren Untersuchungen fest, dass CD4+/CD25+ Zellen eine anergische Population darstellen, welche eine proliferationshemmende Funktion der transplantatreaktiven Zellen innehaben. Sie bemerkten zusätzlich, dass CD4+/CD25+ Zellen die proliferative Antwort von Zellen auf ein bestimmtes Antigen einschränken (Lee 2004).

Dies kann man einerseits als vermehrte T-Zell-Aktivierung, oder andererseits als vermehrte Bildung einer proliferationshemmenden Subpopulation und damit einer Immunsuppression interpretieren.

5.1.4.2 Alpha-Kette des IL-3-Rezeptors CD123

Das Oberflächenantigen CD123 ist die Alpha-Kette des IL-3-Rezeptors und bindet den Wachstumsfaktor IL-3. CD123+/HLA-DR+ Zellen sind besonders phagozytische, dendritische Zellen, wohingegen CD123+/HLA-DR-Zellen basophile PMN sind.

Abbildung 24a zeigt, dass die CD123-Expression auf den Lymphozyten innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant bleibt und auf den Monozyten innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes abnimmt (Abbildung 29).

Damit scheint durch Trauma verursachtes SIRS die Population der HLA-DR+ phagozytischen dendritischen Zellen, aber auch die basophilen Granulozyten zu senken.

5.1.4.3 Stammzellantigen CD117

CD117 veranlasst die multipotente Stammzelle, sich in eine nur noch pluripotente frühe Pro-B-Zelle um zu wandeln. Auch wird unter dem Einfluss von CD117, bzw. seinem Liganden Stem Cell Factor (SCF), die Umordnung der Gene der schweren Kette des B-Zellrezeptors und damit die Umwandlung der frühen Pro-B-Zelle in eine späte Pro-B-Zelle vollzogen (Janeway Teil III Kapitel 7, 7.3). CD117 reguliert auch die Proliferation der T-Zell-Vorläufer (Janeway Teil III Kapitel 7, 7.6).

Abbildung 29b zeigt, dass die CD117+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag ansteigt und dann wieder abfällt.

5.1.5 Lymphozyten-spezifische Oberflächenantigene

5.1.5.1 T-Zell-Antigene

Zu den T-Zellantigenen gehören die Oberflächenantigene CD2, CD4 und CD8, aber auch CD3, welches mit dem T-Zellrezeptor einen Komplex bildet.

CD2, mit dem man alle T-Lymphozyten und NK-Zellen darstellen kann, bleibt innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant (Abbildung 7a).

Nach Stimulation durch den Liganden von CD2, „Leukocyte Function associated Antigen-3“ (LFA-3 = CD58) werden alle Zellen, welche im Thymus reifen sollen, dorthin transloziert.

Später in der Entwicklung dient CD2 als Adhäsionsmolekül auf Antigen-präsentierenden Zellen.

Insgesamt steigen CD25+ Zellen durch die Operation. Da aber die CD2-Expression und damit die Anzahl reifer T-/NK-Zellen sich nicht verändert, kann dies als Hinweis einer vermehrten T-Zell-Aktivierung interpretiert werden.

Im Laufe der T-Zelldifferenzierung werden die beiden Oberflächenantigene CD4 und CD8 je nach T-Zelltyp exprimiert: CD4 auf T-Helfer-Zellen und CD8 auf zytotoxischen und suppressiven T-Zellen.

Wie man in Abbildung 8 sieht, bleiben die CD4+ und CD8+ Zellzahlen zum ersten postoperativen Tag konstant und nehmen dann zum zweiten postoperativen Tag entweder ab, wie die CD4+ Zellzahl oder steigen an, wie die CD8+ Zellzahl.

In anderen Untersuchungen wurde festgestellt, dass die CD4+ und CD8+ Zellen durch eine SIRS verringert werden (Canna 2005; Ostanin 2000).

Das Oberflächenantigen CD3 bildet mit dem T-Zellrezeptor einen Komplex und wirkt als Korezeptor bei der Antigenerkennung. CD3 leitet das Signal in das Zytoplasma der T-Zellen und bewirkt so eine Änderung der Gentranskription. Zudem ist es an der Zytokinbildung und/oder der Aktivierung jeder Form von T-Zelle mit TCR beteiligt. Die Expression von CD3 nimmt durch die Operation zu und nach der Operation, also

zum zweiten postoperativen Tag wieder bis unterhalb des Ausgangswertes ab (Abbildung 7b).

Eine Aktivierung lässt sich an der CD3-Expression, wie auch an CD25 ablesen.

5.1.5.2 B-Zell-Antigene

CD19 exprimierende Zellen bleiben innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant (Abbildung 12b).

Auch bei diesem, Wachstum stimulierenden, Faktor wirkt CD117 früher.

CD19 wird frühestens auf den späten Pro-B-Zellen exprimiert. Es bildet mit CD21 (Komplementrezeptor 2 = CR-2), CD81 (Target of Antiproliferative Antibody = TAPA 1) und dem B-Zellrezeptor einen Komplex. An CD21 kann das Komplementfaktor-Fragment C3d binden. Dadurch können opsonisierte, also mit Komplementfaktoren markierte Antigene, eine B-Zelle aktivieren und somit die Aktivierung beeinflussen. Wie oben schon erwähnt, ist CD19 schon sehr früh auf den B-Zellen exprimiert und kann so die B-Zellentwicklung mitbestimmen.

Dass CD19+ B-Zellen im Blut nach einer Operation ansteigen, unterstützt die primäre Wirkung der durch Trauma ausgelösten Inflammation, welche am 2. postoperativen Tag nicht mehr im Vordergrund steht.

Saenz *et al* fanden in ihren Untersuchungen, dass Zellen weniger CD19 exprimieren, wenn die Patienten an einer SIRS erkranken (Saenz 2001).

Da sich die CD19+ Zellzahl in dieser Studie nicht verändert, hat man also weder eine gesteigerte Inflammation durch das operative Trauma, noch ein gesteigertes Risiko an einer SIRS zu erkranken.

CD40 reguliert das B-Zellwachstum, Differenzierung und den Isotypenwechsel. Zusätzlich spielt CD40 eine wichtige Rolle bei der APC-T-Zell-Interaktion.

Abbildung 12a zeigt, dass die CD40-Expression zum ersten postoperativen Tag zu und dann zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

Wie in dem Tierversuchen von Newton beschrieben, nimmt bei einer postoperativen Sepsis auch die CD40-Expression auf peritonealen Makrophagen zu. Was den Ergebnissen dieser Studie entspricht (Newton 2004).

Auf den B-Zellen ist das Molekül CD40 schon in sehr frühen B-Zellstadien, den späten Pro-B-Zellen, exprimiert. Auch werden weitere B-lymphozytäre Oberflächenantigene, wie CD19 und CD117, zum ersten postoperativen Tag vermehrt exprimiert. Auch sie fallen dann zum zweiten postoperativen Tag wieder ab. Man kann also vermuten, dass durch die Operation vermehrt B-Zellen und Vorläufer an die Peripherie entlassen werden, und daher sowohl CD40, als auch CD19 und CD117 vermehrt gefunden werden.

5.1.6 APC-Antigene

Zu den APC-Oberflächenantigenen gehören verschiedene Rezeptoren. Diese unterteilt man in **Fc-Rezeptoren**, welche bestimmte Immunglobuline binden, in die B7-Familie, in Adhäsionssysteme und auch in **allgemeine NK-Zell-Rezeptoren**, welche verschiedene Funktionen inne haben. Manche in dem Immunphänotypisierungsmodell benutzten Oberflächenantigene können nicht in die beiden oben genannten Gruppen eingegliedert werden, weswegen sie allgemein unter APC-Antigene besprochen werden.

Das Oberflächenantigen CD163 ist ein sogenannter Scavenger-Rezeptor und wird auf allen Antigen-präsentierenden Zellen exprimiert, vor allem auf CD14+, CD16+ oder CD64+ APC's (Janeway Teil IV Kapitel 8, 8.7). CD163 stellt einen Rezeptor für Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex dar und wird durch die Interleukine 6 und 10 verstärkt exprimiert. Wandelt sich ein Monozyt in eine gewebsständige dendritische Zelle um, wird weniger CD163, aber auch CD14 und CD16 exprimiert (Chamorro 2004). Abbildung 23a demonstriert, dass die CD163+ Zellzahl der Monozyten zum ersten postoperativen Tag ansteigt und dann zum zweiten postoperativen Tag wieder abfällt.

Auch andere Studien beschrieben im Zusammenhang mit grossen Herzoperationen eine Zunahme von CD163 auf Monozyten oder einen Anstieg auf Makrophagen bedingt durch vermehrte Umwandlung der Monozyten (Goldstein 2003; Philipidis 2004). *Högger et al* beschrieben zusätzlich eine signifikante Induktion der CD163-

Expression durch Glukokortikoide und eine Verminderung der Expression durch Immunsuppressiva, wie Cyclosporin A (Högger 1998).

Ein weiterer Rezeptor, der auf Pathogene reagiert, ist CD1a. CD1a reagiert auf Endotoxine. Die Expression ist von GM-CSF abhängig (Roy 2004). Durch die Bindung des Liganden an CD1a wird die Antigen-präsentierende Zelle zur Produktion von IL-12 angeregt und aktiviert so NK-Zellen und andere T-Zellen.

Die CD1a⁺ Zellzahl bleibt zum ersten postoperativen Tag konstant, um dann zum zweiten postoperativen Tag an zu steigen (Abbildung 20b).

5.1.6.1 Fc-Rezeptoren

In dem verwendeten Immunphänotypisierungsmodell wurden zwei verschiedene Fc-Rezeptoren, CD64 und CD16 untersucht.

CD64 ist auf dendritischen Zellen und Monozyten/Makrophagen positiv und bindet das Immunglobulin IgG. IgG dient der Neutralisation von Antigenen, der Aktivierung des Komplementsystems und vor allem der Opsonisierung. Durch die Bindung von CD64 an IgG kann das Antigen von Antigen-präsentierenden Zellen aufgenommen werden, wodurch diese in der Lage sind, T-Helfer-Zellen und zytotoxische T-Zellen zu aktivieren. Diese können daraufhin Targetzellen erkennen, weitere Zytokine induzieren oder auch direkt zytotoxisch wirken (Janeway Teil IV Kapitel 9, 9.19-9.20).

Abbildung 19b und 26a zeigt, dass die CD64-Expression sowohl auf Monozyten als auch auf Granulozyten durch die Operation zunimmt. Zum zweiten postoperativen Tag verhalten sich die Monozyten und Granulozyten unterschiedlich: Auf Granulozyten steigt die CD64-Expression weiter an, wogegen sie auf Monozyten konstant bleibt.

CD16 ist ein Immunkomplexrezeptor, wird auf allen Antigen-präsentierenden Zellen exprimiert und bindet an IgG. IgG-Moleküle können auch an die Oberfläche einer infizierten Zelle binden. Dieser Komplex wird von dem CD16 der NK-Zellen erkannt. Durch eine Quervernetzung der Fc-Rezeptoren wird der NK-Zelle signalisiert diese

Zielzelle abzutöten (Janeway Teil IV Teil 9, 9.21). Nur CD16+/CD56+ NK-Zellen sind aktiv.

Abbildung 14 zeigt, dass die CD16+ Zellzahl, während des gesamten Untersuchungszeitraumes, auf den Lymphozyten zunimmt. Auf Monozyten (Abbildung 24b) nimmt die CD16+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag zu und zum zweiten postoperativen Tag ab. Auf Granulozyten bleibt die CD16+ Zellzahl innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant (Abbildung 26b).

Ono et al stellten auch in ihrer Studie fest, dass Patienten mit SIRS eine niedrigere Expressionsrate von CD16 auf Granulozyten, als non-SIRS-Patienten aufweisen. Die CD16-Expression auf Granulozyten sinkt zusätzlich bei Patienten im septischen Schock noch weiter ab, deswegen *Ono et al* daraus schlossen, dass die Expressionsrate von CD16 Rückschlüsse auf die Heftigkeit einer Krankheit zulässt (Sato-shi 2004).

Die Ergebnisse von *Ono et al* stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen in dieser Studie. Bzw. die Placebopatienten dieser Studie sind nicht an einer SIRS erkrankt.

5.1.6.2 NK- und NKT-Zellrezeptoren

Als NK-Zellrezeptoren dienen verschiedene in dem Immunphänotypisierungsmodell untersuchte Oberflächenantigene. Dazu gehören CD56, HLA-DR und V α 24.

CD56 gehört zur Ig-Superfamilie und stellt eine Isoform des neuronalen Zelladhäsionsmoleküls N-CAM dar. Dieses Oberflächenantigen wird nur auf NK-Zellen exprimiert. In dem für die Studie verwendeten Immunphänotypisierungsmodell untersuchte man CD56 in Kombination mit 3 verschiedenen Oberflächenantigenen.

Man verwendete CD56 in Kombination mit CD16; diese Kombination ist für aktivierte NK-Zellen spezifisch.

Abbildung 15a zeigt, dass die CD56 Expression auf den CD16+ Zellen durch die Operation zunimmt und danach konstant bleibt. Wie oben beschrieben, nimmt die CD16-Expression auch durch und nach der Operation auf Lymphozyten zu.

Man kann also daraus schliessen, dass durch eine Operation vermehrt aktivierte NK-Zellen entstehen.

Bei den anderen Kombinationen, mit denen CD56 getestet wurde, steigt die CD56+ Zellzahl durch die Operation leicht an oder bleibt annähernd konstant. Auch nach der Operation steigt die positive Zellzahl weiter an. Ob dieses Phänomen eine physiologische Wirkung einer Operation darstellt, sollte in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

HLA-DR ist ein Aktivierungsantigen auf T-, NK-, und AP-Zellen. Auf B- Zellen wird es konstitutiv exprimiert. HLA-DR oder DW/MHC-II-Komplex ist ein Maß für die immunologische Anergie des Patienten mit Sepsis (Volk 1999).

HLA-DR reagiert nicht kreuz mit HLA-DQ oder HLA-DP.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen (Abbildung 23b und Abbildung 28), dass die HLA-DR-Expression auf Monozyten durch die Operation konstant bleibt, während die der Granulozyten durch die Operation abfällt. Nach der Operation, also zum zweiten postoperativen Tag bleibt HLA-DR auf Granulozyten konstant und fällt auf den Monozyten ab.

In einer Studie der Anästhesie und Intensivmedizin des Klinikums Wien wurde auch festgestellt, dass sich bei Patienten, die sich einer Bypassoperation unterziehen mussten, die HLA-DR+ Zellzahlen zum ersten postoperativen Tag stark abnehmen. Ein weiteres Ergebnis war, dass die Höhe der HLA-DR-Expression keinen Einfluss auf den postoperativen Verlauf hat, d.h. dass sowohl Patienten mit hohem, als auch Patienten mit niederem HLA-DR-Level an einer postoperativen Sepsis oder SIRS erkranken können (Oczenski 2003). *Ono et al* stellten auch fest, dass die Expression von HLA-DR auf Monozyten durch eine Sepsis abfällt, was als Indikator einer postoperativen Komplikation angesehen werden kann. Auch Patienten im septischen Schock zeigen einen weiteren Abfall der HLA-DR-Expression, woraus *Ono et al* schlossen, dass die Expression des Antigens HLA-DR mit der klinischen Immunsuppression korreliert (Ono 2004).

Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu dem von *Volk et al*, welche HLA-DR auf Monozyten als Hinweis für die immunologische Anergie werten (Volk 1999).

NK-T-Zellen sind V α 24 positiv. V α kommt auf NK- und T-Zellen vor und wird bei Aktivierung dieser Zellen vermehrt exprimiert. NK-T-Zellen erkennen über V α 24/V β 11 Glykolipidantigene. *Nieda et al* zeigten, dass durch die Aktivierung der NK-T-Zellen durch α -Galaktosylceramid die Immunantwort gegen Tumore stark gesteigert werden kann (Nieda 2004). Auch wurde beschrieben, dass V α 24+ T-Zellen gegen Tumore zytotoxisch sein können. Bei vermehrter V α 24-Expression bilden sich zudem weniger häufig Ersttumore (Kawano 1999).

Die Expression von V α 24 bleibt während des gesamten Untersuchungszeitraumes annähernd konstant (Abbildung 17a), woraus man schliessen kann, dass SIRS im Mittel nicht zur Aktivierung von V α 24 führt.

5.1.7 Kostimulierende Rezeptoren

Zu den kostimulierenden Rezeptoren gehören die schon oben erwähnten Oberflächenantigene CD80 und CD86, welche vor allem die T-Zellaktivität regulieren, und das Oberflächenantigen CD40, welches an der Umwandlung der T-Helferzellen in die beiden Untergruppen TH₁ und TH₂ beteiligt ist.

CD80 und CD86 bilden zusammen den B7-Komplex. Ein Rezeptor für diesen Komplex ist das auf T-Zellen exprimierte Molekül CD28. Eine Bindung des Rezeptors an diesen Komplex oder auch die Bindung eines Antikörpers an CD28 bewirkt eine Kostimulation zur klonalen Vermehrung Antigen-spezifischer T-Zellen.

CD80 und CD86 können auch durch das Molekül CTLA-4 (CD152) gebunden werden (Janeway Teil IV Kapitel 8, 8.5). Diese Bindung moduliert das eigentliche Signal, so kann es z.B. inhibitorische Signale auf aktivierte T-Zellen aussenden (Janeway Teil IV Kapitel 8, 8.5).

Es gibt Publikationen darüber, wie sich CD80 und CD86, im Rahmen einer Sepsis als postoperative Komplikation, verhalten (Newton 2004). In diesem Tierversuch sah man, dass die CD80-Expression auf peritonealen Makrophagen bei septischen Mäusen stark abnimmt, dagegen steigt die CD40-Expression signifikant an, die CD86-Expression hingegen verändert sich gar nicht. Daher nahm man an, dass die Sepsistentstehung stark von der Expression des kostimulierenden Moleküls CD80 abhängt.

Abbildung 18 zeigt, dass durch die Operation die CD86+ Zellzahl leicht abfällt und dann zum zweiten postoperativen Tag wieder ansteigt, während die CD80-Expression innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant bleibt. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von *Newton et al.*

5.2 Vergleich der mit Delta-9-Tetrahydrocannabinol behandelten und nicht behandelten Patientengruppe Bearbeitung der Fragestellungen I und II

In den weiteren Abschnitten wird nun versucht, die Ergebnisse der Placebopatienten- also die physiologische Reaktion des menschlichen Körpers auf eine Operation unter Schmerztherapie mit Piritramid- mit den Ergebnissen der Verumpatienten zu vergleichen. Hierdurch sollen Rückschlüsse auf die Immunmodulation durch Δ^9 -THC gemacht werden.

Die Fragestellungen I und II der Studie werden zusammengefasst bearbeitet.

- I. Beeinflusst Δ^9 -THC die Immunrekonstitution nach operativem Trauma ?
- II. Welche immunologischen Oberflächenantigene der Δ^9 -THC positiven Gruppen verändern sich stark zur Δ^9 -THC negativen Gruppe ?

5.2.1 Relative Zellzahlen und CRP

Die Veränderungen des CRP's unterscheiden sich innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes zwischen beiden Patientengruppen nicht. Die Werte nehmen zu, wobei die Verumgruppe zum zweiten postoperativen Tag im Median mehr CRP bildet (Abbildung 31b).

Wie schon *Arkader et al* beschrieb, steigt z.B. das CRP durch die Wirkungen einer SIRS an (Arkader 2004). Man kann also eine immunmodulatorische Wirkung von Δ^9 -THC feststellen, d.h. das Risiko, an einer SIRS zu erkranken, ist erhöht.

Die relativen Monozytenzahlen steigen in der Verumgruppe im Gegensatz zu der Placebogruppe zum ersten postoperativen Tag an und fallen dann wieder ab. In der Placebogruppe steigen die relativen Monozytenzahlen innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes an (Abbildung 31a).

Saenz *et al* beschrieb eine Zunahme der Monozyten und deren Subpopulationen. Durch diese Zunahme konnte man die Patienten in eine Risikogruppe mit hoher und niedriger Mortalitätsrate unterteilen (Saenz 2001).

Hieraus kann eine immunmodulatorische Wirkung von Δ^9 -THC festgestellt werden, d.h. auch hier ist das Risiko, an einer SIRS zu erkranken, in der Verumgruppe erhöht.

5.2.2 Apoptose-Rezeptor: CD95 und Epitope

Wie man im Vergleich der beiden Patientengruppen sieht (Abbildung 35, Abbildung 47, Abbildung 52), verhält sich die Expression beider CD95-Epitope auf Lymphozyten bei beiden Patientengruppen zum ersten postoperativen Tag gleich, sie nimmt zu. Zum zweiten postoperativen Tag verhält sich die Expression beider Patientengruppen unterschiedlich. In der Placebogruppe nimmt die Expression beider CD95-Epitope ab und in der Verumgruppe bleibt die CD95 PE+ Zellzahl konstant, wohingegen die CD95 FITC+ Zellzahl zunimmt. Die CD95-Expressionen auf Monozyten (Abbildung 47) verhalten sich auch in beiden Patientengruppen zum ersten postoperativen Tag gleich, sie nehmen zu. Ausnahme ist allerdings die Expression von CD95 FITC in der Verumgruppe, diese bleibt konstant. Zum zweiten postoperativen Tag verhält sich die Expression von CD95 FITC innerhalb der Patientengruppen gleich, sie bleibt konstant. Die CD95 PE-Expression unterscheidet sich innerhalb der Patientengruppen. Die Verumgruppe exprimiert vermehrt CD95 PE, während die Placebopatienten weniger exprimieren. Auf Granulozyten (Abbildung 52) steigt die CD95-PE-Expression innerhalb beider Patientengruppen zum ersten postoperativen Tag an oder bleibt, wie CD95 FITC, in beiden Patientengruppen konstant. Zum zweiten postoperativen Tag hingegen nimmt die Expressionsrate von CD95 in der Placebogruppe ab (CD95 PE), oder bleibt annähernd konstant (CD95 FITC). In der Verumgruppe hingegen steigt die CD95- Expression beider Epitope weiter an.

Oberholzer et al fiel auf, dass der lösliche CD95-Ligand (sFas-Ligand) bei schwer kranken Patienten deutlich höher ist. Zusätzlich stellten sie fest, dass dieser CD95-Ligand stark chemotaktisch auf Neutrophile wirkte, ohne ihre sekretorische Aktivität zu beeinflussen (Oberholzer 2001).

Auch *Doughty et al* stellten in ihren Untersuchungen eine Zunahme von sFas in Patienten, fest welche an SIRS erkrankten. Zusätzlich korrelierten die Höhe des sFas und der inflammatorischen Zytokine mit der Entstehung eines Multiorganversagens (Doughty 2002).

Der SIRS-Effekt ist bei Δ^9 -THC-Patienten deutlicher. Zusätzlich könnte das vermehrte APO-1 auf Granulozyten der Verumpatienten bedeuten, dass weniger sCD95-Liganden (CD178) zum Auslösen der Apoptose benötigt werden.

5.2.3 Pathogenrezeptoren TLR2+4 und CD14

Wie man in der Abbildung 46a sieht, steigt auf Monozyten die TLR2+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag in beiden Patientengruppen an. Die TLR4-Expression dagegen bleibt zum ersten postoperativen Tag in der Verumgruppe konstant, während sie in der Placebogruppe absinkt. Zum zweiten postoperativen Tag sinkt die TLR2-Expression der Verum- und TLR4-Expression der Placebogruppe, während die TLR2-Expression der Placebogruppe konstant bleibt und die TLR4-Expression der Verumgruppe ansteigt. Auf Granulozyten (Abbildung 50) fällt zum ersten postoperativen Tag die Expression von TLR2 und TLR4 in beiden Patientengruppen ab. Zum zweiten postoperativen Tag bleibt die TLR4-Expressionen beider Patientengruppen konstant. Die TLR2-Expression der Placebogruppe sinkt ab, wohingegen die TLR2-Expression der Verumgruppe steigt.

Da beide Toll-Like-Rezeptoren bakterielle Produkte binden und durch die dadurch angeregte Signaltransduktion die Gentranskription beeinflussen, kann eine verstärkte Expression dieser Rezeptoren als eine verbesserte Abwehr gegen mikrobielle Erreger interpretiert werden.

Die oben beschriebenen Ergebnisse zeigen also keine Immunsuppression durch Δ^9 -THC. Auf den Monozyten zum Beispiel kann die gesteigerte TLR2- und TLR4-Expression in der Verumgruppe, aber auch die vermehrte TLR2-Expression der Placebogruppe, als Induktion der Immunzellen angesehen werden. Durch diesen Vorgang können, wie oben beschrieben, vermehrt Zytokine gebildet und über verschiedene Signalwege auch die Zellaktivierung gesteigert werden.

CD14 als Korezeptor für TLR4, bleibt in beiden Patientengruppen auf Monozyten innerhalb des Messzeitraumes annähernd konstant (Abbildung 45a).

Wie auf Seite 106 erklärt, beschreibt die Literatur, dass durch operativen Stress oder SIRS die Expression von CD14 auf Monozyten abnimmt. Aus den in dieser Arbeit gemachten Ergebnissen kann geschlossen werden, dass Δ^9 -THC keinen Einfluss auf dieses Oberflächenantigen besitzt.

5.2.4 Wachstumsfaktoren

Im Nachfolgenden werden einzelne Wachstumsfaktoren betrachtet.

5.2.4.1 Alpha-Kette des IL-2-Rezeptors CD25

Die CD25-Expression auf Lymphozyten verhält sich bei beiden Patientengruppen innerhalb des gesamten Messzeitraumes gleich (Abbildung 34a). Durch die Operation nimmt die Expressionsrate zu und zum zweiten postoperativen Tag fällt in beiden Patientengruppen die Expressionsrate von CD25 ab.

Auch dieses Oberflächenantigen ist an der Differenzierung und Aktivierung der T-Zellen beteiligt. Es wird in einem früheren Zellstadium als CD2 exprimiert.

Wie schon bei den Placebodaten ausgeführt (s.S.97), lässt eine gesteigerte CD25-Expression vermuten, dass vermehrt Vorläuferzellen (Janeway Teil IV, Kapitel 8, 8.9 und 8.10) und T_{regulatorische} Zellen gebildet werden (Carares 2003).

Da sich allerdings beide Patientengruppen nicht in der Expression von CD25 unterscheiden, hat Δ^9 -THC keinen Einfluss auf dieses Oberflächenantigen.

5.2.4.2 Alpha-Kette des IL-3-Rezeptors CD123

CD123 ist die Alpha-Kette des IL-3-Rezeptors auf Antigen-präsentierenden Zellen. Allerdings ist er nicht spezifisch für diese Zellen, sondern wird auch auf Stammzellen exprimiert.

Wie man Abbildung 49a entnehmen kann, unterscheidet sich die Expression von CD123 auf Monozyten zum zweiten postoperativen Tag innerhalb der beiden Patien-

tengruppen nicht, sie nimmt ab. Zum ersten postoperativen Tag fällt in der Placebogruppe die Expression von CD123 auf Monozyten ab, in der Verumgruppe nimmt sie zu. Auf Lymphozyten bleibt die CD123⁺-Zellzahl in der Placebogruppe während des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant, während sie in der Verumgruppe durch die Operation zu und zum zweiten postoperativen Tag abnimmt (Abbildung 54a)

Hier handelt es sich wahrscheinlich um CD123⁺/HLA-DR⁺ phagozytierende dendritische Zellen, welche eine immunsuppressive Funktion haben.

Pinzon-Charry et al stellten fest, dass die Höhe der HLA-DR- und CD123-Expression bei Patienten mit verschiedenen Karzinomarten mit dem Stadium und der Progredienz der Erkrankung korreliert. Sie zeigten auch, dass eine Vermehrung der CD11c⁺/CD123⁺ und HLA-DR⁺ Zellen mit dem Tumorstadium und Wachstumsverhalten des Tumors korreliert (Pinzon-Charry 2005).

So gesehen kann die oben gezeigte Abnahme der CD123-Expression auf Monozyten in der Placebogruppe eine Progredienz ihrer Erkrankung bedeuten.

Zusätzlich kann eine verminderte Expression von CD123 eine verminderte Aktivierung der T-Helfer₁-spezifischen Immunantwort darstellen.

Man kann also durch diese Ergebnisse sehen, dass hier Δ^9 -THC eine Induktion des Immunsystems im Sinne einer Steigerung phagozytischer Zellen bewirkt.

5.2.4.3 Stammzellantigen CD117

Zum ersten postoperativen Tag verhalten sich beide Patientengruppen in ihrer CD117-Expression genau gleich (Abbildung 54b). Die Expressionen bleiben innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant.

Da CD117 multipotente Stammzellen veranlasst, sich in eine, nur noch pluripotente frühe Pro-B-Zellen um zu wandeln, kann auch hier eine gesteigerte CD117-Expression als eine verstärkte Bildung früher B-Zellen und damit als eine gesteigerte Abwehrmöglichkeit interpretiert werden.

In weiteren Studien wäre es sinnvoll, diesen Effekt von Δ^9 -THC auf die Stammzellrekutierung zu untersuchen.

5.2.5 Lymphozyten spezifische Oberflächenantigene

5.2.5.1 T-Zell-Antigene

Zu den T-Zellantigenen gehören CD2, CD4, CD8 und CD3.

Abbildung 32a zeigt, dass sich die CD2-Expressionen der Placebogruppe auf Lymphozyten innerhalb des gesamten Messzeitraumes kaum ändern. Dagegen sinkt zum ersten postoperativen Tag die Cd2+ Zellzahl der Verumgruppe ab und steigt dann wieder an.

Dadurch dass die CD25+-Zellen in beiden Patientengruppen und die CD2+-Zellen nur in der Verumgruppe ansteigen, kann dies als eine gesteigerte Aktivierung und Differenzierung der T-Zellen interpretiert werden. Dies würde eine Induktion des Immunsystems durch Δ^9 -THC bedeuten.

Unter den CD4+ Zellen unterscheidet man weitere Subtypen: Die TH₁-Zellen aktivieren in Makrophagen durch eine Rezeptor-Ligand-Signaltransduktion, dass Phagozytosevesikel mit den sogenannten Lysosomen verschmelzen und damit die Erreger abgetötet werden (Janeway Teil IV Kapitel 8; 8.26-8.29 einschliesslich). TH₂-Zellen dagegen regen durch Zytokinbildung B-Zellen zur Antikörperproduktion an (Janeway Teil IV Kapitel 9; 9.1-9.4).

Die Expression von CD4 der Verumgruppe sinkt zum ersten postoperativen Tag ab und bleibt dann konstant, während sie in der Placebogruppe erst konstant bleibt und dann zum zweiten postoperativen Tag abnimmt (Abbildung 33b).

Da die Veränderung der CD4-Expression in beiden Patientengruppen gleich ist, sich aber in der Placebogruppe einen Tag später entwickelt, kann man von einer Immunsuppression durch Δ^9 -THC ausgehen.

Die CD8-Expressionen unterscheiden sich in den beiden Patientengruppen. In der Verumgruppe nimmt die Expression durch die Operation leicht zu und nach der Operation, also zum zweiten postoperativen Tag, wieder ab (Abbildung 33a). Bei der Placebogruppe hingegen bleibt die CD8+ Zellzahl zum ersten postoperativen Tag konstant und steigt zum zweiten postoperativen Tag wieder an.

Zytotoxische T-Zellen exprimieren den CD8-Korezeptor, der an MHC-I-Moleküle bindet. Ist eine Zelle virusinfiziert, werden Viruspartikel- vor allem virale DNS- in der Zelle degradiert und durch sogenannte MHC-I-Moleküle, einer mit dem entsprechenden „Gegenstück“ versehene zytotoxische T-Zelle präsentiert. Durch dieses „Schlüssel-Schloß-Prinzip“ werden durch zytotoxische T-Zellen sogenannte lytische Granula freigesetzt. Durch diese, zytotoxische Proteine enthaltende, Granula wird die Zielzelle getötet (Janeway Teil IV Kapitel 8; 8.21-8.26).

Die frühere Expression (1.postoperativer Tag: Verum, 2.postoperativer Tag: Placebo) von CD8 durch Δ^9 -THC könnte eine verstärkte Aktivierung des Immunsystems durch Killerzellen bedeuten.

Das Oberflächenantigen CD3 wirkt als Korezeptor bei der Antigenerkennung.

Abbildung 32b zeigt, dass sich beide Gruppen sehr unterschiedlich in Bezug auf die CD3-Expression auf den Lymphozyten verhalten.

In der Verumgruppe nimmt die positive Zellzahl zum ersten postoperativen Tag ab und zum zweiten postoperativen Tag wieder zu. Dagegen bleibt in der Placebogruppe die CD3+ Zellzahl innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant. Zusammen mit den Ergebnissen des Oberflächenantigens CD4 kann diese Beobachtung dahingehen gedeutet werden, dass Δ^9 -THC die CD3+/CD2+/CD4+-Zellen in der Peripherie verringert.

5.2.5.2 B-Zell-Antigene

Wie in Abbildung 37b ersichtlich, verhält sich die Expression von CD19 in den beiden Patientengruppen unterschiedlich. Die positive Zellzahl nimmt in Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag zu und fällt zum zweiten postoperativen Tag wieder ab, während sie in der Placebogruppe innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant bleibt.

Schliesst man die Ergebnisse von *Saenz et al* (Saenz 2001) ein, schützt Δ^9 -THC vor der Erkrankung an einer SIRS.

In Abbildung 37a wird gezeigt, dass sich die Expression von CD40 zwischen den beiden Patientengruppen genau entgegengesetzt verhält. Durch die Operation nimmt die CD40+ Zellzahl in der Verumgruppe ab, während sie in der Placebogruppe ansteigt. Nach der Operation, also zum zweiten postoperativen Tag steigt die positive Zellzahl in der Verumgruppe wieder an, während sie in der Placebogruppe absinkt.

CD40 wird auf verschiedenen Zellen, z.B. den Makrophagen, B-Zellen oder follikulären dendritischen Zellen exprimiert. Durch Bindung des CD40-Liganden an CD40 kann es durch verschiedenen Effektorwege, meist über eine Zytokinbildung, zu einer Aktivierung von verschiedenen Zellen kommen.

Der CD40-Ligand wird z.B. erst nach der Aktivierung auf T-Zellen exprimiert und kann so kostimulierende Signale modifizieren und damit die klonale Vermehrung und die Differenzierung beeinflussen. Die Ligandenbindung übermittelt den T-Zellen ein Aktivierungssignal und veranlasst zudem Antigen-präsentierende Zellen, B7-Moleküle zu exprimieren, was wiederum die T-Zellproliferation weiter anregt (Janeway Teil IV Kapitel 8, 8.5).

CD40 wird durch SIRS verstärkt (Newton 2004).

Δ^9 -THC bewirkt offensichtlich eine stärkere Aktivierung endogener Immunreaktionen, als der durch den alleinigen SIRS-Effekt vermittelt wird.

5.2.6 APC-Antigene

Auch hier werden die unterschiedlichen Rezeptoren der Antigen-präsentierenden Zellen getrennt besprochen. Die unterschiedlichen Rezeptoren besitzen verschiedene Funktionen, auf die bei den jeweiligen Oberflächenantigenen eingegangen wird. Manche in dem Immunphänotypisierungsmodell verwendeten Oberflächenantigene können nicht in die beiden unten beschriebenen Gruppen eingegliedert werden, weswegen sie direkt unter **APC-Antigene** besprochen werden.

Abbildung 48a demonstriert, dass sich die Expression von CD163 auf Monozyten bei beiden Patientengruppen nicht unterscheidet. Zum ersten postoperativen Tag nimmt die Expression in beiden Patientengruppen zu und zum zweiten postoperativen Tag wieder ab.

Offensichtlich greift Δ^9 -THC nicht in die Regulation der CD163-Expression ein.

Das APC-Molekül CD1a (Abbildung 45b) verhält sich in beiden Patientengruppen unterschiedlich. Die Verumpatienten bilden zum ersten postoperativen Tag vermehrt CD1a+ Monozyten, wohingegen die Placebogruppe eine konstante Zellpopulation aufweist. Auch zum zweiten postoperativen Tag verhalten sich die Expressionen beider Patientengruppen unterschiedlich. Die Verumgruppe reduziert die positive Zellzahl, die Placebogruppe steigert sie.

Wie schon erklärt, reagiert CD1a auf bakterielle Antigene und ist von GM-CSF abhängig (Roy 2004). Durch die Bindung des Liganden an CD1a wird die T-Zelle zur Produktion von IL-2 angeregt und aktiviert so NK-Zellen.

Das Ergebnis der Verumpatienten lässt sich als immunmodulatorische Wirkung von Δ^9 -THC interpretieren. Wie auch schon bei den Pathogenrezeptoren TLR2 und TLR4 (s.S.106 folgende) ausgeführt, könnte man eine vermehrte Expression von Rezeptoren für mikrobielle Antigene, also auch CD1a, als eine verbesserte Immunabwehr interpretieren. Dieses Ergebnis würde bedeuten, dass Δ^9 -THC auch bei diesem Oberflächenantigen nicht, wie vermutet, eine Immunsuppression hervorruft, sondern eine Induktion des Immunsystems verursacht oder sogar der unerwünschten immunsuppressiven Wirkung von Piritramid entgegenwirkt.

5.2.6.1 Fc-Rezeptoren

Bezüglich des Fc-Rezeptors Typ 1, CD64 fanden wir nur zum zweiten postoperativen Tag einen Unterschied zwischen Verum und Placebo (Abbildung 44b). Die CD64+ Zellzahl der Verumgruppe nimmt zum zweiten postoperativen Tag ab, während sie in der Placebogruppe konstant bleibt.

Es ist unwahrscheinlich, dass Δ^9 -THC erst zum zweiten postoperativen Tag wirkt, weswegen die Veränderung der CD64+ Zellzahl in der Verumgruppe nicht als immunmodulatorischer Effekt von Δ^9 -THC angesehen wird.

CD16 wird auf bestimmte Stimuli hin verstärkt exprimiert und bindet an IgG-immunkomplexierte Antigene.

Ein Unterschied zwischen Verum und Placebo stellt sich auf Monozyten zum zweiten postoperativen Tag ein. Während zum zweiten postoperativen Tag die CD16+ Zellzahl in der Verumgruppe annähernd konstant bleibt, fällt sie in der Placebogruppe ab (Abbildung 46b).

Dieses Ergebnis steht zwar im Gegensatz zu den Ergebnissen von *Ono et al*, welche einen CD16-Abfall bei einer SIRS beschrieben (Ono 2004), jedoch ist es wie oben beschrieben unwahrscheinlich, dass Δ^9 -THC erst am/zum zweiten postoperativen Tag wirkt. Daher wäre es sinnvoll dieses Ergebnis in weiteren Studien zu untersuchen.

5.2.6.2 NK- und NKT-Zellrezeptoren

Als NK-Zellrezeptoren dienen verschiedene im Immunphänotypisierungsmodell untersuchte Oberflächenantigene. Dazu gehören CD56, HLA-DR und V α 24.

CD56 stellt, wie schon erwähnt, eine Isoform des neuronalen Zelladhäsionsmoleküls N-CAM dar. Dieses Oberflächenantigen wird nur auf aktivierten NK-Zellen exprimiert. In dem verwendeten Immunphänotypisierungsmodell untersuchte man CD56 zusammen mit 3 verschiedenen Oberflächenantigenen.

Zum einen kombinierte man CD56 mit CD16. CD16+/CD56+ Zellen sind ausschließlich aktivierte NK-Zellen.

Wie man in Abbildung 40a sehen kann, nehmen die CD56+/CD16+ NK-Zellen in der Placebogruppe zum ersten postoperativen Tag zu, um dann wieder abzufallen. Bei den Verumpatienten hingegen bleibt die Zellzahl der CD56+/CD16+ Zellen innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant.

Dieses Ergebnis würde bedeuten, dass durch Δ^9 -THC die CD56+/CD16+ NK-Zellen nicht oder wenn überhaupt nur leicht immunsuppressiv beeinflusst werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen (Abbildung 41b), dass sich beide Patientengruppen in den Veränderungen der HLA-DR+ Zellen gleich verhalten. Zum ersten postoperativen Tag nimmt in beiden Patientengruppen die HLA-DR-Expression auf Lymphozyten zu und bleibt dann zum zweiten postoperativen Tag konstant.

Auf Monozyten (Abbildung 48b) verhalten sich beide Patientengruppen in ihrer HLA-DR-Expression genau entgegengesetzt. Zum ersten postoperativen Tag nimmt die HLA-DR+ Zellzahl in der Verumgruppe ab, während sie bei den Placebopatienten konstant bleibt. Zum zweiten postoperativen Tag bleibt die Expression der Verumgruppe konstant, während die Expression der Placebogruppe abfällt.

Auf den Granulozyten nimmt die HLA-DR-Expression beider Patientengruppen zum ersten postoperativen Tag ab und dann wieder zu (Abbildung 53).

Da sich die Entwicklung der HLA-DR-Expressionsveränderung auf den Monozyten der Verumgruppe um einen Tag früher ereignet als in der Placebogruppe, kann man auf einen immunsuppressiven Effekt durch Δ^9 -THC schliessen.

5.2.7 Kostimulierende Rezeptoren

Die Expression des kostimulierenden Moleküls CD80 bleibt in der Placebogruppe innerhalb des gesamten Messzeitraumes annähernd konstant, während die Expression der Verumgruppe zum ersten postoperativen Tag auch konstant bleibt, aber zum zweiten postoperativen Tag leicht abfällt (Abbildung 43a).

da es wie oben auch schon ausgeführt unwahrscheinlich ist, dass Δ^9 -THC erst am/zum zweiten postoperativen Tag wirkt, sollte auch dieses Ergebnis in weiteren Studien untersucht werden. Dafür würden sich auch Tierversuche eignen.

Im Gegensatz dazu nimmt die CD86-Expression auf Monozyten der Verumpatienten innerhalb des gesamten Messzeitraumes ab. Die Expressionsrate der Placebopatienten nimmt auch zum ersten postoperativen Tag ab, steigt aber dann zum zweiten postoperativen Tag wieder an (Abbildung 38b).

Schaut man sich diese Ergebnisse an, kann man sagen, dass Δ^9 -THC die CD80-Expression zu Ungunsten von CD86 verändert.

Zu den kostimulierenden Rezeptoren gehört, wie schon erklärt auch das Oberflächenantigen CD 40. Die Ergebnisse kann man unter B-lymphozytäre Oberflächenantigene auf S.110 nachlesen.

5.3 Bearbeitung der Fragestellungen III und IV

III. Haben die gefundenen Oberflächenantigene einen Bezug zur Tumorummunität ?

In dem benutzten Immunphänotypisierungsmodell sind verschiedene Oberflächenantigene mit Bezug zur Tumorummunität verwendet.

Ein wichtiges Oberflächenantigen ist $V\alpha 24$. $V\alpha 24$ wird auf NK- und T-Zellen exprimiert. Bei Aktivierung dieser Zellen steigt die Anzahl der an der Zelloberfläche gelegenen Moleküle.

Wie in Abbildung 39a dargestellt, unterscheidet sich die Expression von $V\alpha 24$ innerhalb beider Gruppen und innerhalb des gesamten Messzeitraumes kaum. Die Expressionsraten von $V\alpha 24$ bleiben annähernd konstant.

$V\alpha 24$ erhöht nicht nur die Zytotoxizität der T- und NK-Zellen, sondern fördert auch die TH_2 -ZellDifferenzierung und damit auch, über die B-Zellaktivierung durch die TH_2 -Zelle, die humorale Immunantwort. Auch zeigten Studien, dass $V\alpha 24$ die Tumorummunität durch vermehrte Zytotoxizität steigert. Man wies eine gesenkte Tumorbildung oder eine gesteigerte Tumorablewehr nach (Kawano 1999). Aufgrund der Spezifität des $V\alpha 24/V\beta 11$ -Rezeptors ist eine spezifische Aktivierung gegen Glykolipidantigene eines malignen Zelltyps zu erwarten.

Da *Chan et al* in ihren Untersuchungen feststellten, dass die Endothelzellen des Prostatakarzinoms eine veränderte Glykosylierung besitzen, hoffte man durch Δ^9 -THC eine verstärkte Expression von $V\alpha 24$ zu erreichen (Chan 2001). Leider lässt sich aber anhand der Datenlage bei der Verumgruppe kein verstärkter Schutz gegenüber Tumoren in der postoperativen Phase erkennen.

Ein weiteres Oberflächenantigen, welches die Tumorummunität beeinflusst, ist CD161. CD161 wird von NK-Vorläuferzellen, T-Lymphozyten und Gedächtniszellen exprimiert. In Tierversuchen stellte man bei einer gesteigerten Expression von CD161 in bestimmten Darmabschnitten eine erhöhte Resistenz dieser Abschnitte gegen das kolorektale Karzinom fest. Man vermutet, dass die

verstärkte Resistenz durch eine erhöhte Zytotoxizität von CD161+ NK-Zellen hervorgerufen wird (Hong Xu 2005).

Wie in Abbildung 37b zu erkennen ist, verhält sich die Expression von CD161 in beiden Patientengruppen innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes gleich. Durch die Operation nimmt die CD161+ Zellzahl in beiden Gruppen ab, um dann zum zweiten postoperativen Tag wieder leicht anzusteigen. Man kann also bei diesem Oberflächenantigen keine Wirkung durch Δ^9 -THC verzeichnen.

CD25 ist auch ein T-Zellaktivierungsantigen, das an der Tumorimmunität beteiligt ist. Andererseits handelt es sich bei CD4+/CD25+ T-Zellen um T_{regulatorische} Zellen, welche die Immunantwort hemmen. Lee *et al* stellten in ihren Untersuchungen fest, dass CD4+/CD25+ Zellen eine anergische Population darstellen, welche eine proliferationshemmende Funktion der transplantatreaktiven Zellen innehaben. Sie stellten auch fest, dass CD4+/CD25+ Zellen die proliferative Antwort von Zellen auf ein bestimmtes Antigen einschränken (Lee 2004).

Andere Studien beinhalten nur Informationen aus Tierversuchen. In diesen wurde gezeigt, dass bei Knock-out-Mäusen durch verminderte Expression von CD25, vermehrt autoimmune oder lymphoproliferative Erkrankungen aufgetreten sind (Bayer 2005).

Wie auf Seite 109 beschrieben, wird durch die Therapie mit Δ^9 -THC kein Unterschied der Expressionsrate dieses Oberflächenantigens zwischen den beiden Gruppen erzielt.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass auf keine der untersuchten Oberflächenantigene, welche Bezug zur Tumorimmunität oder Autoimmunität besitzen, Δ^9 -THC einen positiven Einfluss hat.

IV. Sollte aufgrund der gefundenen Ergebnisse Δ^9 -THC zur partiellen Substitution eines Opiats verabreicht werden ?

Die Therapie mit Δ^9 -THC hat in der beschriebenen Schmerzstudie kein signifikant besseres Ergebnis gegenüber Piritramid in der analgetischen Wirkung erzielt (Seeling, 2006). Allerdings haben Opiode einen nachgewiesenen immunsuppressiven Effekt (Sacerdote 2000; Welters 2000). Durch die Studie mit Δ^9 -THC konnte der Verdacht einer stark suppressiven Wirkung dieses Stoffes nicht bestätigt werden. *Börner et al* stellten zusätzlich fest, dass durch Liganden des CB2-Rezeptors die IL-4-Produktion und damit eine verstärkte Expression des μ -Rezeptors hervorgerufen wird. Auch vermindert Δ^9 -THC andere Faktoren der Signaltransduktion wie STAT6 und GATA3, welche eine wichtige Rolle in der T-Zell-Regulation spielen (Börner 2006).

Δ^9 -THC hat auf die untersuchten Oberflächenantigene eine unterschiedliche Wirkung. Zum einen wird durch Δ^9 -THC der Immunstatus der Verumpatienten supprimiert, d.h. die Expression von CD3, CD56 in Kombination mit CD16, CD86 und CD40 nimmt im Laufe des Untersuchungszeitraumes ab. Zum anderen werden gewisse Oberflächenantigene durch die Therapie mit Δ^9 -THC verstärkt auf den Zellen exprimiert, wie z.B. die Endotoxinrezeptoren TLR2+4, der Pathogenrezeptor CD1a, die Wachstumsfaktorenrezeptoren CD19 und CD117. Auch die kostimulierenden Faktoren CD80, also ein Teil des B7-Komplexes, aber auch das Oberflächenantigen CD83 werden durch die Therapie mit Δ^9 -THC verstärkt exprimiert.

Auf T-Zellantigene, wie CD2 und CD8 hat Δ^9 -THC die gleiche Wirkung.

Zusätzlich wurde noch das Oberflächenantigen CD95 untersucht. CD95 ist ein Apoptoserezeptor, welcher durch die Therapie mit Δ^9 -THC verstärkt auf den Leukozyten exprimiert wird. Die Wirkung durch diese verstärkte Expression ist nicht wirklich eindeutig. Zum einen kann eine Steigerung von CD95 auf Zellen einen verstärkten Zelluntergang hervorrufen und damit im Sinne einer Immunsuppression wirken, zum anderen könnten aber durch den vergrößerten Zelluntergang vermehrt intrazelluläre Erreger aus dem Körper eliminiert oder deren weitere Ausbreitung eingedämmt werden.

Andere Studien haben bewiesen, dass Opiate eine immunsuppressive Wirkung besitzen (Sacerdote 2000; Welters 2000).

Die Ergebnisse der jetzigen Studie zeigen, dass die Wirkung von Δ^9 -THC auf das Immunsystem sehr unterschiedlich ist. Zusammenfassend kann man aber von einer partiellen Induktion des Immunsystems ausgehen. Deswegen ist eine Substitution von Δ^9 -THC zu einem Opiat- zur Linderung dessen immunsuppressiver Wirkung- zu empfehlen.

6. Zusammenfassung

In einer Placebo-kontrollierten Studie, wurde versucht, eine immunmodulatorische Wirkung von Cannabis im Vergleich zu Opioiden in der postoperativen Schmerztherapie aufzuzeigen. Dazu wurden 50 Patienten, welche sich einer radikalen Prostatektomie unterziehen mussten, zusätzlich zur Schmerztherapie mit dem Opioid Piritramid (Dipidolor®) mit insgesamt 40milligramm (40mg) Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) vom Tag der Operation bis zum 2. postoperativen Tag behandelt. Die Kontrollgruppe erhielt Piritramid allein. Allen 100 Patienten wurde jeweils präoperativ (d-1) und am ersten und zweiten postoperativen Tag (d+1, d+2) Ethylendiamintetraessigsäure-Blut (EDTA-Blut) abgenommen, um die Leukozytensubpopulationen im Durchflusszytometer (Fluorescence Activated Cell Sorter (FACS)) zu analysieren. Gleichzeitig wurden Blutbilder und Differentialblutbilder erstellt und C-reaktives Protein (CRP) sowie weitere Serumparameter wie Leberwerte, Elektrolyte, Blutzucker, Kreatinin und Gerinnungsparameter wie Quick und Partial Thromboplastin Time (PTT) bestimmt.

Perioperativ kam es bei allen Patienten zu einem Abfall des Hämoglobins, zu einem Abfall der relativen Lymphozyten- und Monozytenzahlen, sowie zu einem Anstieg der neutrophilen Granulozyten.

Das FACS-Analyse umfasste 28 verschiedene Oberflächenantigene (CDx = Cluster of Differentiation), welche auf Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten untersucht wurden. Die Ergebnisse wurden als Boxplots unter Angabe des Medians mit 5% und 95% Perzentilen dargestellt und innerhalb beider Patientengruppen verglichen.

Im Vergleich von Placebo- und Verumgruppe zeigte sich, dass sich eine Reihe von Oberflächenantigenen nicht veränderte. Dazu gehörten CD2+ und CD4+ T-Zellen, CD56+ natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), $V\alpha 24$ + natürlichen Killer-T-Zellen (NKT-Zellen), sowie CD161+ NK-Zellvorläufer. Allerdings zeigte der T-Zellmarker CD3 ein Abfallen in der Δ^9 -THC-Gruppe, und einen simultanen Anstieg der CD8+ Lymphozyten. Beide Marker verhielten sich in der Kontrollgruppe entgegengesetzt. Hierbei handelt es sich um eine CD8+, CD3-, T-Zellrezeptor α/β -negative NK-Zellsubpopulation. Interessanter Weise zeigten beide Gruppen identische Veränderungen in der humanen Leukozyten Antigen Klasse II-Expression (HLA-DR-Expression) und auch in der Expression des Apoptoserezeptors CD95. Diese Aktivierungsmarker nahmen perioperativ in beiden Gruppen zu. Weitere lymphozytäre Aktivierungsmarker wie CD69 und CD25 verhielten

sich ebenfalls in beiden Gruppen identisch. Die durch CD19 charakterisierten B-Zellen stiegen perioperativ nur in der Δ^9 -THC-Gruppe und blieben unter Placebo gleich. Von den monozytären Antigenen verhielten sich die Toll-like Rezeptoren (TLR-) 2 und -4 unterschiedlich: Δ^9 -THC scheint ein perioperatives Absinken von TLR-2 zu verhindern. Im Gegensatz dazu verhielten sich TLR-4 und der TLR-4-Korezeptor CD14 in den beiden Patientengruppen identisch. Der monomere Immunglobulin-G-Rezeptor CD64 stieg in der Δ^9 -THC-Gruppe deutlich stärker an als in der Placebogruppe, wohingegen sich der Immunkomplexrezeptor CD16 in beiden Gruppen gleich verhielt.

Die deutlichsten perioperativen Veränderungen zeigte der Scavengerrezeptor CD163, welcher an Haptoglobin gebundenes Hämoglobin bindet und einen immunsuppressiven Phänotyp in Monozyten induziert. CD163 stieg perioperativ auf etwa doppelt so hohe Expressionswerte an und fiel in der Δ^9 -THC-Gruppe am zweiten postoperativen Tag (d+2) fast wieder auf die präoperativen Werte ab. Dieser Abfall war in der Placebogruppe weniger deutlich. CD86 zeigte am 2. postoperativen Tag (d+2) eine stärkere Herabregulierung durch Δ^9 -THC. Aus der Gruppe weiterer Antigene, die für Antigen-präsentierende Zellen (APC) charakteristisch sind, wurde nur bei CD1a am ersten postoperativen Tag (d+1) eine deutliche Erhöhung der Expression festgestellt. Da auch die CD123+ Zellen unter dem Einfluss von Δ^9 -THC am ersten postoperativen Tag (d+1) nicht abfielen, könnten diese Befunde einen Hinweis darauf sein, dass Δ^9 -THC zu einer Mobilisierung von CD8+, CD3- NK-Zellen führt und die Anteile bestimmter APC-Subpopulationen verändert, welche CD123+ sind und CD1a exprimieren, sie jedoch zu einer geringeren Expression des Scavengerrezeptors, CD163, veranlasst.

Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die volle Bedeutung dieser beiden Zellpopulationen und ihren Einfluss auf das systemische Inflammations-Response Syndrom (SIRS) verstehen zu können.

7. Literaturverzeichnis

Abdel-Wahab Z., Cisco R., Dannull J., Ueno T., Abdel-Wahab O., Kalady M. F., Onaitis M. W., Tyler D. S., Pruitt S. K.

“Cotransfection of DC with TLR4 and MART-1 RNA induces MART-1-specific responses” The Journal of Surgical Research
124:264-273 (2005)

Akerman S., Kaube H., Goadsby, P. J.

“Anandamide Is Able to Inhibit Trigeminal Neurons Using an in Vivo Model of Trigemino-vascular-Mediated Nociception” The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
7:56-63 (2004)

Andor E. Simon, Cristoph Lauber, Katja Ludewig, Daniel S. Umbricht

“Cannabis und Psychose” Schweiz Med Forum
4:636-639 (2004)

Arkarder R., Troster E.J., Lopes M.R., Júnior R.R., Carcillo J.A., Leone C., Okay T.S.

“Procalcitonin does discriminate between sepsis and systemic inflammatory response Syndrom” Archives of Disease in Childhood
91:117-120 (2006)

Baselt R.C.: Über *“Tetrahydrocannabinol”*

In Baselt R.C. (Hrsg) *“Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man”* Fifth Edition
Foster City, Chemical Toxicology Institute, S.812-815 (1999)

Battaglia A., Ferrandina G., Buzzonetti A., Malinconico P., Legge F., Salutari V. Scambia G., Fattorossi A.

“Lymphocyte populations in human lymph nodes. Alterations in CD4+ CD25+ T regulatory cell phenotype and T-cell receptor Vbeta repertoire” Immunology
110:304-312 (2003)

Bensinger S. J., Walsh P. T., Zhang J., Carroll M., Parsons R., Rathmell J. C., Thompson C. B., Burchill M. A., Farrar M. A., Turka L. A.

"Distinct IL-2 receptor signaling pattern in CD4+CD25+ regulatory T cells" Journal of Immunology

172:5287-5296 (2004)

Bian Y., Hiraoka S., Tomura M., Zhou X. Y., Yashiro-Ohtani Y., Mori Y., Shimizu J., Ono S., Dunussi-Joannopoulos K., Wolf S., Fujiwara H.

"The capacity of the natural ligands for CD28 to drive IL-4 expression in naive and antigen-primed CD4+ and CD8+ T cells" International Immunology

17:73-83 (2005)

Bluml S., Kirchberger S., Bochkov V.N., Kronke G., Stuhlmeier K., Majdic O., Zlabinger G. J., Knapp W., Binder B. R., Stockl J., Leitinger N.

"Oxidized phospholipids negatively regulate dendritic cell maturation induced by TLRs and CD40" Immunology

175:501-508 (2005)

Börner C., Höllt V., Kraus J.

"Cannabinoid receptor type 2 agonists induce transcription of the m-opioid receptor gene in jurkat T-cells" Molecular Pharmacology

69:1486-1491 (2006)

Canna K., McArdle P.A., McMillan D.C., McNicol A.M., Smith W.G., McKee R.F., McArdle C.S.

"The relationship between tumour T-lymphocyte infiltration, the systemic inflammatory response and survival in patients undergoing curative resection for colorectal cancer" British Journal of Cancer

28;92:651-654 (2005)

Cao W., Lee S. H., Lu, J.

"CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells" The Biochemical Journal
385:85-93 (2005)

Casares N., Arribillaga L., Sarobe P., Dotor J., Lopez-Diaz de Cerio A., Melero I., Prieto J., Borrás-Cuesta F., Lasarte J.J.

"CD4+/CD25+ regulatory cells inhibit activation of tumor-primed CD4+ T cells with IFN- γ -dependent antiangiogenic activity, as well as long-lasting tumor immunity elicited by peptide vaccination" The Journal of Immunology
117:5931-5939 (2003)

Chamorro S., Revilla C., Gomez N., Alvarez B., Alonso F., Ezquerro A., Dominguez J.

"In vitro differentiation of porcine blood CD163- and CD163+ monocytes into functional dendritic cells" Immunobiology
209:57-65 (2004)

Chan F.L., Choi H.L., Ho S.M.

"Analysis of glycoconjugate patterns of normal and hormone-induced dysplastic Noble rat prostates, and an androgen-independent Noble rat prostate tumor, by lectin histochemistry and protein blotting" The Prostate
46:21-32 (2001)

Collins M., Ling V., Carreno B. M.

"The B7 family of immune-regulatory ligands" Genome Biology
6:223 (2005)

Compton T., Kurt-Jones E.A., Boehme K.W., Belko J., Latz E., Golenbock D.T., Finberg R.W.

"Human cytomegalovirus activates inflammatory cytokine responses via CD14 and toll-like receptor 2" Journal of Virology
77:4588-4596 (2003)

Croxford J.L., Yamamura, T.

"Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases ?" Journal of Neuroimmunology
166:3-18 (2005)

Davila E., Kang Y. M., Park Y. W., Sawai H., He X., Pryshchep S., Goronzy J. J., Weyand C. M.

"Cell-based immunotherapy with suppressor CD8⁺ T cells in rheumatoid arthritis"
Immunology
174:7292-7301 (2005)

Dean B., Bradbury R., Copolov D. L.

"Cannabis-sensitive dopaminergic markers in postmortem central nervous system: changes in schizophrenia" Biological Psychiatry
53:585-592 (2003)

Demuth Dirk G., Molleman Areles

"Cannabinoid signalling" Life Sciences
78:549-563 (2006)

Dimayuga F. O., Reed J. L., Carnero G. A., Wang C., Dimayuga E. R., Dimayuga V. M., Perger A., Wilson M. E., Keller J. N., Bruce-Keller A. J.

"Estrogen and brain inflammation: effects on microglial expression of MHC, costimulatory molecules and cytokines" Journal of Neuroimmunology
161:123-136 (2005)

Dogrul A., Gul H., Yildiz O., Bilgin F., Guzeldemir M. E.

"Cannabinoids blocks tactile allodynia in diabetic mice without attenuation of its anti-nociceptive effect" Neuroscience Letters

368:82-86 (2004)

Doughty L., Cxlark R.S., Kaplan S.S., Sasser H., Carcillo L.

"sFAS ans sFAS ligand and pediatric sepsis-induced multiple organ failure syndrome" Pediatric Research

52:922-927 (2002)

D'Souza D.C., Abi-Saab W. M., Madonick S., Forselius-Bielen K., Doersch A., Braley G., Gueorguieva R., Cooper T. B., Krystal J. H.

"Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction" Biological Psychiatry

57:594-608 (2005)

Dyson A., Peacock M., Chen A., Courade J. P., Yaqoob M., Groarke A., Brain C., Loong Y., Fox A.

"Antihyperalgesic properties of the cannabinoid CT-3 in chronic neuropathic and inflammatory pain states in the rat" Pain

116: 129-137 (2005)

Freitas I., Fernández-Somoza M., Essenfeld-Sekler E., Cardier J.E.

"Serum levels of apoptosis-associated molecules, tumor necrosis factor- α /tumor necrosis factor type-I-receptor and Fas/FasL, in sepsis" Chest

125:2238-2246 (2004)

Fride E., Bregman T., Kirkham T. C.

"Endocannabinoids and food intake: newborn suckling and appetite regulation in adulthood" Experimental Biology and Medicine

230:225-234 (2005)

Fride E., Ponde D., Breuer A., Hanus L.

"Peripheral, but not central effects of cannabidiol derivatives: Mediation by CB(1) and unidentified receptors" Neuropharmacology
48:1117-1129 (2005)

Galdiero M., Pisciotta M. G., Petrillo G., Marinelli A., Galdiero E.

"Lipoteichoic acid and muramic acid modulate the expression of CD80/CD86 on THP-1 cells and CD28/CD152 on Jurkat cells" The New Microbiologica
27:309-313 (2004)

Gardell L.R., Ossipov M. H., Vanderah T. W., Lai J., Porreca F.

"Dynorphin-independent spinal cannabinoid antinociception" Pain
100:243-248 (2002)

Geschwinde T.: Über *"Cannabis/Hanf"*

In Geschwinde T. (Hrsg) *"Rauschdroge, Marktformen und Wirkungsweisen"* Springer-
verlag, Dritte Auflage, Berlin Heidelberg, S. 10-45 (1994)

Giuffrida A., Parsons L. H., Kerr T. M., Rodriguez de Fonseca F., Navarro M.,
Piomelli D.

"Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum" Nature
Neuroscience
2:358-363 (1999)

Goldstein J. I., Goldstein K. A., Wardwell K., Fahrner S. L., Goonan K. E., Cheney M.
D., Yeager M. P., Guyre P. M.

*"Increase in plasma and surface CD163 levels in patients undergoing coronary artery
bypass graft surgery"* Atherosclerosis
170:325-332 (2003)

Hall H. T., Petrovic J., Hoglund P.

"Reduced antigen concentration and costimulatory blockade increase IFN-gamma secretion in naive CD8+ T cells" European Journal of Immunology
34:3091-3101 (2004)

Hiki N., Berger D., Mimura Y., Frick J., Dentener M. A., Buurman W. A., Seidelmann M., Kaminishi M., Beger H. G.

"Release of endotoxin-binding proteins during major elective surgery: role of soluble CD14 in phagocytic activation" World Journal of Surgery
24:499-506 (2000)

Högger P., Dreier J., Droste A., Buck F., Sorg C.

"Identification of the integral membrane protein RM3/1 on human monocytes as a glucocorticoid-inducible member of the scavenger receptor cysteine-rich family (CD163)" The Journal of Immunology
161:1883-1890 (1998)

Huffman J.W.

"CB2 receptor ligands" Mini Reviews in Medicinal Chemistry
5:641-9 (2005)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über

"Rezeptoren auf Phagozyten können das Vorliegen von Pathogenen anzeigen"
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, "Immunologie",
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 2.16, S. 70 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über

"Der programmierte Zelltod aktivierter Lymphozyten wird vor allem durch den Rezeptor Fas ausgelöst" In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, "Immunologie", 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 6.18, S. 230-231 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Die Entwicklungsstufen der B-Zellen unterscheiden sich aufgrund der Expression von Immunglobulin-ketten und bestimmter Zelloberflächenproteine voneinander“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“,
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 7.3, S. 245-248 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Die aufeinanderfolgenden Stadien der Thymozytenentwicklung sind durch Änderungen in den Zelloberflächenmolekülen gekennzeichnet“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“,
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 7.7, S. 251-254 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Für die klonale Vermehrung naiver T-Zellen sind spezifische Liganden und kostimulierende Signale antigenpräsentierender Zellen erforderlich“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“,
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.5, S. 326-330 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Dendritische Zellen sind darauf spezialisiert, Antigene aufzunehmen und naive T-Zellen zu aktivieren“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag,
“Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.6, S. 330-333 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Makrophagen sind Fresszellen und werden von Pathogenen dazu veranlasst, naive T-Zellen Fremdantigene zu präsentieren“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“,
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.7, S. 333-334 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Aktivierte T-Zellen synthetisieren den T-Zell-Wachstumsfaktor Interleukin-2 und seinen Rezeptor“

In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“,
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.9, S. 336-337 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Für die Synthese und Sekretion von IL-2 ist ebenfalls das kostimulierende Signal erforderlich“

In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“,
5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.10, S. 337-338 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Die Effektorfunktion von T-Zellen hängt davon ab, welches Spektrum an Effektormolekülen sie hervor-bringen“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.17, S. 346-348 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Cytotoxische T-Zellen können bei Zielzellen einen programmierten Zelltod herbeiführen“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.21, S. 352-354 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“In der Granula cytotoxischer CD8-T-Zellen befinden sich cytotoxische Effektorproteine, die eine Apoptose auslösen“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.22, S. 354-356 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Aktivierte CD8-T-Zellen sowie einige CD4-T-Effektorzellen exprimieren den Fas-Liganden, der ebenfalls eine Apoptose auslöden kann“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.23, S.356 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Cytotoxische T-Zellen töten selektiv und nacheinander Zielzellen, die spezifische Antigene exprimieren“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.24, S.356-257 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Cytotoxische T-Zellen wirken auch, indem sie Cytokine ausschütten“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.25, S. 357-358 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Bewaffnete T_H1 -Zellen spielen eine zentrale Rolle bei der Makrophagenaktivierung“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.26, S. 358-359 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Für die Bildung von Cytokinen und membranassoziierten Molekülen in bewaffnete T_H1 -Zellen müssen neue RNAs und Proteine synthetisiert werden“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.27, S.359 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Die Aktivierung von Makrophagen durch bewaffnete T_H1 -Zellen sorgt dafür, dass Bakterien abgetötet werden, und muss sehr präzise reguliert werden, um eine Schädigung des Wirtsgewebes zu vermeiden“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.28, S.360 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“ T_H1 -Zellen koordinieren die Reaktion des Wirts auf intrazelluläre Krankheitserreger“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 8.29, S.361-363 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Die humorale Immunantwort wird ausgelöst, wenn B-Zellen an Antigene binden und nur von T-Helferzellen oder bestimmten mikrobiellen Antigenen ein Signal erhalten“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 9.1, S. 369-370 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“Bewaffnete T-Helferzellen aktivieren B-Zellen, die dasselbe Antigen erkennen“
In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 9.2, S. 370-371 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über
“An MHC-Klasse-II-Moleküle gebundene Antigenpeptide induzieren in bewaffneten T-Helferzellen die Bildung membranständiger und sezernierter Moleküle, die B-Zellen aktivieren können“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 9.3, S. 372 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über

“Die Fc-Rezeptoren akzessorischer Zellen sind spezifische Signalmoleküle für Immunglobuline verschiedener Isotypen“

In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 9.19, S. 398-399 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über

“An der Oberfläche von Erreger gebundene Antikörper aktivieren Fc-Rezeptoren von Phagozyten, wodurch diese Pathogene aufnehmen und zerstören können“

In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 9.20, S. 399-401 (2002)

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.: über

“Fc-Rezeptoren regen natürliche Killerzellen dazu an, mit Antikörper bedeckte Zielzellen zu zerstören“ In: Gustav Fischer (Hrsg), Spektrum Akademischer Verlag, “Immunologie“, 5. Auflage, Heidelberg und Berlin, Kapitel 9.21, S. 401-402 (2002)

Kawahito K., Misawa Y., Fruse K.

“Transient rise in serum soluble Fas (APO-1/CD95) in patients undergoing cardiac surgery“ Artificial Organs
24:628-631 (2000)

Kawano T., Nakayama T., Kamada N., Kaneko Y., Harada M., Ogura N., Akutsu Y., Motohashi S., Iizasa T., Endo H., Fujisawa T., Shinkai H., Taniguchi M.

“Antitumor cytotoxicity mediated by ligand-activated human V alpha24 NKT cells“
Cancer Research
59:5102 (1999)

Kawano T., Tanaka Y., Shimizu E., Kaneko Y., Kamata N., Sato H., Osada H., Sekiya S., Nakayama T., Taniguchi M.

“A novel recognition motif of human NKT antigen receptor for a glycolipid ligand“ International Immunology
11:881-887 (1999)

Kawasaki T., Ogata M., Kawasaki C., Tomihisa T., Okamoto K., Shigematsu A.
"Surgical stress induces endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR expression during surgery" Anesthesia and Analgesia
92 (5): 1322-1326 (2001)

Kell M.R., Kavanaugh E.G., Goebel A., Soberg C.C., Lederer J.A.
"Injury primes the immune system for an enhanced and lethal T-cell response against bacterial superantigen" Shock
12:139-144 (1999)

Lee M.K., Moore D.J., Jarrett B.P., Lian M.M., Deng S., Huang X., Markmann J.W., Chiacchia M., Barker C.F., Caton A.J., Markmann J.F.
"Promotion of allograft survival by CD4+CD25+ regulatory T cells: evidence for in vivo inhibition of effector cell proliferation" The Journal of Immunology
172:6539-6544 (2004)

Lee R.M., White R.M., Hartshorn K.L.
"Influenza A viruses upregulate neutrophil toll-like receptor 2 expression and function" Scandinavian Journal of Immunology
63:81-9 (2006)

Leweke F.W., Giuffrida A., Wurster U., Emrich H. M., Piomelli D.
"Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia" Neuroreport
10:1665-1669 (1999)

Ljutic B., Carlyle J. R., Filipp D., Nakagawa R., Julius M., Zuniga-Pflucker J. C.
"Functional requirements for signaling through the stimulatory and inhibitory mouse NKR-P1 (CD161) NK cell receptors" Immunology
174:4789-4796 (2005)

Lozano F.S., Rodriguez J.M., Garcia-Criado F.J., Barros M.B., Conde P.S., Gonzalez L.M., Rodriguez M., Gomez-Alonso A.

"Postoperative evolution of inflammatory response in a model of suprarenal aortic cross-clamping with and without hemorrhagic shock. Systemic and local reactions"

World Journal of Surgery

10:1248:1258 (2005)

Lutz B.

"On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures" Biochemical Pharmacology

68:1691-1698 (2004)

Mackie M.

"Cannabinoid Receptors as Therapeutic Targets" Annual Review of Pharmacology and Toxicology

46:101-122 (2005)

Massa F. F., Storr M., Lutz B.

"The endocannabinoid system in the physiology and pathophysiology of the gastrointestinal tract" Journal of Molecular Medicine

83:944-954 (2005)

Naef M., Curatolo M., Petersen-Felix S., Arendt-Nielsen L., Zbinden A., Brenneisen R.

"The analgesic effect of oral delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), morphine, and a THC-morphine combination in healthy subjects under experimental pain conditions"

Pain

105:79-88 (2003)

Netea M.G., Van der Graf C., Van der Meer J.W., Kullberg B.J.

"Recognition of fungal pathogens by Toll-like receptors" European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases

23:672-676 (2004)

Newton S., Ding Y., Chung C. S., Chen Y., Lomas-Neira J. L., Ayala A.

"Sepsis-induced changes in macrophage co-stimulatory molecule expression: CD86 as a regulator of anti-inflammatory IL-10 response" Surgical Infections
5:375-383 (2004)

Nieda M., Okai M., Tazbirkova A., Lin H., Yamaura A., Ide K., Abraham R., Juji T., Macfarlane D.J., Nicol A.J.

"Therapeutic activation of Va24+/Vb11+ NKT cells in human subjects results in highly coordinated secondary activation of acquired and innate immunity" Blood
103:383-389 (2004)

Oberholzer C., Oberholzer A., Clare-Salzler M., Moldawer L.L.

"Apoptosis and sepsis: a new target for therapeutic exploration" The FASEB Journal
15:879-892 (2001)

Ocsenski W., Krenn H., Jilch R., Watzka H., Waldenberger F., Köller U., Schwarz S., Fitzgerald R.D.

"HLA-DR as a marker for increased risk for systemic inflammation and septic complications after cardiac surgery" Intensive Care Medicine
29:1253-1257 (2003)

Ohno-Shosaku Takako , Yuki Hashimotodani, Takashi Maejima, Masanobu Kano

"Calcium signaling and synaptic modulation: Regulation of endocannabinoid-mediated synaptic modulation by calcium" Cell Calcium
8:369-374 (2005)

Ono S., Tsujimoto H., Matsumoto A., Ikuta S., Kinoshita M., Mochizuki H.

"Modulation of human leukocyte antigen-DR on monocytes and CD16 on granulocytes in patients with septic shock using hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fiber" The American Journal of Surgery
188:150-156 (2004)

Ostanin A.A., Leplina O.Y., Shevela C.Y., Kozhevnikov V.S., Chernykh H.R.
"Inflammatory Syndromes (SIRS, MARS, CARS) in Patients with Surgical Infection"
Russian Journal of Immunology
5:289-300 (2000)

Philipidis P., Mason J. C., Evans B. J., Nadra I., Taylor K. M., Haskard D. O., Landis R. C.
"Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery" Circulation Research
94:119-126 (2004)

Pinzon-Charry A., Ho C.S.K., Laherty R., Maxwell T., Walker D., Gardiner R.A., O'Connor L., Pyke C., Schimdt C., Furnival C., Lòpez J.A.
"A population of HLA-DR+ immature cells accumulates in the blood dendritic cell compartment of patients with different types of cancer" Neoplasia
7:1112-1122 (2005)

Pogatzki E.
Deutsche Gesellschaft zum Studium des Schmerzes e.V. (DGSS) Münster
Deutscher Schmerzkongress: „Das Schmerzgedächtnis vor Operationen ausschalten“ Presseinformation Nr. 17 (2003)

Ramer R., Weinzierl U., Schwind B., Brune K., Hinz B.
"Ceramide is involved in r(+)-methanandamide-induced cyclooxygenase-2 expression in human neuroglioma cells" Molecular Pharmacology
64: 1189-1198 (2003)

Rodriguez De Fonseca F., Gorriti M.A., Bilbao A., Escuredo L., Garcia-Segura L.M., Piomelli D., Navarro M.

"Role of the endogenous cannabinoid system as a modulator of dopamine transmission: implications for Parkinson's disease and schizophrenia" Neurotoxicity Research 3:23-35 (2001)

Roy K. C., Bandyopadhyay G., Rakshit S., Ray M., Bandyopadhyay S.

"IL-4 alone without the involvement of GM-CSF transforms human peripheral blood monocytes to a CD1a(dim), CD83(+) myeloid dendritic cell subset" Journal of Cell science

117:3435-3445 (2004)

Sabel M. S., Hess S. D., Egilmez N. K., Conway T. F., Chen F. A., Bankert R. B.

"CTLA-4 blockade augments human T lymphocyte-mediated suppression of lung tumor xenografts in SCID mice" Cancer Immunology, Immunotherapy

54:944-952 (2005)

Sacerdote P., Bianchi M., Gaspani L., Manfredi B., Maucione A., Terno G., Ammatuna M., Panerai A.E.

"The effects of tramadol and morphine on immune response and pain after surgery in cancer patients" Anesthesia and Analgesia

90:1411-1414 (2000)

Saenz J.J., Izura J.J., Manrique A., Sala F., Gaminde I.

"Early prognosis in severe sepsis via analyzing the monocyte immunophenotype"

Intensive Care Medicine

27:970-977 (2001)

Sbrana S., Bevilacqua S., Buffa M., Spiller D., Parri M. S., Gianetti J., De Filippis R., Clerico A.

"Post-reperfusion changes of monocyte function in coronary blood after extracorporeal circulation" Cytometry Part B, Clinical Cytometry
65:14-21 (2005)

Scholz M., Simon A., Berg M., Schuller A. M., Hacibayramoglu M., Margraf S., Theisen A., Windolf J., Wimmer-Greinecker G., Moritz A.

"In vivo inhibition of neutrophil activity by a FAS (CD95) stimulating module: arterial in-line application in a porcine cardiac surgery model" The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery
127:1735-1742 (2004)

Seeling W., Kneer B., Buechele

"(9)-tetrahydrocannabinol and the opioid receptor agonist piritramide do not act synergistically in postoperative pain" Anaesthesist
55:391-400 (2006)

Volk H.D., Reinke P., Docke W.D.

"Immunological monitoring of inflammatory process: Which variables? When to assess?" The European Journal of Surgery Supplement
584:70-72 (1999)

Walker J. M., Huang S. M., Strangman N. M., Tsou K., Sanudo-Pena M. C.

"Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide" Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
96:12198-12203 (1999)

Ware M.A., Doyle C. R., Woods R., Lynch M. E., Clark A. J.

"Cannabis use for chronic non-cancer pain: results of a prospective survey" Pain
102:211-216 (2003)

Welters I. D., Menzebach A., Goumon Y., Cadet P., Menges T., Hughes T. K., Hempelmann G., Stefano G. B.

"Morphine inhibits NF-kappaB nuclear binding in human neutrophils and monocytes by a nitric oxide-dependent mechanism" Anesthesiology
92:1677-1684 (2000)

Whalley B.J., Wilkinson J. D., Williamson E. M., Constanti A.

"A novel component of cannabis extract potentiates excitatory synaptic transmission in rat olfactory cortex in vitro" Neuroscience Letters
365:58-63 (2004)

Woolridge E., Barton S., Samuel J., Osorio J., Dougherty A., Holdcroft A.

"Cannabis use in HIV for pain and other medical symptoms" Journal of Pain and Symptom Management
29:358-367 (2005)

Wright K.; Rooney N., Feeney M., Tate J., Robertson D., Welham M., Ward S.

"Differential expression of cannabinoid receptors in the human colon: cannabinoids promote epithelial wound healing" Gastroenterology
129:437-453 (2005)

Xu H., Imanishi S., Yamada K., Hara H., Ishizuka S.

"Strain and age-related changes in the localization of intestinal CD161+ natural killer cells and CD8+ intraepithelial lymphocytes along the longitudinal crypt axis in inbred rats" Bioscience, Biotechnology and Biochemistry
69:567-574 (2005)

Zurier R. B., Rossetti R. G., Lane J. H., Goldberg J. M., Hunter S. A., Burstein S. H.

"Dimethylheptyl-THC-11 oic acid: a nonpsychoactive antiinflammatory agent with a cannabinoid template structure" Arthritis Rheumatism
41: 163-170 (1998)

8. Tabellenanhang

Tab. 13: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für T-lymphozytäre Oberflächenantigene im Lymphozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik CD2	Statistik CD3	Statistik CD8	Statistik CD4	Statistik CD25	Statistik CD69
ja	d-1	μ	83,0	71,7	33,1	40,4	39,8	13,9
		G_U	81,1	69,1	29,9	36,6	35,3	9,9
		G_O	84,8	74,2	36,2	44,2	44,3	17,9
		S	6,4	8,8	10,7	13,1	15,4	13,8
	d+1	μ	81,3	69,9	35,5	39,3	40,2	10,2
		G_U	78,6	66,9	32,5	35,7	36,8	8,5
		G_O	84,0	72,8	38,6	42,8	43,5	11,8
		S	9,1	10,2	10,4	12,1	11,4	5,6
	d+2	μ	81,7	68,7	34,6	39,2	40,8	14,9
		G_U	79,6	64,5	31,8	36,0	37,2	11,0
		G_O	83,8	72,8	37,3	42,4	44,3	18,8
		S	7,3	14,4	9,5	11,0	12,5	13,6
nein	d-1	μ	81,7	70,6	31,5	43,4	39,1	11,9
		G_U	78,4	65,7	28,6	40,0	35,3	9,9
		G_O	85,0	75,5	34,5	46,7	43,0	13,9
		S	11,4	16,9	10,1	11,4	13,4	6,9
	d+1	μ	81,6	73,2	32,7	42,7	42,4	11,7
		G_U	78,0	70,5	29,3	39,5	39,1	9,5
		G_O	85,2	75,9	36,0	45,8	45,7	14,0
		S	12,3	9,1	11,3	10,8	11,3	7,7
	d+2	μ	81,5	71,4	34,6	39,9	39,9	14,6
		G_U	78,8	68,3	31,5	36,6	36,7	10,2
		G_O	84,3	74,5	37,6	43,2	43,1	18,9
		S	9,2	10,3	10,3	11,1	10,8	14,7

Tab. 14: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für T-lymphozytäre Oberflächenantigene im Lymphozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz und des Oberflächenantigens WT31) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik CD95 PE	Statistik CD95 FITC	Statistik WT31
ja	d-1	μ	33,7	49,6	67,7
		G_U	28,8	44,5	63,6
		G_O	38,7	54,7	71,8
		S	17,0	17,5	14,3
	d+1	μ	40,2	54,6	67,9
		G_U	35,4	49,3	64,3
		G_O	44,9	59,8	71,5
		S	16,2	17,9	12,2
	d+2	μ	40,3	56,3	68,3
		G_U	35,6	52,0	65,4
		G_O	45,1	60,7	71,1
		S	16,5	15,2	9,9
nein	d-1	μ	40,9	53,2	70,2
		G_U	35,9	48,8	66,7
		G_O	45,9	57,5	73,7
		S	17,3	14,9	12,0
	d+1	μ	47,8	57,3	71,2
		G_U	42,8	52,2	68,1
		G_O	52,8	62,4	74,3
		S	17,0	17,4	10,6
	d+2	μ	43,3	57,2	69,8
		G_U	38,0	52,6	66,7
		G_O	48,7	61,7	72,9
		S	18,0	15,3	10,5

Tab. 15: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für B-lymphozytäre Oberflächenantigene im Lymphozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik CD40	Statistik CD19	Statistik CD23
ja	d-1	μ	52,8	12,2	4,5
		G_U	81,1	10,5	3,3
		G_O	84,8	13,9	5,6
		S	6,4	5,8	4,1
	d+1	μ	81,3	14,3	5,5
		G_U	78,6	11,9	4,1
		G_O	84,0	16,7	6,9
		S	9,1	8,1	4,7
	d+2	μ	81,7	13,6	5,4
		G_U	79,6	11,8	4,4
		G_O	83,8	15,3	6,4
		S	7,3	6,1	3,4
nein	d-1	μ	81,7	12,1	3,9
		G_U	78,4	10,0	2,8
		G_O	85,0	14,2	5,1
		S	11,4	7,3	4,0
	d+1	μ	81,6	12,0	3,9
		G_U	78,0	10,3	3,0
		G_O	85,2	13,8	4,7
		S	12,3	6,0	3,0
	d+2	μ	81,5	11,8	3,9
		G_U	78,8	9,8	3,1
		G_O	84,3	13,8	4,7
		S	9,2	6,6	2,8

Tab. 16: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für Natürlichen Killerzell-Oberflächenantigene (NK-Zell-Oberflächenantigene) im Lymphozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation und des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR) und Valpha24 (V α 24)) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik CD16	Statistik CD56/ CD16	Statistik CD56/ CD161	Statistik CD56/ CD3	Statistik CD161	Statistik HLA-DR	Statistik V α 24
ja	d-1	μ	14,1	8,3	8,6	24,2	23,8	21,1	0,7
		G_U	11,7	6,5	7,1	21,0	21,5	19,2	0,5
		G_O	16,4	10,1	10,0	27,4	26,2	22,9	0,8
		S	8,1	6,1	5,0	11,0	8,1	6,2	0,5
	d+1	μ	16,5	11,1	9,1	25,1	22,8	24,2	0,9
		G_U	13,7	8,5	7,3	21,4	19,8	22,1	0,6
		G_O	19,2	13,7	10,8	28,8	25,8	26,3	1,1
		S	9,4	8,9	6,0	12,6	10,3	7,1	0,8
	d+2	μ	18,4	10,3	8,9	25,1	23,2	23,2	0,9
		G_U	14,9	8,2	7,6	22,4	20,7	21,1	0,5
		G_O	21,8	12,4	10,1	27,8	25,7	25,3	1,2
		S	12,1	7,3	4,4	9,5	8,7	7,2	1,1
nein	d-1	μ	13,7	7,3	9,3	23,8	24,0	22,7	0,6
		G_U	10,2	5,8	6,9	20,6	21,5	19,1	0,5
		G_O	17,1	8,9	11,7	26,9	26,6	26,3	0,8
		S	11,8	5,2	8,4	10,8	8,7	12,3	0,6
	d+1	μ	16,1	8,6	8,1	23,7	23,0	23,3	0,6
		G_U	12,5	6,9	6,8	20,9	20,7	20,8	0,5
		G_O	19,8	10,4	9,3	26,5	25,4	25,8	0,7
		S	12,4	5,9	4,4	9,4	8,0	8,4	0,2
	d+2	μ	16,3	9,8	10,5	24,9	26,4	21,7	0,6
		G_U	13,2	7,5	8,5	22,4	23,0	19,5	0,5
		G_O	19,3	12,1	12,5	27,3	29,7	24,0	0,7
		S	10,2	7,5	6,7	8,1	11,2	7,6	0,2

Tab. 17: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für Antigen präsentierenden Zellen (APC)-Oberflächenantigene im Lymphozytenfenster (Statistik des Oberflächen-antigens CDx= Cluster of Differentiation) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patienten-
gruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik CD80	Statistik CD86	Statistik CD83	Statistik CD64	Statistik CD14	Statistik CD1a
ja	d-1	μ	6,9	81,4	5,4	88,1	96,3	18,3
		G_U	4,6	74,8	3,7	84,3	91,9	13,6
		G_O	9,3	88,1	7,0	91,8	100,7	23,1
		S	8,1	22,7	5,5	12,9	15,2	16,2
	d+1	μ	7,7	73,5	1,8	92,2	98,3	19,2
		G_U	4,0	67,6	1,2	89,8	96,3	15,0
		G_O	11,4	79,3	2,5	94,5	100,3	23,5
		S	12,6	19,9	2,2	8,1	6,7	14,5
	d+2	μ	5,8	74,5	2,8	91,7	99,3	19,2
		G_U	3,6	69,2	1,7	89,6	98,7	15,1
		G_O	7,9	79,7	3,9	93,8	100,0	23,4
		S	7,4	18,4	3,6	7,4	2,2	14,5
nein	d-1	μ	6,7	80,8		86,6	97,6	21,2
		G_U	4,6	74,7	5,3	82,3	95,6	16,8
		G_O	8,8	86,9	3,8	90,9	99,7	25,7
		S	7,3	20,9	6,8	14,8	7,0	15,2
	d+1	μ	5,7	68,6	5,2	94,1	99,5	18,5
		G_U	4,2	61,2	2,2	92,5	99,1	14,2
		G_O	7,2	76,1	1,4	95,6	100,0	22,8
		S	5,0	25,3	2,9	5,2	1,5	14,6
	d+2	μ	6,2	73,6	2,7	93,2	99,4	20,2
		G_U	4,3	66,1	2,1	91,2	98,7	15,6
		G_O	8,1	81,1	1,4	95,2	100,0	24,7
		S	6,2	25,0	2,8	6,7	2,1	15,1

Tab. 18: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für Antigen präsentierenden Zellen (APC)-Oberflächenantigene im Monozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz und des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR)) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik TLR2	Statistik TLR4	Statistik CD95 PE	Statistik CD95 FITC	Statistik CD163	Statistik HLA-DR
ja	d-1	μ	71,0	22,6	56,3	91,5	40,8	85,6
		G_U	62,9	17,8	47,7	85,3	32,5	81,5
		G_O	79,1	27,4	64,9	97,8	49,1	89,6
		S	27,6	16,4	29,6	21,5	25,6	13,9
	d+1	μ	84,9	21,7	65,5	93,5	61,9	80,9
		G_U	79,8	18,0	57,2	88,5	54,2	75,9
		G_O	89,9	25,3	73,7	98,6	69,6	85,8
		S	16,5	12,0	28,1	17,1	22,7	16,8
	d+2	μ	77,6	19,9	68,3	96,1	42,2	77,6
		G_U	71,9	16,7	61,0	92,8	35,2	72,8
		G_O	83,3	23,2	75,6	99,4	49,2	82,3
		S	19,4	11,1	25,4	11,5	21,3	16,7
nein	d-1	μ	74,0	22,3	61,9	95,1	39,1	83,2
		G_U	66,3	18,3	54,0	91,5	32,3	78,4
		G_O	81,7	26,4	69,8	98,6	45,9	88,0
		S	26,2	13,8	27,2	12,3	21,2	16,5
	d+1	μ	83,6	20,9	69,0	95,7	64,7	86,0
		G_U	78,4	16,0	61,0	90,9	57,1	83,2
		G_O	88,8	25,9	77,0	100,5	72,2	88,8
		S	17,5	16,6	27,3	16,4	23,0	9,6
	d+2	μ	80,8	20,3	67,8	93,7	52,4	82,0
		G_U	75,0	16,4	59,9	88,0	45,7	78,3
		G_O	86,7	24,1	75,7	99,3	59,0	85,7
		S	19,4	12,8	26,4	18,9	20,3	12,4

Tab. 19: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für Antigen präsentierenden Zellen (APC)-Oberflächenantigene im Monozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik CD123	Statistik CD16
ja	d-1	μ	30,4	37,8
		G_U	25,3	32,4
		G_O	35,6	43,3
		S	17,7	18,9
	d+1	μ	27,3	41,3
		G_U	22,3	34,0
		G_O	32,2	48,5
		S	16,7	24,7
	d+2	μ	17,0	38,5
		G_U	13,1	33,5
		G_O	20,9	43,5
		S	13,6	17,4
nein	d-1	μ	30,4	39,5
		G_U	25,5	33,4
		G_O	35,3	45,6
		S	16,8	21,0
	d+1	μ	26,0	38,8
		G_U	21,2	33,4
		G_O	30,8	44,3
		S	16,4	18,6
	d+2	μ	14,9	36,9
		G_U	12,3	31,8
		G_O	17,4	42,0
		S	8,6	17,0

Tab. 20: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für Antigen präsentierenden Zellen (APC)-Oberflächenantigene im Granulozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens CDx= Cluster of Differentiation mit PE (Phycoerythrin) entsprechend der Rotfluoreszenz und FITC (Fluoresceinisothiocyanat) entsprechend der Grünfluoreszenz und der Toll-like Rezeptoren (TLR)) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik TLR2	Statistik TLR4	Statistik CD64	Statistik CD16	Statistik CD95 FITC	Statistik CD95 PE
ja	d-1	μ	22,5	19,1	28,0	99,3	84,2	23,1
		G_U	16,0	14,3	20,5	98,6	76,6	16,2
		G_O	29,1	23,9	35,6	100,0	91,8	30,0
		S	22,4	16,5	25,9	2,4	26,2	23,7
	d+1	μ	22,1	13,9	41,6	97,9	85,4	34,4
		G_U	14,2	9,4	33,3	94,5	77,5	26,4
		G_O	30,1	18,4	49,8	101,3	93,3	42,3
		S	25,8	14,6	27,8	11,4	26,5	26,8
	d+2	μ	23,1	11,3	44,1	97,0	90,4	39,0
		G_U	16,0	8,1	36,9	92,8	84,4	30,7
		G_O	30,3	14,5	51,2	101,1	96,5	47,2
		S	24,4	10,8	24,9	14,3	21,1	28,9
nein	d-1	μ	29,4	16,8	37,9	98,3	86,2	26,6
		G_U	21,1	12,8	29,2	97,1	78,7	18,9
		G_O	37,7	20,9	46,6	99,5	93,8	34,4
		S	28,3	13,8	29,9	4,3	26,0	26,8
	post- op1	μ	19,3	8,6	48,7	99,6	84,8	34,1
		G_U	13,7	6,1	39,4	99,3	76,4	25,5
		G_O	24,9	11,2	58,0	99,9	93,3	42,7
		S	18,7	8,4	31,3	1,0	28,5	28,9
	post- op2	μ	24,1	8,6	52,4	98,9	88,9	37,7
		G_U	16,2	6,0	43,2	97,6	81,8	28,7
		G_O	32,0	11,3	61,5	100,2	95,9	46,7
		S	26,0	8,6	30,4	4,4	23,4	29,9

Tab. 21: Mittelwert (μ), Obergrenze des Konfidenzintervalls (G_O), Untergrenze des Konfidenzintervalls (G_U), Standardabweichung (S) am präoperativen (d-1), ersten postoperativen (d+1) und zweiten postoperativen Tag (d+2) für Antigen präsentierenden Zellen (APC)-Oberflächenantigene im Granulozytenfenster (Statistik des humanen Leukozyten Antigens der Klasse II (HLA-DR)) und Differenzierungs- und Vorläuferoberflächenantigene im Lymphozytenfenster (Statistik des Oberflächenantigens (CDx= Cluster of Differentiation) CD123, CD117) im Vergleich der Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) positiven (Δ^9 -THC: ja) und Delta-9-Tetrahydrocannabinol negativen (Δ^9 -THC: nein) Patientengruppe

Δ^9 - THC	Tag	Merkmal	Statistik HLA-DR	Statistik CD123	Statistik CD117
ja	d-1	μ	3,2	4,0	1,6
		G_U	2,3	3,1	1,0
		G_O	4,1	4,9	2,1
		S	3,2	3,0	1,9
	d+1	μ	2,0	5,1	2,1
		G_U	1,2	3,9	1,5
		G_O	2,8	6,4	2,6
		S	2,8	4,1	1,8
	d+2	μ	2,5	3,9	2,0
		G_U	1,6	3,0	1,5
		G_O	3,4	4,8	2,5
		S	3,1	3,2	1,6
nein	d-1	μ	5,4	4,3	2,5
		G_U	3,2	2,2	0,9
		G_O	7,7	6,4	4,0
		S	7,8	7,3	5,3
	d+1	μ	1,7	3,7	2,4
		G_U	1,1	3,0	1,8
		G_O	2,4	4,4	3,0
		S	2,2	2,5	2,1
	d+2	μ	2,2	3,5	1,8
		G_U	1,2	2,2	1,3
		G_O	3,1	4,8	2,3
		S	3,1	4,3	1,6

9. Danksagung

An dieser Stelle würde ich mich gerne bei meinem Vater bedanken, der mir in zahlreiche Stunden bei der Statistik dieser Arbeit behilflich war und der durch ständige Diskussionen immer neue Anregungen zur Auswertung der Daten lieferte.

Besonderen Dank gebührt auch Frau Heike Belledin, welche mir bei technischen Fragen stets hilfreich zur Seite stand.

Auch danke ich den Mitarbeitern des Labors der Experimentellen Anästhesie, welche mich bereitwillig bei der Patienten- und Datenerfassung unterstützten.

Zuletzt mag ich mich noch bei Frau Prof. M. Schneider und Herr Prof. Seeling für ihr Interesse an dieser Arbeit bedanken.

10. Lebenslauf

Persönliches

- ❖ 25.05.1980 geboren in Freiburg im Breisgau
- ❖ Wohnhaft von 1980 bis 2000 in Schallstadt bei Freiburg
- ❖ Von 2000 bis 2002 wohnhaft in Budapest
- ❖ Seit 2002 wohnhaft in Ulm
- ❖ Familienstand: Ledig
- ❖ Familie:
 - o Vater: geboren am 01.04.1947;
 - o Mutter: geboren am 20.07.1948;
 - o Geschwister: eine Schwester, geboren 24.07.1982

Ausbildung

1987-1991 Allemannen-Grundschule in Schallstadt-Mengen

1991-1997 Martin-Schongauer-Gymnasium in Breisach am Rhein.

1997-2000 Rotteck-Gymnasium in Freiburg

- ❖ Leistungskurse: Mathematik und Chemie
- ❖ Allgemeinen Hochschulreife: Note: gut bis befriedigend

2000-2002 Studium an der Semmelweis-Universität in Budapest

- ❖ Physikums Sommer 2002: Note gut

seit 2002 Studium an der Universität Ulm

- ❖ Beginn des Studiums an der Universität Ulm im Wintersemester 2002/2003
- ❖ ersten Staatsexamens im Sommer 2003: Note befriedigend
- ❖ Beginn der Promotionsarbeit im Dezember 2003: Immunmodulation durch Dronabinol in der perioperativen Schmerztherapie
- ❖ zweiten Staatsexamens im Sommer 2005: Note gut

2005-2006 Praktisches Jahr

- ❖ 1.Tertial: Neurologie am Bundeswehrkrankenhaus Ulm
- ❖ 2.Tertial: Innere Medizin: 8 Wochen in der Nephrologie des Inselspitals Bern und 8 Wochen auf der Hämatologie/Onkologie des BWKs
- ❖ 3.Tertial: Chirurgie am Bundeswehrkrankenhaus Ulm