

Aus dem Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin
und der Klinik für Anästhesiologie
der Universität zu Lübeck

Direktoren: Prof. Dr. med. H. Kirchner und Prof. Dr. med. P. Schmucker

**Untersuchung zum Einfluss der Spinalanästhesie
auf das menschliche Immunsystem
unter besonderer Beachtung der
prolaktinbedingten Immunmodulation**

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

vorgelegt von

Tobias Breidhardt
aus München

Lübeck 2003

1. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Holger Kirchner
2. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Jürgen Westermann
Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2004
Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 24.11.2004

1. Einleitung	1
1.1 Überblick über das menschliche Immunsystem	1
1.1.1 Spezifische und unspezifische Immunität	1
1.1.2 Zytokine	3
1.2 Gleichgewicht des Immunsystems	4
1.3 Exogene Immunmodulatoren	6
1.3.1 Operationstrauma	6
1.3.2 Anästhesie und ihre Medikamente	8
1.4 Spinalanästhesie	10
1.5 Fragestellung	12
2. Patienten, Material und Methoden	14
2.1 Patienten	14
2.1.1 Patientenkollektiv	14
2.1.2 Anästhesieverfahren	15
2.2 Material	16
2.2.1 Geräte	16
2.2.2 Laborbedarf	17
2.2.3 Reagenzien für die Durchflusszytometrie	18
2.2.4 Reagenzien für den Vollbluttest	18
2.2.5 Testkits	19
2.3 Methoden	19
2.3.1 Differentialblutbild und Durchflusszytometrie	19
2.3.2 Vollblutstimulationstest	22
2.3.3 ELISA	23
2.3.4 Chemilumineszenz	24
2.3.5 RIA	24
2.3.6 Statistik	25
3. Ergebnisse	27
3.1 Prolaktininduzierte Veränderungen der IFN- γ -Sekretion	27
3.1.1 Prolaktininduzierte IFN- γ -Sekretion nach PHA-Stimulation	27
3.1.2 Prolaktininduzierte IFN- γ -Sekretion nach LPS-Stimulation	28
3.2 Kortisol- und Prolaktinsekretion unter Spinalanästhesie	29
3.2.1 Kortisolkonzentration im Serum	29
3.2.2 Prolaktinkonzentration im Serum	30

3.3 Hämoglobinkonzentration und Zusammensetzung der Leukozytenpopulationen unter Spinalanästhesie	30
3.3.1 Parameter des Differentialblutbildes	30
3.3.2 Änderungen der Lymphozytenpopulationen	31
3.4 Zytokin- und sIL-2R-Sekretion unter Spinalanästhesie	33
3.4.1 IL-6-Sekretion	33
3.4.2 sIL-2R-Sekretion	34
3.4.3 IFN- γ -Sekretion	35
4. Diskussion	37
4.1 Immunmodulation durch neuroendokrine Hormone	37
4.1.1 Veränderungen der IFN- γ -Sekretion durch Prolaktin	40
4.1.2 Serumspiegel von Prolaktin und Kortisol unter Spinalanästhesie	42
4.2 Hämoglobinkonzentration und Zusammensetzung der Leukozytenpopulationen unter Spinalanästhesie	43
4.3 Zytokin- und sIL-2R-Sekretion unter Spinalanästhesie	46
4.3.1 Beeinflussung der Zytokinsekretion durch direkte pharmakologische Effekte	49
4.3.2 Beeinflussung der Zytokinsekretion durch die Wahl des Mitogens	50
4.3.3 Beeinflussung der Zytokinsekretion durch den Sympathikus und die Sympathikolyse	51
4.4 Immunmodulation durch fortgeschrittenes Alter	54
4.5 Klinische Relevanz	55
4.6 Schlussfolgerungen	56
5. Zusammenfassung	58
6. Abkürzungen	60
7. Literaturverzeichnis	62
Eigene Publikationen	75
Danksagung	76
Lebenslauf	77

1. Einleitung

Da Umwelteinflüsse konstant wechseln, ist der Schutz eines dynamischen Gleichgewichts der Körperfunktionen eine grundlegende Aufgabe des menschlichen Organismus. Die Aufrechterhaltung der immunologischen Homöostase wird nach heutigem Wissen durch ein fein abgestimmtes Zusammenspiel von Immunzellen, Zytokinen und neuroendokrinen Hormonen ermöglicht.

Neben Bakterien, Viren und anderen Pathogenen können auch exogene Faktoren, wie Operationen oder Anästhesieverfahren, dieses wichtige Gleichgewicht stören und zu erheblichen Beeinträchtigungen der Gesundheit führen. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Spinalanästhesie und ihren Auswirkungen auf das Immunsystem. Im Folgenden werden die für diese Arbeit wesentlichen Grundlagen und Wirkmechanismen kurz dargestellt.

1.1 Überblick über das menschliche Immunsystem

1.1.1 Spezifische und unspezifische Immunität

Die wesentliche Aufgabe des Immunsystems ist die Abwehr potentiell schädigender Fremdstoffe. Um eine möglichst lückenlose Abwehr gegen auftretende Pathogene zu gewährleisten, existieren zwei Abwehrmechanismen, die parallel ablaufen können und sich in ihrer Wirkung ergänzen: die unspezifische, angeborene Immunität und die spezifische, erworbene Immunität, die auch als adaptive Immunantwort bezeichnet wird.

Grundlegendes Prinzip der unspezifischen Immunität ist die Aufnahme und Zerstörung der in den Körper eingedrungenen fremden Makromoleküle und Mikroorganismen durch Monozyten/Makrophagen, Granulozyten und Natürliche Killerzellen.

Monozyten sind phagozytose- und migrationsfähige Vorläufer der gewebständigen Makrophagen. Durch die Kooperation mit Lymphozyten und die Sekretion von Zytokinen üben sie eine immunregulatorische Funktion aus.

Granulozyten, die auch als polymorphkernige Leukozyten bezeichnet werden, werden nach ihrer Anfärbbarkeit mit panoptischen Färbemethoden in neutrophile, basophile und eosinophile Granulozyten unterteilt. Sie sind mit einer Lebensdauer von zwei bis drei Tagen kurzlebig und zur chemotaktischen Migration, zur Diapedese und zur Phagozytose fähig.

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) wirken antigenunspezifisch gegen virusinfizierte Zellen und körpereigene Tumorzellen. Zytotoxizität und Aktivität der NK-Zellen werden durch Zytokine stimuliert.

Die Zellen der unspezifischen Immunität kommen nach dem Eindringen von Fremdstoffen als erste mit dem Pathogen in Kontakt und versuchen, durch sezernierte Zytokine weitere Komponenten des Immunsystems zu aktivieren. Das systemische Äquivalent der aktivierten unspezifischen Immunabwehr ist die Akut-Phase-Reaktion, die im Organismus durch Leukozytose, Fieber und erhöhte Gefäßdurchlässigkeit charakterisiert ist. Nach der Aufnahme des fremden Makromoleküls oder Mikroorganismus können die Zellen des Monozyten/Makrophagen-Systems Teile des Fremdkörpers auf der Zelloberfläche präsentieren; sie fungieren dann als antigenpräsentierende Zellen (APCs). APCs dienen als wichtiges Bindeglied zur adaptiven Immunantwort, da T-Zellen, anders als B-Zellen, nicht in der Lage sind, ungebundene Antigene zu identifizieren. T-Zellen erkennen nur zellulär prozessierte und an APCs gebundene Fremdmoleküle.

Der erworbene Teil des Immunsystems ruft, ausgelöst durch den Antigenkontakt, eine für jedes fremde Makromolekül spezifische Antwort hervor. Die Effizienz dieser Gegenmaßnahmen verbessert sich durch wiederholte Exposition mit dem gleichen Antigen; es entsteht ein immunologisches Gedächtnis. Effektorzellen der adaptiven Immunantwort sind die Lymphozytensubtypen. Lymphozyten werden anhand funktioneller Charakteristika und der Expression von Oberflächenmolekülen des Cluster of Differentiation (CD) in zwei Hauptgruppen unterteilt.

T-Zellen werden durch das CD3-Molekül typisiert, während B-Zellen das CD19-Molekül exprimieren. B-Lymphozyten sezernieren Antikörper (Immunglobuline), die spezifisch an extrazelluläre, frei-flottierende Antigene binden. Diese werden dadurch inaktiviert und sind für die nachfolgende Zerstörung durch Phagozyten oder Serumfaktoren markiert (opsonisiert). Die Gruppe der T-Zellen besteht aus zwei Untergruppen, die ihren Aufgaben entsprechend zytotoxische T-Zellen (CD8-positiv) und T-Helferzellen (CD4-positiv) genannt werden. Bei den T-Helferzellen lassen sich aufgrund der Produktion unterschiedlicher Zytokine zwei weitere Untergruppen abgrenzen: TH1-Zellen interagieren mit phagozytosefähigen Zellen, während TH2-Zellen an der Steuerung der B-Zellaktivität sowie der Antikörperproduktion beteiligt sind. Zytotoxische T-Zellen erkennen und zerstören virusinfizierte Zellen.

1.1.2 Zytokine

Das koordinierte Zusammenwirken der unterschiedlichen Immunzellen mit den weiteren Komponenten des Immunsystems wird durch eine Gruppe von löslichen Faktoren, den Zytokinen, ermöglicht. Dabei handelt es sich um von verschiedenen Immunzellen, Fibroblasten, Synovial- und Epithelzellen produzierte Polypeptide, die hochspezifisch und hochpotent sowohl zwischen einzelnen Immunzellen als auch zwischen Immunzellen und Gewebezellen vermitteln. Über Oberflächenrezeptoren wirken Zytokine letztlich auf die intrazelluläre Ribonukleinsäure- und Proteinsynthese und übernehmen weitreichende Aufgaben. Ihr Wirkungsfeld umfasst neben der Regulation von Immun- und Entzündungsreaktionen auch die Steuerung des Zellwachstums, der Zelldifferenzierung und der Zellmotilität.

Zytokine ähneln zwar in ihrem Wirkungsprofil endokrinen Hormonen, sie unterscheiden sich allerdings von diesen dadurch, dass sie nicht von speziellen Drüsen synthetisiert werden und nicht nur rein endokrin, sondern auch autokrin und parakrin wirken (Kirchner et al., 1993; Sheeran und Hall, 1997). Jedes Zytokin hat eine Vielzahl von Aufgaben, die sich teilweise mit den Funktionen anderer Zytokine überschneiden. Durch die große Anzahl bekannter Zytokine entsteht ein komplexes Netzwerk synergistisch und antagonistisch wirkender Botenstoffe.

Diese enge Verknüpfung führt zur Existenz einer Zytokinkaskade, in der bestimmte Zytokine die Freisetzung weiterer Zytokine induzieren können. Die Wirkdauer und der Effekt dieser kurzlebigen Polypeptide werden somit deutlich erhöht.

Innerhalb der Obergruppe der Zytokine unterscheidet man zwischen Interleukinen (IL), Interferonen (IFN), Tumor-Nekrose-Faktoren (TNF), Wachstumsfaktoren (GF, growth factors) und koloniestimulierenden Faktoren (CSF). Nach den Hauptsynthesorten kann man die von Lymphozyten produzierten Lymphokine (z.B. IL-2, IL-4, IL-10 und IFN- γ) von den Monokinen (IL-6, TNF- α) trennen, die dementsprechend von Monozyten und Makrophagen gebildet werden.

1.2 Gleichgewicht des Immunsystems

Der Schutz eines dynamischen Gleichgewichts der Körperfunktionen, auch Homöostase genannt, ist eine grundlegende Funktion des menschlichen Organismus, da dieser konstant wechselnden Umwelteinflüssen ausgesetzt ist. Durch kontinuierliche Modifikationen versucht auch das Immunsystem, sich diesen stetig wandelnden Anforderungen anzupassen.

So besteht im gesunden Organismus zum Beispiel eine fein ausgewogene Zytokinbalance. Proinflammatorische Zytokine, zu denen TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8 und IL-12 gehören, stehen den antiinflammatorischen Zytokinen, zum Beispiel IL-4, IL-10 und transforming growth factor β (TGF- β) gegenüber. Die proinflammatorischen Mediatoren haben bei einer Infektion oder einem Gewebetrauma sowohl lokale als auch systemische Effekte. Zu den lokalen Wirkungen gehört zum Beispiel die Vermittlung einer Zellmigration von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten aus der Blutzirkulation in das Entzündungsgebiet. Proinflammatorische Zytokine sind daher in der Lage, eine Entzündungsreaktion zu initiieren und zu verstärken. Antiinflammatorische Zytokine übernehmen im Gegensatz dazu wichtige Aufgaben in der Unterdrückung einer zellvermittelten Immunreaktion und der Induktion einer humoralen, durch Immunglobuline vermittelten Immunantwort. Eine proinflammatorische Verschiebung

der Zytokinbalance kann durch die Freisetzung von antiinflammatorischen Peptiden gegenreguliert werden. Antiinflammatorische Zytokine hemmen darüber hinaus die Produktion der proinflammatorischen Zytokine durch Monozyten und Makrophagen (Miossec, 1995). Auch neuroendokrine Parameter können steuernd auf das Immunsystem einwirken. Besondere Bedeutung haben dabei die Hormone Kortisol und Prolaktin.

Eine Verschiebung des immunologischen Gleichgewichts kann im schwersten Fall bis zu einem Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) führen. Das SIRS ist eine systemische Entzündungsreaktion, ausgelöst durch Infektion, schweres Trauma, Verbrennung oder einen hypovolämischen Schock (Bone et al., 1992; Levy et al., 2003). Es ist durch Fieber, Gefäßdilatation, Tachykardie, Tachypnoe und eine Leukozytose gekennzeichnet und kann durch gegenregulatorische Mechanismen des Organismus bewältigt werden. Zytokine sind hier sowohl bei der Entstehung als auch bei der Begrenzung und Bekämpfung des SIRS ausschlaggebend. Denn obwohl Zytokine für die Homöostase des Immunsystems sorgen, können sie in hohen Konzentrationen zu Gewebeschäden und sogar Organversagen führen.

Im peripheren Blut von SIRS-Patienten sind besonders die Zytokine TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-8 deutlich erhöht (Blackwell und Christman, 1996). Dabei sind gerade TNF- α und IL-1 β in der Lage, aufgrund ihrer vermittelnden Rolle innerhalb der Zytokinkaskade, weitere Zytokine zu induzieren. Die Spitzenkonzentration von IL-6 im Serum wurde in einer Reihe von Studien als wichtiger Vorhersagewert für die Mortalität der Sepsis beschrieben (Calandra et al., 1991; Damas et al., 1992; Casey et al., 1993). Gleichzeitig löst die Entzündungsreaktion auch die Freisetzung verschiedener neutralisierender Moleküle aus. Dazu gehören sowohl lösliche Zytokinrezeptoren, wie sie für TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 und eine Reihe anderer Zytokine beschrieben wurden, als auch Zytokinrezeptorantagonisten, wie sie für den IL-1-Rezeptor identifiziert wurden. Auch antiinflammatorische Zytokine wie IL-10 sind neutralisierend wirksam (Burger und Dayer, 1995; Dinarello, 1995; Kato et al., 1995).

Blackwell und Christman stellten deshalb die Hypothese auf, dass die Prognose eines SIRS-Patienten zumindest zum Teil von der Balance der proinflammatorischen Zytokine mit den neutralisierenden Faktoren abhängt (Blackwell und Christman, 1996). Unterstützt wird diese These durch eine Reihe von Tierexperimenten, die sowohl durch den Einsatz von IL-1-Rezeptorantagonisten und löslichen TNF- α -Rezeptoren als auch von IL-10 eine signifikante Senkung der Mortalität nachweisen konnten (Fischer et al., 1992; Dinarello et al., 1993; Dinarello, 1995; Kato et al., 1995; Latifi et al., 2002).

Die Antizytokin-Therapie hat bereits Einzug in die Behandlung der rheumatoiden Arthritis gefunden, die sich als entzündliche, systemische Gewebeerkrankung manifestiert. Verschiedene kleinere klinische Studien über die Wirksamkeit der Antizytokin-Monotherapie bei Sepsispatienten haben wiederholt geringe Senkungen der Mortalität gezeigt (Dinarello, 2001). Um diese ersten Erfolge weiter zu verbessern, erproben aktuelle Versuchsansätze zur Zeit eine Multi-Antizytokin-Therapie (Huber et al., 2000).

1.3 Exogene Immunmodulatoren

Auch exogene, nichtinfektiöse Faktoren können das immunologische Gleichgewicht beeinflussen und dadurch zum Beispiel den Schutz vor angreifenden Krankheitserregern vermindern oder systemische Entzündungsreaktionen begünstigen.

1.3.1 Operationstrauma

Jede Gewebeverletzung führt zu einer notwendigen Aktivierung des Immunsystems. So können eine rasche Wundheilung und die erfolgreiche Bekämpfung eingedrungener Pathogene ermöglicht sowie die Synthese von Autoantikörpern gegen körpereigenes Gewebe verhindert werden. Diese tief greifenden immunologischen Veränderungen können jedoch auch zur postoperativen Häufung von Infektionskrankheiten (den Hoed et al., 1998; Kehlet und Nielson, 1998; Targarona et

al., 2000), verzögerten Heilungsreaktionen (Thornton et al., 1997; Clark et al., 2000) und dem gehäuften Auftreten von Schüben chronischer Krankheiten wie dem Morbus Crohn (Bauer et al., 1998) führen. Bei malignen Tumorerkrankungen wurde nach operativen Eingriffen eine Zunahme der Metastasierungsrate beschrieben (Weese et al., 1986; Eggermont et al. 1987).

Die angeborene Immunität ist im postoperativen Verlauf durch eine Zunahme der zirkulierenden Monozyten gekennzeichnet. Diese exprimieren jedoch weniger oberflächliche MHC-Moleküle (major histocompatibility complex), so dass die Fähigkeit der Monozyten zur Antigenpräsentation abnimmt. Darüber hinaus sinkt die Fähigkeit der Monozyten zur chemotaktischen Migration, zur Phagozytose und zur intrazellulären Pathogenprozessierung (Salo, 1992; Haupt, 1998). Dadurch wird der primäre Abwehrmechanismus der unspezifischen Immunität gestört und die aktivierende Schnittstelle zum spezifischen Immunsystem geschwächt. Die durch Mitogene stimulierbare Synthese und Sekretion der monozytotypischen Zytokine IL-1, IL-6 und IL-8 wird ebenfalls durch das Operationstrauma beeinflusst, wobei je nach Zeitpunkt und Ausdehnung des Operationstraumas sowohl erhöhte als auch verminderte Werte beschrieben wurden (Faist et al., 1992; Hensler et al., 1997; Haupt et al., 1998). Auch die Zahl der zirkulierenden NK-Zellen kann während eines chirurgischen Eingriffs signifikant abnehmen (Tonnesen et al., 1987).

Typisch für die postoperative Störung des spezifischen Immunsystems ist die Abnahme der im peripheren Blut zirkulierenden Lymphozyten, die erst nach Tagen wieder ihren Ausgangswert erreichen (Salo, 1992). Während bei kleineren operativen Eingriffen das Verhältnis von T- und B-Lymphozyten gewahrt bleibt, nimmt die Zahl der T-Lymphozyten mit zunehmendem Umfang des Eingriffes überproportional ab. Die Analyse der T-Zell-Subpopulationen zeigt dabei eine relative Abnahme der CD4-positiven T-Helferzellen (Salo, 1992; Bauer, 1998). Darüber hinaus zeigen funktionelle *in vitro* Tests intraoperativ eine verminderte Proliferation auf die Stimulation mit verschiedenen T-zellspezifischen Mitogenen. Die endotoxinstimulierte Sekretion der T-Zellzytokine IL-2, IL-4, IFN- γ und TNF- α ist durch das Operationstrauma signifikant herabgesetzt (Salo, 1992; Hensler et al., 1997; Bauer,

1998). Chirurgische Eingriffe bedingen eine schwerwiegende Veränderung der Immunlage mit dominierender Einschränkung der T-Zellantwort. Das Ausmaß der Immunmodulation korreliert dabei direkt mit der Größe des Eingriffs, wie anhand von Vergleichsstudien zwischen konventionellen und minimal invasiven Operationstechniken gezeigt wurde (Bitterman et al., 1991; Smit et al., 1996).

Die humorale, durch Immunglobuline vermittelte Immunantwort wird durch eine Operation nur geringfügig beeinträchtigt, was durch die lange Halbwertszeit der Antikörper erklärt werden kann (Salo, 1992).

Auch neuroendokrine Regelkreise werden durch ausgedehnte Gewebeverletzungen beeinflusst. Verschiedene Studien konnten einen Einfluss von Operationen auf die Plasmakonzentrationen von Adrenalin, Noradrenalin, Kortisol und Prolaktin nachweisen, die teilweise mehrere Tage in die postoperative Phase hinein andauern (Karayiannakis et al., 1997; Roth-Isigkeit und Schmucker, 1997; Friedrich et al., 1999; Marana et al., 2003).

1.3.2 Anästhesie und ihre Medikamente

Anästhesieverfahren beeinflussen direkt und indirekt das Immunsystem des Patienten. Schmerzfreiheit und die Aufrechterhaltung der Homöostase vermindern die systemische Reaktion auf das operative Trauma und machen die moderne Chirurgie erst möglich. Dennoch wurde schon Anfang des letzten Jahrhunderts anhand von Tierversuchen ein möglicher negativer Einfluss der Anästhesie auf das Immunsystem diskutiert (Snell, 1903).

Bis heute konnte wiederholt in Tiermodellen oder in *in vitro* Experimenten ein Einfluss verschiedener Narkotika auf immunologische Reaktionen im peripheren Blut nachgewiesen werden. Die Lyse des Bakteriums *Escherichia coli* durch periphere Monozyten wird beispielsweise durch das Barbiturat Thiopental gehemmt (Heller et al., 1998). Darüber hinaus wird durch Thiopental die T-Zellproliferation nach

PHA-Stimulation eingeschränkt und die allergische Reaktion vom verzögerten Typ im Pin-Prick-Test abgeschwächt (Devlin et al., 1994; Devlin et al., 1995).

Andere Narkotika wie zum Beispiel Propofol reduzieren die Phagozytosefähigkeit von neutrophilen Granulozyten (Heller et al., 1998). Inhalationsnarkotika (Kress und Eberlein, 1992) und Opiate vermindern sowohl im Tierversuch (Beilin et al., 1992; Beilin et al., 1996) als auch in *in vitro* Versuchen (Yeager et al., 1995) die Zytotoxizität der NK-Zellen im peripheren Blut, eine Tatsache, die als Auslöser der erhöhten Tumormetastasierung bei mit Inhalationsnarkotika behandelten Mäusen diskutiert wird (Moudgil und Singal, 1997).

Das grundlegende Problem der *in vivo* Erforschung des Narkoseeinflusses auf das menschliche Immunsystem liegt in der schweren Trennbarkeit der Effekte des operativen Traumas von denen der Anästhesie. Bemerkenswert sind daher die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Lahat, die anhand eines herzchirurgischen Patientenkollektivs direkt nach Einleitung einer Narkose mit dem Opioid Fentanyl, noch vor Beginn des Operationstraumas, einen signifikanten Anstieg an TNF im peripheren Blut nachweisen konnten (Lahat et al., 1992). Ähnliche Ergebnisse bei orthopädischen Patienten dokumentieren 20 Minuten nach Einleitung einer Inhalationsnarkose mit Opiatgabe, vor Beginn des Operationstraumas, einen signifikanten Rückgang der zirkulierenden NK-Zellen sowie einen Anstieg der Produktion der Zytokine IFN- γ , TNF- α und des löslichen IL-2-Rezeptors (Brand et al., 1997). In einer vergleichbaren Versuchsreihe konnte direkt nach Beginn einer intravenösen Anästhesie mit Propofol und Fentanyl ein signifikanter Anstieg von Prolaktin, IFN- γ und dem löslichen IL-2-Rezeptor (sIL-2R) sowie ein Abfall der Serumkonzentration von Kortisol demonstriert werden (Brand et al., 2001).

Weitere Vergleichsstudien haben gezeigt, dass die postoperative Immunantwort sowohl von den verwendeten Medikamenten als auch vom eingesetzten Anästhesieverfahren abhängig ist. Eine total intravenöse Anästhesie mit dem Hypnotikum Propofol und dem Opioid Alfentanyl verminderte in einer Studie die IL-6-Freisetzung nach elektiver Hysterektomie signifikant gegenüber einer Inhalationsnarkose mit Isofluran und Lachgas (Crozier et al., 1994).

Auch bei Operationen zur lumbalen Diskektomie führte die intravenöse Propofol/Sufentanyl-Opiatanästhesie im Vergleich zur Inhalationsnarkose mit Trapanal/Sevofluran zu einer signifikant niedrigeren IL-6 Sekretion ins periphere Blut (Schneemilch und Bank, 2001). Die Arbeitsgruppe um Gilliland konnte nachweisen, dass die Serumspiegel von IL-10 postoperativ nach einer Propofol-Narkose signifikant stärker erhöht waren als nach einer Inhalationsanästhesie mit Isofluran (Gilliland et al., 1997). In zwei weiteren Studien wurde nach intravenöser Propofol-Anästhesie eine im Vergleich zu einer Thiopental- oder Isofluran-Inhalationsnarkose signifikante Erhöhung der zirkulierenden T-Helferzellen festgestellt (Pirttikangas et al., 1994; Pirttikangas et al., 1996). Auch die Aktivierung neuroendokriner Reaktionen wird durch die Wahl des Narkoseverfahrens unterschiedlich stark beeinflusst. Nach Hysterektomien unter Propofol wurden postoperativ, im Vergleich zu einer Isofluran-Inhalationsanästhesie, deutlich niedrigere Serumkortisolspiegel nachgewiesen (Pirttikangas et al., 1995).

Der Regionalanästhesie wird im Gegensatz zur Vollnarkose ein geringeres immunmodulatorisches Potential zugeschrieben. Postoperativ reduzierte Serumkortisolspiegel, eine abgeschwächte IL-6-Sekretion und geringer ausgeprägte Immunzellverschiebungen im Vergleich zur Vollnarkose wurden sowohl für die Epidural- als auch die Spinalanästhesie beschrieben (Rem et al., 1980; Hole et al., 1982; Hashimoto et al., 1995; Hogevald et al., 2000).

1.4 Spinalanästhesie

Die Spinalanästhesie hat sich seit ihren Anfängen Ende des 19. Jahrhunderts als eine zuverlässige, kostengünstige und einfache Methode der rückenmarksnahen Leitungsanästhesie erwiesen. Durch das Einbringen eines Lokalanästhetikums in den Subarachnoidalraum, den Liquorraum zwischen den weichen Hirnhäuten Pia Mater und Arachnoidea, werden Schmerzlosigkeit und Muskelrelaxation gewährleistet. Besonders bei Eingriffen im Bereich des Unterbauches und der unteren Extremitäten hat sich die Spinalanästhesie bewährt. Als vorteilhaft haben sich dabei die sehr geringen Anästhetikadosen, das Fehlen jeglicher zusätzlicher Schmerzmedikation,

das minimale Gewebetrauma, die erhaltene Spontanatmung und die Vigilanz des Patienten erwiesen. Aufgrund der günstigen anatomischen Verhältnisse wird die Punktion dabei meistens zwischen den Segmenten L3 und L4 vorgenommen. Punktionen über L2/3 werden am erwachsenen Patienten wegen der höheren Verletzungsgefahr für das Rückenmark selten durchgeführt. Durch die membranstabilisierende Wirkung der natriumkanalblockenden Lokalanästhetika kommt es kurz nach der Injektion zu einer rasch zunehmenden Blockade der Erregungsleitung. Hauptangriffsort der Lokalanästhetika sind hierbei die Vorder- und Hinterwurzeln der Spinalnerven, aber auch autonome Nervenfasern, gemischte Nervenstämmen und die oberflächlichen Leitungsbahnen im Rückenmark selbst. Es kommt zu einer reversiblen sympathischen, sensorischen und motorischen Blockade, wobei die dünnen Sympathikusfasern zuerst angegriffen werden.

Je kleiner der Durchmesser der Nervenfasern, desto geringer ist die notwendige Mindestkonzentration des Lokalanästhetikums, die zur vollständigen Blockade der Nervenleitung vorliegen muss. Die Ausdehnung der Anästhesie ist dabei sowohl vom verwendeten Volumen und der Konzentration als auch vom spezifischen Gewicht des Anästhetikums, bezogen auf das Gewicht des Liquors, abhängig. Ebenso beeinflussen die Injektionsgeschwindigkeit und die Position des Patienten während und nach der Injektion die Ausdehnung der Anästhesie. Da unterschiedlich dicke Nervenfasern verschieden auf Anästhetika reagieren, und die Konzentration des Lokalanästhetikums mit zunehmender Entfernung vom Injektionsort abnimmt, resultiert eine abgestufte Blockade. Am Ort der höchsten Konzentration des Lokalanästhetikums sind alle Sinnesmodalitäten und die Motorik vollständig blockiert, während weiter distal aufgrund des geringen Faserdurchmessers nur noch Sympathikusfasern betroffen sind.

Die Blockade des Sympathikus hat in der Spinalanästhesie eine zweifache Bedeutung. Einerseits existiert, ähnlich den bekannten Myotomen und Dermatomen, eine spinale Zuordnung zur sympathischen Innervation der Organe, die bei der Planung der Anästhesieausbreitung berücksichtigt werden muss. Andererseits ruft die Blockade präganglionärer Sympathikusfasern eine Vasodilatation im

Versorgungsgebiet hervor. Dies kann zum Abfall des arteriellen Blutdrucks führen und erklärt das vom Patienten oft beschriebene Wärmegefühl und Kribbeln in den Beinen direkt nach Injektion des Lokalanästhetikums.

Das Wirkungsende des Lokalanästhetikums beruht zum einen auf einem Konzentrationsabfall durch Liquorverdünnung, zum anderen auf der Resorption des Medikaments.

1.5 Fragestellung

Der Einfluss der Anästhesie auf das menschliche Immunsystem wird seit längerer Zeit erforscht. Die meisten bekannten Studien beschäftigen sich mit immunologischen Veränderungen in der postoperativen Phase nach verschiedenen Formen der Vollnarkose. Differenzierte Schlussfolgerungen sind bei derartigen Studien nur begrenzt möglich, weil die gemessenen Veränderungen sowohl den Einfluss des operativen Traumas als auch der Anästhesie widerspiegeln.

In der vorliegenden Arbeit sollte selektiv der Einfluss der Spinalanästhesie auf das Immunsystem untersucht werden. Zu diesem Zweck wurden Kontrollblutproben vor Einleitung der Anästhesie und Studienproben 20 Minuten nach Einleitung der Spinalanästhesie, jedoch vor Beginn der chirurgischen Intervention, gewonnen. Es wurden nur Patienten zur invasiven Diagnostik oder kleineren urologischen, elektiven Operationen untersucht.

Da in einer Reihe von Vorstudien unter Allgemeinanästhesie eine Verschiebung der Lymphozytenpopulationen im peripheren Blut beschrieben wurde, sollten in einer ersten Versuchsreihe zelluläre Parameter mit Hilfe eines Differentialblutbildes und der Durchflusszytometrie auf mögliche Veränderungen untersucht werden. Dabei war von Interesse, ob unter Spinalanästhesie Veränderungen in der Zusammensetzung der Lymphozytenpopulationen beobachtet werden können.

Des Weiteren wurden das proinflammatorische Zytokin IFN- γ sowie der lösliche IL-2-Rezeptor und das Akut-Phase-Zytokin IL-6 im Stimulationsversuch gemessen.

Neben ihrer Bedeutung für die Zytokinbalance erlauben die Konzentrationen dieser Zytokine auch Rückschlüsse auf die Aktivität ihrer Ursprungszellen. Interferon- γ wird von T- und NK-Zellen synthetisiert.

Ferner wurden die immunwirksamen Hormone Kortisol und Prolaktin als neuroendokrine Stressparameter gemessen. Aufgrund ihrer Wirkungen sowohl im Immunsystem als auch im neuroendokrinen System stellte sich die Frage, ob sie eine wichtige Bindefunktion übernehmen und möglicherweise an der durch eine Spinalanästhesie ausgelösten Immunmodulation beteiligt sind. Um die Wirkung des Hormons Prolaktin auf das Immunsystem genauer zu untersuchen, wurde in Vorversuchen ein Vollblutstimulationstest mit dem Zusatz verschiedener Konzentrationen von Prolaktin durchgeführt.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1 Patienten

2.1.1 Patientenkollektiv

Durch die Auswahl eines geeigneten Patientenkollektivs sollten möglichst viele Störgrößen eliminiert und eine gute Vergleichbarkeit der gemessenen Parameter durch einen ähnlichen präoperativen Zustand erzielt werden. Daher eigneten sich urologische Patienten zur invasiven Diagnostik oder kleinen Operationen besonders gut. Die durchgeführten Eingriffe waren Zystoskopien, Ureterskopien, Ureterschienungen, Gewebebiopsien, Harnblasenoperationen und transurethrale Prostataoperationen. Bei keinem Patienten war ein Trauma in der unmittelbaren Vorgeschichte bekannt, das die gemessenen Ausgangswerte hätte beeinflussen können. Abgesehen von den zur Operation führenden Krankheitsbildern waren die Patienten zum Zeitpunkt des Eingriffs gesund und hatten in präoperativen EKG- und Spirometrieuntersuchungen normale Herz-, Kreislauf- und Lungenfunktionen.

Ausschlusskriterien waren eine eingeschränkte Immunktion, ein verminderter Allgemeinzustand, ein fortgeschrittenes Tumorleiden und jede Alkohol- oder Drogenabhängigkeit. Aufgrund des relativ hohen Alters der Patienten und den damit verbundenen Komorbiditäten (Median: 70 Jahre) konnten regelmäßige Medikamenteneinnahme und maligne Erkrankungen per se nicht als Ausschlusskriterien etabliert werden. Dennoch wurde durch eine strenge Patientenauswahl akribisch darauf geachtet, die Vergleichbarkeit der gewonnenen Daten nicht zu beeinflussen. Insgesamt wurden 42 konsekutiv operierte Patienten in die Studie aufgenommen. Die Bestimmung der Zytokinkonzentrationen im Stimulationsversuch wurde ab Patient 16 fortlaufend durchgeführt. Nach den Kriterien der American Society of Anesthesiologists (ASA), die versuchen das perioperative Risiko der Patienten anhand eines Punktesystems einzuschätzen, wurden die

teilnehmenden Patienten als Grad I bis III klassifiziert. Hohe ASA-Grade korrelieren dabei mit einem hohen perioperativem Risiko.

Das Alter der Patienten beeinflusst diesen Index ebenso wie Gewicht und vorbestehende Erkrankungen. Das Einverständnis für die Teilnahme an der Studie wurde bei der Prämedikationsvisite eingeholt. Alle Operationen wurden in den frühen Morgenstunden durchgeführt, um etwaige circadiane Veränderungen der endokrinen Parameter sowie der Lymphozytenaktivität zu minimieren. Tabelle 1 zeigt eine Zusammenfassung der Patientendaten.

Die prolaktinkonzentrationsabhängigen Stimulationstests des Vorversuchs wurden mit Vollblut 15 gesunder Blutspender durchgeführt.

Tabelle 1:
Zusammenfassung der Patientendaten

Alter in Jahren (Median)	18–88 (70)
Geschlecht (männlich/weiblich)	37/5
Körpergewicht in Kilogramm (Median)	50-102 (75.5)
ASA I	11
ASA II	21
ASA III	10
ASA IV-VI	0

ASA= 6-gradige Klassifikation der American Society of Anesthesiologists zur Beurteilung des perioperativen Risikos.

2.1.2 Anästhesieverfahren

Die Patienten wurden im Rahmen der routinemäßigen Prämedikationsvisite, die am Abend vor dem operativen Eingriff stattfand, über die Durchführung der Spinalanästhesie aufgeklärt und mit einer Dosis von 10-20mg Clorazepat per os

(Tranxilium ®) prämediziert. Am Morgen des Operationstages wurde den Patienten nochmals die gleiche Dosis Clorzepat verabreicht.

Im Operationssaal wurde den Patienten ein venöser Verweilkatheter (Braunüle, 17 G, Braun, Melsungen) gelegt, über den zu diesem Zeitpunkt die erste Blutprobe entnommen wurde. Im Anschluss daran wurde den Patienten 500ml Ringerlösung venös verabreicht. Daraufhin wurde am sitzenden Patienten der Bereich um die Einstichstelle großflächig desinfiziert und mit einem sterilen Lochtuch abgedeckt. Zu Beginn der Anästhesieeinleitung wurden die Patienten im Bereich der späteren Punktionsstelle bei L3/L4 mit ungefähr 2ml einprozentigem Mepivacain (Scandicain ®) lokalbetäubt. Erst nach Eintritt der Lokalanästhesie wurde die Punktion des Subarachnoidalraums mit einer 25 G Nadel durchgeführt und 2,5-3,5ml 0.5% Bupivacain (Carbostesin®) injiziert. Die Spinalanästhesie wurde in der isobaren Technik durchgeführt und eine komplette Blockade bis zum Segment Th10 wurde erreicht. 20 Minuten nach Einleitung der Spinalanästhesie, vor Beginn jeglicher chirurgischer Intervention, wurde die zweite Blutprobe entnommen. Die Venenpunktion wurde am kontralateralen Arm durchgeführt, da aufgrund der bereits zugeführten Ringerlösung bei erneuter Abnahme über den Verweilkatheter Verdünnungsartefakte nicht auszuschließen waren.

2.2 Material

2.2.1 Geräte

Autoclav GLA 40 (Medizin und Labortechnik KG F. Gössner GmbH, Hamburg)

CO₂-Inkubator 3029, Forma Scientific (Labotec GmbH, Bovenden)

Durchflusszytometer: EPICS XL-MCL (Coulter Electronics GmbH, Krefeld)

ELISA-Reader: Anthos reader 2001 (Anthos Labtec Instruments, Salzburg, Österreich)

ELISA-Washer II (Biotest AG, Dreieich)

Erythrozytenlysator Multi-Q-Prep (Coulter Electronics GmbH, Krefeld)

Gamma Counter: LKB Wallac Gammamaster 1277 (Wallac Distribution GmbH, seit Mai 2000 PerkinElmer Wallac GmbH, Freiburg)

Gefriertruhe -80°C : Forma Scientific, Bio Freezer (Labotec GmbH, Bovenden)
Multipipette plus (Eppendorf GmbH, Hamburg)
Pipetboy acu (Intergra Biosciences, Fernwald)
Pipetten Vario-Mikroliterpipetten 0,5-10 μl , 10-100 μl , 200-1000 μl (Eppendorf GmbH, Hamburg)
Rüttler: Titramax 100 (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim)
Sterile Werkbank: Biohazard (Heraeus Christ GmbH, Osterode)
Vitros ECI Immundiagnostiksystem (Ortho-Clinical Diagnostics GmbH, Neckargemünd)
Vortex Reax 2000 (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim)
Zentrifuge: Omnifuge 2.0 RSA (Heraeus Christ GmbH, Osterode)

2.2.2 Laborbedarf

Auslaufpipetten 5ml, 10ml (Sarstedt, Nümbrecht)
Combitips plus 5ml (Eppendorf GmbH, Hamburg)
Eppendorf Reaktionsgefäße (Sarstedt, Nümbrecht)
Facsröhrchen (Greiner, Nürtingen)
Monovetten, Lithium-Heparin 4,5ml (Sarstedt, Nümbrecht)
Monovetten, EDTA 2,7ml (Sarstedt, Nümbrecht)
Monovetten für Serum 10ml (Sarstedt, Nümbrecht)
Pipettenspitzen, 1-10 μl , 10-100 μl , 100-1000 μl (Greiner, Nürtingen)
PPN Röhrchen 5ml (Greiner, Nürtingen)
Röhrchen: 5ml, 15ml, 50ml (Sarstedt, Nümbrecht)
Zentrifugengläser (Caramat, Wiesbaden)

2.2.3 Reagenzien für die Durchflusszytometrie

Folgende farbstoffgebundene, monoklonale Antikörper wurden von der Firma Coulter Electronics, Krefeld bezogen:

CD3-ECD (energy-coupled dye)

CD3-FITC (Fluoresceinisothiocyanat)

CD4-PE (Phycoerythrin)

CD8-FITC

CD14-PE

CD16-FITC

CD19-PE

CD45-FITC

CD56-PE

MausIgG1-FITC

MausIgG1-PE

MausIgG2a-PE

MausIgG2b-ECD

Leukozytenpräparation:

Für die Zelltypisierung im Durchflusszytometer wurden die Proben mit dem kommerziellen Reagenzienkit Coulter Clone ImmunoPrep Epics (Coulter Electronics GmbH, Krefeld) vorbereitet.

2.2.4 Reagenzien für den Vollbluttest

RPMI-Medium 1640 (Biochrom KG, Berlin)

L-Glutamin 200mM (Gibco GmbH, Karlsruhe)

Penicillin 10000U/ml / Streptomycin 10000µg/ml (Gibco GmbH, Karlsruhe)

Lipopolysaccharid (LPS) aus *Escherichia coli*, Serotyp 0III:B4

(Sigma Chemie GmbH, Deisenhofen)

Phytohämagglutinin (PHA) aus *Phaseolus vulgaris*, Serotyp L-9017

(Sigma Chemie GmbH, Deisenhofen)

Humanes Hormon für den prolaktinkonzentrationsabhängigen Vollbluttest:

Humanes, rekombinantes Prolaktin, molekulares Gewicht circa 24kDa

(R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt)

2.2.5 Testkits

ELISA für humanes IL-6 und IFN- γ

(Bender Medsystems, Medsystems Diagnostics GmbH, Wien, Österreich)

ELISA für den löslichen IL-2-Rezeptor

(R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt)

RIA für Kortisol (Coulter-Immunotech Diagnostics, Hamburg)

Vitros Chemilumineszens Kit für humanes Prolaktin

(Ortho-Clinical Diagnostics GmbH, Neckargemünd)

2.3 Methoden

2.3.1 Differentialblutbild und Durchflusszytometrie

Eine orientierende Betrachtung der untersuchten Proben wurde anhand des maschinell erstellten Differentialblutbildes erreicht. Dabei wurden mit Hilfe der Cyanhämoglobin-Methode die Hämoglobinkonzentration sowie die Leukozyten- und Granulozytenzahl bestimmt.

Die durchgeführte Durchflusszytometrie ermöglichte eine schnelle und zuverlässige Klassifizierung und Quantifizierung der verschiedenen Lymphozytenpopulationen. In der Durchflusszytometrie dienen die Zellgröße, die Zellstruktur und spezifische Oberflächenmarker als Unterscheidungsmerkmale. Im Durchflusszytometer werden die aufbereiteten Zellen einzeln an einem Argonlaser vorbeigeleitet. Das dabei entstehende Streulicht erlaubt eine erste Aufteilung in Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten. Der zusätzliche Einsatz von monoklonalen, zuvor mit den Farbstoffen Fluoresceinisothiocyanat (FITC) oder Phycoerythrin (PE) markierten Antikörpern

gegen eine Reihe von CD-Oberflächenmarkern ermöglicht eine weiterreichende Immunphänotypisierung. Im Laserfeld entstehen durch Anregung des Fluoreszenzfarbstoffes und anschließender Photonenabgabe Lichtimpulse. Mit Hilfe dieser Lichtimpulse ist es möglich, den Anteil der für den jeweiligen Rezeptor positiven Zellen zu ermitteln.

Die Obergruppe der Lymphozyten wurde für das gemeinsame Leukozytenantigen (CD-45) positiv, sowie für den Monozytenmarker (CD14) negativ definiert. Innerhalb der relevanten Lymphozyten wurde die Bestimmung der gesamten T-Zellgruppe (CD3) durchgeführt und eine weitere Differenzierung in T-Helferzellen (CD4) und zytotoxische T-Zellen (CD8) vorgenommen. Die Charakterisierung der B-Zellen erfolgte anhand der Expression des CD19-Moleküls und der Abwesenheit des T-zellspezifischen CD3-Oberflächenmarkers. Die kombinierte Expression der Marker CD16 und CD56 bei fehlender Expression der T- beziehungsweise B-zelltypischen CD3- oder CD-19-Oberflächenmarker wurde als NK-zellspezifisch gewertet. Als Negativkontrollen wurden FITC-, ECD- und PE-konjugierte Mausantikörper der Klassen IgG1 und IgG2 eingesetzt, die spezifisch waren für Serumproteine oder nicht-humanen Material.

Protokoll:

- Antikörperlösungen gemäß folgendem Pipettierschema in 6 Zentrifugenröhrchen vortropfen

Zu bestimmende Zelltypen	Antikörperlösungen (je 10µl)
Lymphozyten	- CD14-PE / CD45-FITC
T-Zellen und Subtypen	- CD3-ECD - CD4-PE / CD8-FITC
NK-Zellen	- CD3-ECD - CD16-FITC - CD56-ECD
B-Zellen	- CD3-FITC / CD19-PE
Negativ Kontrolle	- MslgG1-PE / MslgG1-FITC - MslgG2b-ECD
Negativ Kontrolle	- MslgG2a-PE - MslgG1-FITC

-
- 100µl EDTA-Blut hinzufügen und vorsichtig per Vortex durchmischen
 - 15 min lang bei Raumtemperatur inkubieren
 - mit Hilfe des Erythrozytenlysator Multi-Q-Prep und dem Reagenzienkit Coulter Clone ImmunoPrep Epics in drei Schritten Erythrozyten lysieren, Leukozyten stabilisieren und fluoreszierende Antikörper fixieren
 - im Durchflusszytometer die Rezeptorexpression messen.

2.3.2 Vollblutstimulationstest

Zur Beurteilung der Aktivität von Immunzellen bot sich die polyklonale, *in vitro* Zellstimulation als aussagekräftige und einfach zu handhabende Methode an. Mit Hilfe verschiedener Stimulantien wird dabei die Zellproliferation und die Zytokinsekretion wirkungsvoll induziert. Dies ist besonders hilfreich, da die Konzentration der spontan freigesetzten Zytokine im peripheren Blut sehr gering ist und meist unter der Nachweisgrenze der gängigen Bestimmungsmethoden liegt. Der Einsatz von Mitogenen ermöglicht so einen verlässlichen Zytokinnachweis und eine indirekte Aussage über die Funktion der Immunzellen.

Der Zusatz von unterschiedlichen Konzentrationen an humanem, rekombinantem Prolaktin ermöglicht es in einem leicht modifizierten Versuchsansatz, den Einfluss von Prolaktin auf die Funktionalität und die Zytokinproduktion der Immunzellen zu untersuchen. Die notwendigen Änderungen werden im nachfolgenden Versuchsprotokoll als Einschub dargestellt.

Protokoll:

- Blut durch Venenpunktion mit einer Lithium-Heparin-Monovette (15 IU Li-Heparin/ml Blut) abnehmen
- 800µl RPMI-Medium, versetzt mit 2mM Glutamin, 100U/ml Penicillin und 100µg/ml Streptomycin in ein 5ml PPN-Röhrchen vorlegen
- 100µl Vollblut zufügen und vermischen
- 100µl verdünnte Mitogenlösung oder als Negativkontrolle 100µl Kulturmedium zugeben und erneut vermischen (Endkonzentration der Mitogene: LPS: 0,1µg/ml, PHA: 5µg/ml)
 - Zur Untersuchung des Prolaktineinflusses auf die Zytokinproduktion wird die Suspension wahlweise mit 0ng/ml, 5ng/ml, 10ng/ml oder 100ng/ml humanem, rekombinantem Prolaktin versetzt und die Menge des RPMI-Mediums so angepasst, dass ein Endvolumen von 1000µl resultiert.
- Inkubation bei 37°C, 5% CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit für 48 oder 120 Stunden
- 800µl zellfreien Überstand abpipettieren und in Eppendorf-Reaktionsgefäße überführen; bei -80°C bis zur Zytokinmessung lagern.

2.3.3 ELISA

Die Bestimmung der Zytokinkonzentration im Kulturüberstand erfolgte mit der ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)-Technik. Das zu bestimmende Zytokin oder der Rezeptor werden dabei im ersten Schritt durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion an einen spezifischen monoklonalen Primärantikörper fixiert, der zuvor auf eine Mikrotiterplatte geschichtet wurde. Ein enzymgebundener Sekundärantikörper bindet daraufhin an ein anderes Epitop des zu untersuchenden Zytokins. Dieses liegt nun, an die Mikrotiterplatte gebunden, zwischen zwei Antikörpern. Der konjugierte Sekundärantikörper ist notwendig, um nach Zugabe einer entsprechenden Substratlösung eine Farbreaktion zu katalysieren, deren Umsatz photometrisch bestimmt wird und proportional zur vorliegenden Zytokinmenge ist.

Durch einen Vergleich der gemessenen optischen Dichte mit einer Standardkurve kann die Konzentration jeder einzelnen Probe ermittelt werden.

Die ELISA wurden entsprechend der jeweiligen Arbeitsanweisungen der Testkits durchgeführt.

2.3.4 Chemilumineszenz

Für die Bestimmung der Prolaktinkonzentration im Serum wurde ein Lumineszenz-Immunassay eingesetzt, der auf einem ELISA-ähnlichen Prinzip beruht. Die Konzentrationsmessung basiert hier jedoch nicht auf einer farblich sichtbaren, durch den sekundären Antikörper katalysierten Enzymreaktion, sondern wird mittels einer Lumineszenzreaktion gemessen. Auch hier wurde ein kommerziell erhältliches Kit verwendet, dessen Anleitung genau befolgt wurde. Aufgrund der ausgeprägten Ähnlichkeit des Versuchsaufbaus zu den ELISA Testprotokollen wird hier auf eine detailliertere Beschreibung verzichtet.

2.3.5 RIA

Die Messung der Kortisolkonzentration im Serum erfolgte mittels eines kommerziell erhältlichen Radio-Immunassay (RIA) der Firma Immunotech. Ähnlich wie bei einem ELISA bindet hierbei zuerst das im Testansatz enthaltene Kortisol an die mit monoklonalen Antikörpern beschichtete Mikrotiterplatte. Die darauf folgende Zugabe eines J-125 markierten Tracer verdrängt den Analyten kompetitiv aus der Antigen-Antikörper-Reaktion. Als Testparameter dient die Menge des an die Mikrotiterplatte gebundenen J-125. Das im Gamma-Counter gemessene Signal ist dabei umgekehrt proportional zur Analytenkonzentration. Anhand von ebenfalls bestimmten Standardwerten lässt sich die Kortisolkonzentration im Serum berechnen. Der RIA wurde gemäß der Testanleitung und unter strenger Berücksichtigung der Strahlenschutzverordnungen durchgeführt.

2.3.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm SPSS für Windows des Institutes für Medizinische Statistik und Dokumentation. Ein Ergebnis wurde dann als signifikant betrachtet, wenn die Nullhypothese mit einer Wahrscheinlichkeit von kleiner als 5% verworfen werden konnte, das heißt $p < 0,05$ war. Da die gewonnenen Daten aus einer Reihe von Einzelexperimenten stammen und oft nicht der Normalverteilung folgten, wurden die Ergebnisse als Median der Einzelresultate dargestellt. Die Ergebnisse des prolaktinabhängigen Stimulationsversuchs wurden in zwei Schritten analysiert. Zuerst wurde nach Friedman eine zweiseitige Varianzanalyse durchgeführt, um zu untersuchen, ob die vorhandenen Stichproben aus der gleichen Grundgesamtheit stammten. Bei einem positiven Ergebnis wurde im Anschluss daran mittels des Wilcoxon-Tests geprüft, welche Konzentrationen signifikant von einander abwichen. Für die graphische Darstellung der gemessenen Ergebnisse boten sich Balkendiagramme mit Fehlerbalken an, die sowohl den Median als auch das 95% Konfidenzintervall zeigen. Die Varianz der vor und nach Einleitung der Spinalanästhesie gewonnenen, abhängigen Daten wurde anhand des Wilcoxon-Test überprüft. Dabei wird eine Ranganalyse durchgeführt, die Veränderungen innerhalb der einzelnen Probenpaare beurteilt. Für die graphische Darstellung der Messergebnisse wurden die so genannten Box-Plot-Diagramme gewählt, die als Lagemaß den Median zeigen. Durch die zusätzliche Darstellung der 10%, 25%, 75% und 90% Perzentile erlauben es die Box Plots darüber hinaus, eine genauere Aussage über die Streuung der Messergebnisse zu treffen. Abbildung 1 zeigt exemplarisch die Darstellungsweise durch Box Plots.

Abbildung 1:

Graphische Darstellung der gemessenen Zytokinkonzentrationen. Gezeigt ist die Darstellungsweise der Perzentilen an einem Messzeitpunkt.



3. Ergebnisse

3.1 Prolaktininduzierte Veränderungen der IFN- γ -Sekretion

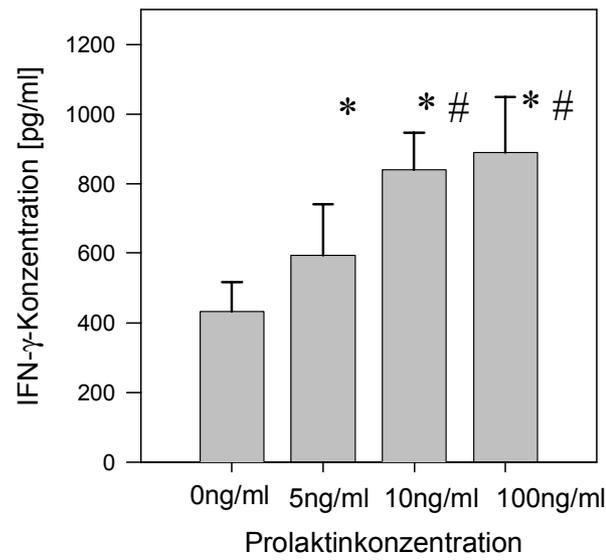
3.1.1 Prolaktininduzierte IFN- γ -Sekretion nach PHA-Stimulation

Die unstimulierten Vollblutkulturen sezernierten sowohl mit als auch ohne Prolaktinzugabe keine messbaren Mengen von IFN- γ in den Kulturüberstand.

Innerhalb der getesteten Prolaktinkonzentrationen wurde eine dosisabhängige, signifikante Steigerung der IFN- γ -Produktion nach PHA-Stimulation im Vollbluttest beobachtet. Darüber hinaus stieg die Produktion nicht nur im Vergleich zum Kontrollansatz ohne Prolaktin, sondern auch zwischen den einzelnen Prolaktinkonzentrationen. Jede Erhöhung der Prolaktinkonzentration in der Vollblutkultur führte zu einer signifikant erhöhten IFN- γ -Ausschüttung in den Kulturüberstand. Eine graphische Darstellung dieser Ergebnisse zeigt Abbildung 2.

Abbildung 2:

Prolaktininduzierte IFN- γ -Produktion nach PHA-Stimulation
nach 120h Inkubation
gemessen bei 15 gesunden Blutspendern



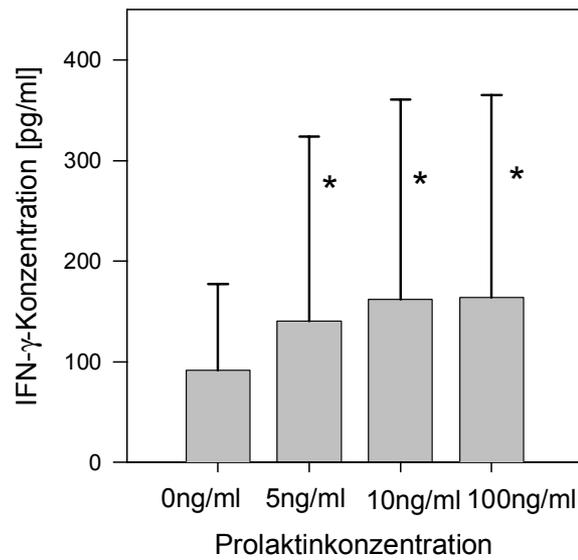
* = $p < 0.05$ verglichen mit der Ausgangskonzentration 0ng/ml PRL
= $p < 0.05$ verglichen mit dem nächstniedrigeren PRL-Niveau

3.1.2 Prolaktininduzierte IFN- γ -Sekretion nach LPS-Stimulation

Entsprechend den Versuchen nach PHA-Stimulation konnte auch nach LPS-Stimulation eine signifikante Steigerung der IFN- γ -Freisetzung durch Prolaktin bis zu Konzentrationen von 100ng/ml festgestellt werden. Durch die einzelnen Konzentrationsänderungen von Prolaktin konnten keine signifikanten Veränderungen induziert werden. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 3 verdeutlicht.

Abbildung 3:

Prolaktininduzierte IFN- γ -Konzentration nach LPS-Stimulation
nach 120h Inkubation
gemessen bei 15 gesunden Blutspendern



* = $p < 0.05$ verglichen mit der Ausgangskonzentration 0ng/ml PRL

3.2 Kortisol- und Prolaktinsekretion unter Spinalanästhesie

Um den Mechanismus der durch die Spinalanästhesie ausgelösten Immunmodulation näher zu analysieren, wurden die endokrinen Stressparameter Prolaktin und Kortisol vor und nach Anästhetikagabe untersucht.

3.2.1 Kortisolkonzentration im Serum

Die im Serum gemessenen Kortisolwerte veränderten sich nach Einleitung der Spinalanästhesie nur minimal, ohne dass diese Verminderung statistisch signifikant geworden wäre. Die untersuchten Daten sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

3.2.2 Prolaktinkonzentration im Serum

Als weiteres Hormon wurde Prolaktin untersucht, dem ebenfalls eine Schlüsselrolle in der immun-neuroendokrinen Kommunikation zugeschrieben wird. Die Einleitung der Spinalanästhesie beeinflusste die Serumkonzentration dieses Hormons nur unwesentlich. Signifikante Veränderungen konnten nicht festgestellt werden.

Tabelle 2:

Veränderungen der Serumkonzentrationen von Kortisol und Prolaktin nach Einleitung der Spinalanästhesie, gemessen bei 42 Patienten. Angegeben ist der Median mit der Spannweite.

	Vor Einleitung der Spinalanästhesie	20 min nach Einleitung der Spinalanästhesie
Kortisol (nmol/l)	309 (84-899)	309 (89-718) (n.s.)
Prolaktin (ng/ml)	8 (3-31)	9 (3-29) (n.s.)

n.s.= nicht signifikant

3.3 Hämoglobinkonzentration und Zusammensetzung der Leukozytenpopulationen unter Spinalanästhesie

3.3.1 Parameter des Differentialblutbildes

Mit Hilfe eines Differentialblutbildes wurden die gewonnenen Proben auf etwaige Veränderungen der Hämoglobinkonzentration, der zellulären Blutbestandteile sowie der neutrophilen Granulozyten und der Gesamtleukozytenzahl untersucht. Eine Ergebnisübersicht ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3:

Veränderungen der Hämoglobinkonzentration, der Leukozyten- und Granulozytenzahl nach Einleitung einer Spinalanästhesie und Gabe von 500 ml Ringer-Lösung gemessen bei 42 Patienten. Angegeben ist der Median mit der Spannweite

	Vor Einleitung der Spinalanästhesie	20 min nach Einleitung der Spinalanästhesie
Hämoglobin (g/dl)	14,0 (10,0–16,3)	13,8 (9,4-15,3) *
Leukozyten/ μ l	7100 (2700-16300)	6800 (2600-14300) *
Neutrophile Granulozyten/ μ l	4600 (1500-12600)	4400 (1500-11000) *
Neutrophile Granulozyten (% der Gesamtleukozyten)	65,5 (36,5-83,8)	65,0 (34,4-86,9) (n.s.)

* = signifikant gegenüber den Ausgangswerten, $p < 0,05$

n.s. = nicht signifikant.

Sowohl die Hämoglobinkonzentration als auch die Leukozyten- und Granulozytenzahl fielen nach Einleitung der Spinalanästhesie signifikant ab. Der prozentuale Anteil der Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl zeigte keinen signifikanten Abfall.

3.3.2 Änderungen der Lymphozytenpopulationen

Die Lymphozytenpopulationen wurden vor und nach Einleitung der Spinalanästhesie mit Hilfe der Durchflusszytometrie quantifiziert, so dass eine Aussage über den Einfluss dieses Anästhesieverfahrens auf die Zusammensetzung der Zellsubtypen ermöglicht wurde. Es wurden die Gesamtlmphozytenkonzentration und die Anteile der verschiedenen Lymphozytensubtypen wie NK-Zellen, T-Zellen, T-Helferzellen, zytotoxische T-Zellen und B-Zellen bestimmt. Tabelle 4 gibt eine Übersicht über die erhaltenen Ergebnisse.

Tabelle 4:

Veränderungen der Lymphozytenpopulationen nach Einleitung einer Spinalanästhesie, gemessen bei 42 Patienten. Angegeben ist der Median mit der Spannweite

	Vor Einleitung der Spinalanästhesie	20 min nach Einleitung der Spinalanästhesie
Lymphozyten/ μ l	1487,0 (417-2675)	1482,5 (445-2789) (n.s.)
NK-Zellen (%)	12,9 (2,2-38,5)	12,85 (2,5-36,6) (n.s.)
CD3-positive T-Zellen (% der Gesamtlmphozyten)	67,9 (45,1-85,9)	69,9 (42,8-86,7) (n.s.)
CD4/CD3-positive TH-Zellen (% der Gesamtlmphozyten)	42,9 (25,2-68,6)	44,8 (27,4-67,2) (n.s.)
CD8/CD3-positive Zytotoxische/Suppressor- T-Zellen (% der Gesamtlmphozyten)	17,9 (7,8-41,2)	17,9 (7,6-41,5) (n.s.)
CD19-positive B-Zellen (%)	11,25 (4,2-26,5)	10,85 (3,8-29,6) (n.s.)

n.s. = nicht signifikant

Nach Einleitung der Spinalanästhesie, vor jeglicher chirurgischen Manipulation, wurde für die Gesamtlmphozytenkonzentration im Blut keine signifikante Veränderung beobachtet. Auch T-Zellen, deren Untergruppen T-Helferzellen und zytotoxische T-Zellen, sowie die B-Zellen und NK-Zellen zeigten nach Einleitung der Spinalanästhesie keine signifikanten Änderungen in ihrer prozentualen Verteilung.

3.4 Zytokin- und sIL-2R-Sekretion unter Spinalanästhesie

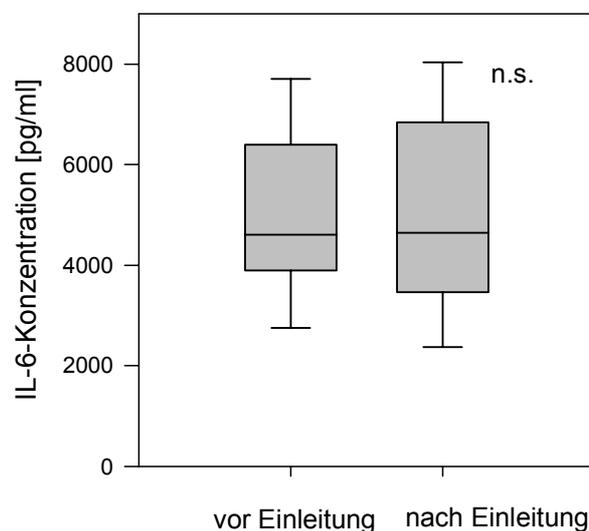
3.4.1 IL-6-Sekretion

Das Akut-Phase-Zytokin IL-6 wurde im Überstand von LPS-stimulierten Vollblutkulturen nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden gemessen. Abbildung 4 zeigt eine graphische Darstellung der Ergebnisse.

Die unstimulierten Negativkontrollen zeigten keine spontane Freisetzung von Interleukin-6 in den Vollblutkulturen. Bei nahezu unverändertem Median wurde durch die Einleitung der Spinalanästhesie kein Einfluss auf die Sekretion des Monokines IL-6 beobachtet. Eine statistische Signifikanz konnte nicht nachgewiesen werden.

Abbildung 4:

IL-6-Sekretion nach LPS-Stimulation und 48h Inkubation
vor und nach Einleitung einer Spinalanästhesie
gemessen bei 27 Patienten



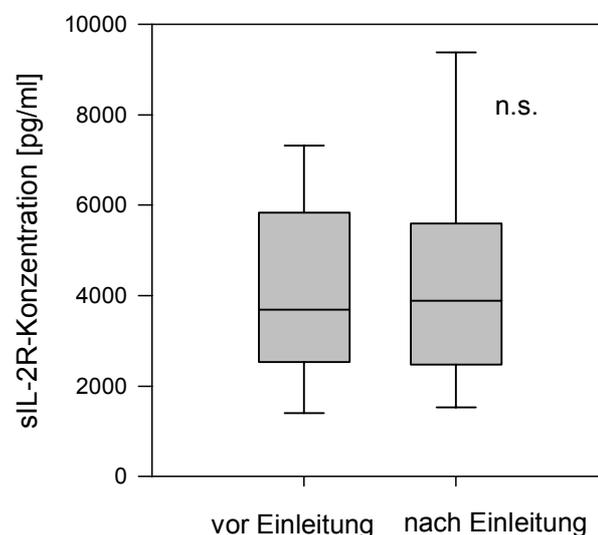
n.s. = nicht signifikant

3.4.2 sIL-2R-Sekretion

Als Stimulanz für die Freisetzung des sIL-2SR wurde das T-Zellmitogen PHA eingesetzt. Die Vollblutkulturen wurden 120 Stunden inkubiert. Abbildung 5 zeigt eine graphische Darstellung der Messwerte im Kulturüberstand. Ohne PHA-Stimulation konnten zu beiden Zeitpunkten nur minimale Konzentrationen des sIL-2R (ungefähr 10 pg/ml) im Kulturüberstand gemessen werden, die sich statistisch nicht signifikant unterschieden. In den stimulierten Vollblutkulturen lag der Median zwar deutlich über diesen Kontrollwerten (ungefähr 3000pg/ml), eine statistische Signifikanz zwischen den Werten vor und nach Einleitung der Spinalanästhesie konnte jedoch ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

Abbildung 5:

sIL-2R-Sekretion nach PHA-Stimulation und 120h Inkubation
vor und nach Einleitung einer Spinalanästhesie
gemessen bei 27 Patienten



n.s. = nicht signifikant

3.4.3 IFN- γ -Sekretion

Als Stimulanzen für die Freisetzung von IFN- γ im Vollbluttestansatz dienten LPS und PHA. Die Messungen erfolgten nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden für LPS und 120 Stunden für PHA. Die als Negativkontrollen dienenden, unstimulierten Zellkulturen zeigten keine Spontanfreisetzung von IFN- γ . Sowohl nach Stimulation mit LPS als auch mit PHA stieg die IFN- γ -Freisetzung deutlich an und eine statistische Signifikanz gemäß des Wilcoxon-Tests konnte nachgewiesen werden. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt.

Abbildung 6:

IFN- γ -Sekretion nach LPS-Stimulation und 48h Inkubation
vor und nach Einleitung einer Spinalanästhesie
gemessen bei 27 Patienten

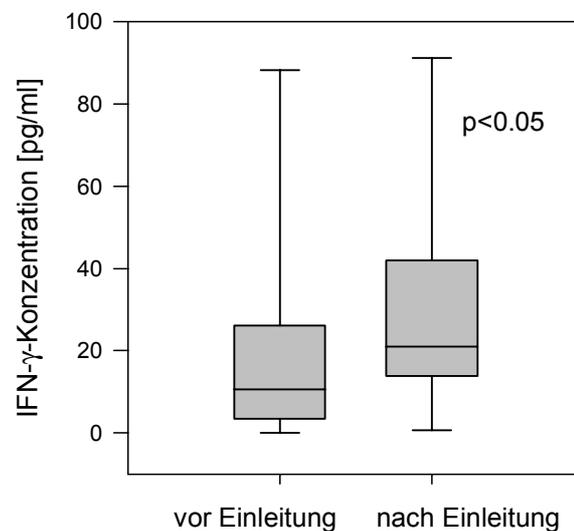
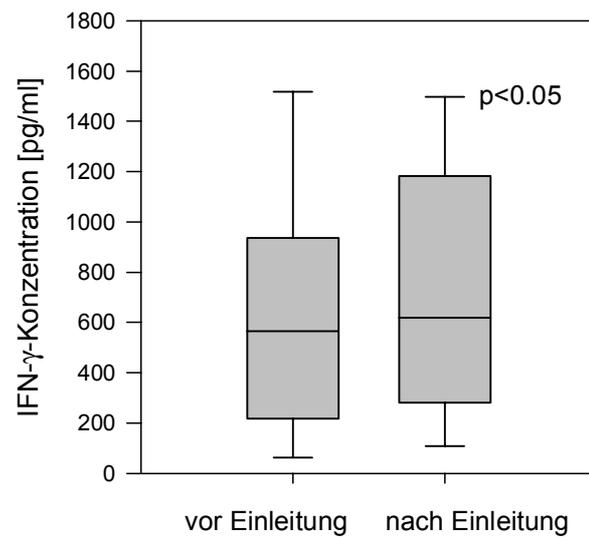


Abbildung 7:

IFN- γ -Sekretion nach PHA-Stimulation und 120h Inkubation
vor und nach Einleitung einer Spinalanästhesie
gemessen bei 27 Patienten



4. Diskussion

Die postoperative Immunsuppression ist ein bekanntes Phänomen und trägt zur Häufung von Infektionen und Wundheilungsstörungen in diesem Zeitraum bei. Da bei den meisten Operationen das Gewebetrauma und die damit verbundene Immunmodulation nur begrenzt minimierbar sind, erhalten die durch das Anästhesieverfahren ausgelösten Veränderungen des Immunsystems eine besondere Bedeutung. Eine Verringerung der anästhesiebedingten Immunsuppression wäre besonders für bereits präoperativ immungeschwächte Patienten wünschenswert.

Immunmodulatorische Effekte bei verschiedenen Verfahren der Allgemeinanästhesie wurden bereits zahlreich beschrieben (Salo, 1992; McBride et al., 1996). Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit den weniger gut untersuchten Einflüssen der Spinalanästhesie auf das menschliche Immunsystem. Die hier beschriebene Studie versucht durch die Bestimmung der verschiedenen Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut, der Zytokinproduktion nach Immunzellstimulation und der Serumkonzentrationen neuroendokriner Hormone einen Überblick über mögliche Veränderungen immunologischer Parameter durch die Einleitung einer Spinalanästhesie aufzuzeigen.

4.1 Immunmodulation durch neuroendokrine Hormone

Die Hormone Kortisol und Prolaktin haben in letzter Zeit zunehmend an Bedeutung als neuroendokrine Immunmodulatoren gewonnen.

Gut erforscht sind die hemmenden Einflüsse der Glukokortikoide auf die Freisetzung einer Reihe von Zytokinen. Bereits 1984 wurde von der Arbeitsgruppe um Munck diskutiert, dass die durch Stress gesteigerte Freisetzung von Glukokortikoiden nicht dem Schutz vor dem auslösenden Stressor dient, sondern vor dem eigenen, übermäßig aktivierten Immunsystem (Munck et al., 1984). Neuere Forschungsergebnisse zeigen, dass Glukokortikoide die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen hemmen und gleichzeitig die Freisetzung von

antiinflammatorischen Zytokinen stimulieren. So werden zum Beispiel die Freisetzung und Synthese von IL-1, IL-2, IL-6, IFN- γ und TNF- α durch Glukokortikoide vermindert (Wieggers und Reul, 1998). Die Produktion antiinflammatorischer Zytokine wie IL-4, IL-10 und des transforming growth factor β (TGF- β) wird hingegen gesteigert (Elenkov und Chrousos, 2002). Des Weiteren wurde wiederholt ein hemmender Effekt des Kortisols auf die NK-Zellaktivität nachgewiesen (Gatti et al., 1987; Nomoto et al., 1994). Eine systemische Stressantwort aktiviert demzufolge, durch die Modulation bestimmter Hormone, eine Reihe immunsupprimierender Mechanismen (Elenkov und Chrousos, 2002). Gleichzeitig können verschiedene proinflammatorische Zytokine, besonders TNF- α , IL-1 β und das Akut-Phase-Zytokin IL-6 die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) aktivieren und die Glukokortikoidfreisetzung steigern (Naito et al., 1992). Darüber hinaus konnten verschiedene Arbeitsgruppen die Freisetzung von Glukokortikoiden an hypophysectomierten Mäusen (Smith et al., 1982), Hühnern (Blalock, 1994) und Menschen (Fehm et al., 1988) beobachten. Mittlerweile ist bekannt, dass diese hypophysenunabhängige Kortisolfreisetzung durch die von Monozyten und Lymphozyten produzierte Form des adrenocorticotropes Hormons (ACTH) vermittelt wird (Smith und Blalock, 1981).

Veränderungen des Glukokortikoidspiegels sind meist Ausdruck einer stressbedingten Aktivierung der HPA-Achse, die über das im Hypothalamus gebildete corticotropin-releasing-hormone (CRH) und das von der Hypophyse freigesetzte ACTH eine Kortisolfreisetzung aus der Nebennierenrinde vermittelt. Erhöhte Kortisolspiegel im Serum wurden zum Beispiel während psychischer Belastungssituationen (Kiecolt-Glaser et al., 1998; Vedhara et al., 1999), aber auch nach Hämorrhagien, metabolischen Entgleisungen und Infektionen festgestellt (Munck et al., 1984). Das Cushing-Syndrom ist ein durch erhöhte Kortisolplasmaspiegel gekennzeichnetes Krankheitsbild. Die Kortisolwerte liegen dabei jedoch deutlich über den stressbedingten Werten. Ursächlich dafür können ACTH-produzierende Tumore, Tumore der Nebennierenrinde oder Störungen der Regulation des Hypothalamus-Hypophysen-Systems sein. Die Arbeitsgruppe um Kronfol konnte bei Patienten mit Cushing-Syndrom im Vergleich zu gesunden Kontrollpatienten eine signifikante

Abnahme des CD4/CD8-Quotienten sowie der NK-Zellaktivität feststellen (Kronfol et al., 1996).

Auch Prolaktin ist ein wichtiger neuroendokriner Immunmodulator und kann als immunologischer Gegenspieler zu Kortisol aufgefasst werden. Man geht davon aus, dass Prolaktin ebenfalls nicht nur von der Hypophyse, sondern auch von aktivierten Lymphozyten freigesetzt wird (Montgomery et al., 1992) und seine Sekretion sowohl durch den Hypothalamus als auch durch Zytokine gesteuert wird. IL-1, IL-2 und IL-6 stimulieren die Prolaktinausschüttung, IFN- γ und Endothelin-3 wirken inhibitorisch (Matera, 1996). Im Gegensatz zu den Glukokortikoiden, die die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine inhibieren, stimuliert Prolaktin deren Produktion.

Prolaktin entfaltet seine Wirkung durch die Bindung an seinen Rezeptor, einem Mitglied der Haematopoetin/Zytokin-Rezeptor-Superfamilie. Dieser wurde sowohl auf T- und B-Lymphozyten als auch auf NK-Zellen nachgewiesen (Matera et al., 1988).

Erhöhungen des Prolaktinspiegels können durch eine Reihe von Faktoren verursacht werden. Die häufigsten Ursachen einer Hyperprolaktinämie sind gemäß einer Studie an 184 Patienten, die mit Symptomen wie Amenorrhoe, Galaktorrhoe, Infertilität, Gynäkomastie bei Männern und sogar Sichtfelddefekten einen Arzt aufsuchten, Mikro- und Makroadenome der Hypophyse, Medikamentennebenwirkungen und Epilepsie (Suliman et al., 2000). Medikamentenbedingte Hyperprolaktinämien wurden für Neuroleptika, Dopaminantagonisten, Antidepressiva, Opiate, Alpha-Methyl-Dopa, und H₂-Rezeptorblocker beschrieben (Gerber, 1990). Physiologische Prolaktinerhöhungen können durch Schwangerschaft, Stillperiode und Stress (Benker et al., 1990; Cepicky et al., 1992) ausgelöst werden. Diese physiologisch erhöhten Prolaktinkonzentrationen können mit einem gehäuftem Auftreten von Autoimmunerkrankungen einhergehen. Prolaktin wird unter anderem eine noch nicht abschließend definierte Rolle in der Pathogenese der rheumatoiden Arthritis, des systemischen Lupus erythematodes und des Reiter Syndroms zugeschrieben (Walker und Jacobson, 2000; Mc Murray, 2001).

Neben den bereits genannten Faktoren werden die Serumkonzentrationen dieser Hormone gemäß neuerer Forschungsergebnisse auch durch Opiate/Opioide beeinflusst. So konnte die Arbeitsgruppe um Brockmann bei ophthalmologischen Patienten, die sich einer Netzhautoperation in Narkose unterziehen mussten, nach Gabe von Opioiden (Remifentanyl und Sufentanyl) einen signifikanten Anstieg der Prolaktinwerte im Serum nachweisen, während zeitgleich die Kortisolwerte im Serum signifikant abfielen (Brockmann et al., 2000). Ähnliche Ergebnisse konnten bei orthopädischen (Brand et al., 2001) und gynäkologischen (Jullien et al., 1985) Eingriffen unter Allgemeinanästhesie und Gabe des Opioids Fentanyl festgestellt werden. Heutzutage geht man davon aus, dass die gesteigerte Prolaktinfreisetzung und der verminderte Serumkortisolspiegel durch die Stimulation zentralnervöser μ -Opiatrezeptoren vermittelt werden. Exemplarisch konnte dieser Mechanismus für das Opioid Fentanyl nachgewiesen werden (Hoehe et al., 1988; Pan und Teo, 1989).

4.1.1 Veränderungen der IFN- γ -Sekretion durch Prolaktin

In einem Vorversuch dieser Arbeit wurde der Einfluss einer erhöhten Prolaktinkonzentration im Blut auf die Zytokinproduktion der Immunzellen im Vollbluttest untersucht. Da erhöhte Prolaktinkonzentrationen unter anderem nach Allgemeinanästhesie mit Opiatgabe beschrieben wurden, entspricht dieser Versuchsansatz der Situation nach Einleitung einer Vollnarkose. Die gesteigerte Prolaktinkonzentration von 100ng/ml spiegelt eine anästhesiebedingte Hyperprolaktinämie wider. Dadurch wird es möglich, die Bedeutung der neuroendokrinen Veränderungen für die anästhesiebedingte Immunmodulation genauer zu bestimmen.

In diesem Versuchsansatz wurde die prolaktinabhängige Sekretion des proinflammatorischen Zytokins IFN- γ im Vollbluttest nach Stimulation mit den Mitogenen PHA und LPS untersucht.

Das Zytokin IFN- γ ist ein wichtiger Regulator der Zytokinkaskade und des Immunsystems. Es wird von T- und NK-Zellen synthetisiert. Darüber hinaus wird seit

kurzem auch eine Freisetzung durch antigenpräsentierende Zellen diskutiert (Frucht et al., 2001). Neben weiteren Effekten steigert es die Phagozytose, aktiviert Makrophagen, T- und NK-Zellen, und vermehrt die Expression verschiedener Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle (Northoff et al., 1998). IFN- γ ist selbst nicht toxisch, kann aber die Toxizität anderer Moleküle signifikant steigern. Die Arbeitsgruppe um Held konnte nachweisen, dass IFN- γ über seine Wirkung auf Immunzellen eine normalerweise nicht toxische LPS-Dosis in einen letalen Stimulus umwandeln kann (Held et al., 1999). Durch die antikörpervermittelte Neutralisierung von IFN- γ konnte in einer weiteren Studie eine Toleranz gegenüber einer endotoxinvermittelten Entzündung hervorgerufen werden (Redmond et al., 1992). Das heißt, dass durch eine Senkung des IFN- γ -Serumspiegels der endotoxinvermittelte Gewebeschaden begrenzt werden konnte. Dies trifft wahrscheinlich auch für Gewebeschädigungen zu, die durch nicht infektiöse Ursachen ausgelöst werden (Northoff et al., 1998).

Die vorliegende Arbeit konnte nachweisen, dass humanes, rekombinantes Prolaktin die IFN- γ -Sekretion im Vollblut sowohl nach PHA- als auch nach LPS-Stimulation signifikant steigern kann.

Dabei wurde das Mitogen PHA benutzt, um die Vergleichbarkeit mit bereits veröffentlichten Studien zu gewährleisten. Um festzustellen, ob auch weitere Mitogene eine vermehrte IFN- γ -Freisetzung bewirken können, wurden die Proben mit dem Endotoxin LPS stimuliert. LPS ist ein weit verbreitetes, inflammatorisches Agens und übernimmt eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der Sepsis. Die endotoxinbedingte IFN- γ -Sekretion wird wahrscheinlich indirekt durch von Makrophagen freigesetztes IL-12 vermittelt (Trinchieri, 1994), welches dann zusammen mit Prolaktin auf die Lymphozyten einwirkt.

In peripheren Blutmononukleozyten (PBMCs) wurde die IFN- γ -stimulierende Wirkung des Prolaktins nach PHA- und Concanavalin A (Con A)-Stimulation bereits beschrieben (Cesario et al., 1994). Die Ergebnisse weiterführender Studien weisen auf eine prolaktininduzierte Steigerung der IFN- γ -Synthese durch T- und NK-Zellen

hin (Matera et al., 1999; Matera und Mori, 2000). Es wird angenommen, dass die prolaktininduzierte Steigerung der IFN- γ -Sekretion durch die Hochregulation eines prolaktinabhängigen Gens bedingt wird. Dieses kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der gemäß seiner Funktion Interferon regulatory factor 1 (IRF-1) genannt wird (Yu-Lee, 1997; Matera und Mori, 2000).

Der Vollbluttest zur Untersuchung der Zytokininduktion erlaubt es, anders als die Beurteilung von PBMCs oder aufgereinigten Blutzellen, alle Komponenten des peripheren Blutes in ihren physiologischen Zellverhältnissen zu untersuchen. So können Präaktivierungs- oder Desensibilisierungsreaktionen, wie sie bei der Trennung von PBMCs vorkommen, vermieden werden. Des Weiteren ist es in diesem Versuch nicht notwendig Fremdserum zuzufügen, so dass potentielle Interaktionen zwischen fremden Proteinen und den Immunzellen umgangen werden können (Kirchner et al., 1982).

Die nach verschiedenen Anästhesieverfahren beobachteten endokrinen Veränderungen sind gemäß den vorliegenden Ergebnissen wahrscheinlich an der anästhesiebedingten Immunmodulation mitbeteiligt.

4.1.2 Serumspiegel von Prolaktin und Kortisol unter Spinalanästhesie

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Hormone Kortisol und Prolaktin durch die Einleitung einer Spinalanästhesie nicht beeinflusst werden. Weder ein Abfall der Kortisolkonzentrationen noch ein Anstieg der Prolaktinwerte, wie sie nach Einleitung einer Allgemeinanästhesie mit Opiatgabe typisch sind, konnten beobachtet werden.

Ursache für die durch Anästhesieverfahren und operative Eingriffe ausgelöste neuroendokrine Stressantwort sind sowohl die aufgrund des Gewebeschadens ausgeschütteten Zytokine als auch die Stimulation afferenter, vegetativer Nerven und zentraler μ -Opiatrezeptoren (Farrar und Hall, 1998; Hall und Ali, 1998).

Da im Rahmen dieser Studie die vegetativen Nerven durch die Spinalanästhesie blockiert wurden und auf den Gebrauch jeglicher Opiate verzichtet wurde, könnte die Konstanz der Prolaktin- und Kortisolwerte auf eine Hemmung der neuroendokrinen Stressantwort im Rahmen der Regionalanästhesie zurückgeführt werden. Die Einleitung einer Spinalanästhesie unterdrückt folglich die proinflammatorischen Effekte gesteigerter Prolaktinwerte und könnte dadurch, im Unterschied zur Vollnarkose mit Opiatgabe, in der Lage sein, eine Verschiebung des immunologischen Gleichgewichtes zu verhindern. Eine Entgleisung des immunologischen Gleichgewichtes kann bis zu einem SIRS führen. Möglicherweise kann die Spinalanästhesie daher gerade bei ausgedehnten Operationen oder bereits präoperativ immungeschwächten Patienten eine wirkungsvolle Prophylaxe vor postoperativen Komplikationen darstellen.

4.2 Hämoglobinkonzentration und Zusammensetzung der Leukozytenpopulationen unter Spinalanästhesie

Nach Einleitung der Spinalanästhesie konnte ein Abfall der Hämoglobin-, Granulozyten-, und Leukozytenkonzentration im Blut festgestellt werden. Da den Patienten jedoch zwischen den beiden Blutentnahmen 500ml Ringerlösung infundiert wurde, um einerseits einem durch die Einleitung der Spinalanästhesie bedingten sekundären Blutdruckabfall vorzubeugen, und andererseits den durch die Nahrungskarenz bedingten nächtlichen Flüssigkeitsverlust auszugleichen, ist mit einem deutlichen intravasalen Verdünnungseffekt zu rechnen (Hahn et al., 1997). Die im Differentialblutbild bestimmten Konzentrationen müssen daher entsprechend interpretiert werden.

In der Durchflusszytometrie konnten keine Veränderungen in der prozentualen Zusammensetzung der einzelnen Lymphozytenpopulationen nach Einleitung der Spinalanästhesie festgestellt werden. Die hierbei bestimmten prozentualen Verhältnisse sind, anders als die absoluten Messwerte im Differentialblutbild, nicht durch Verdünnungseffekte beeinflussbar. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu

Untersuchungen der Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut unter Allgemeinanästhesie mit Opiatgabe, die typischerweise einen signifikanten Abfall der NK- sowie der T-Helferzellen, bei weitgehend unveränderter oder leicht erhöhter Zahl der zytotoxischen T-Zellen, nachwiesen (Brand et al., 1997; Bauer et al., 1998; Brand et al., 2001). Auch mehrere Vergleichsstudien belegen das Ausbleiben der nach Allgemeinanästhesie mit Opiaten regelmäßig beschriebenen zellulären Veränderungen nach Einleitung einer lumbalen Regionalanästhesie (Rem et al., 1980; Tonnesen und Wahlgreen, 1988; Hashimoto et al., 1995).

Einzig eine Vergleichsstudie der Arbeitsgruppe um Salo konnte sowohl in der Lymphozytenkonzentration als auch in der prozentualen Verteilung der Lymphozytensubpopulationen keine Unterschiede zwischen einer Allgemeinanästhesie und einer Spinalanästhesie feststellen (Salo et al., 1990). Anders als in der vorliegenden Arbeit und den meisten Vergleichsstudien wurde von Salo jedoch der Verlauf der Immunzellverschiebungen bis zum siebten postoperativen Tag nach Hüftoperationen verglichen. Die zweite Probenentnahme erfolgte bei Salo am ersten postoperativen Tag, so dass keine differenzierte Aussage über den alleinigen Einfluss des Anästhesieverfahrens möglich war. Die von Salo veröffentlichten Ergebnisse müssen vielmehr als Summe der immunmodulatorischen Effekte von operativem Trauma und Anästhesie angesehen werden. Darüber hinaus wurde den Patienten in beiden Gruppen postoperativ ein Opiat zur Schmerzmedikation verabreicht. Aufgrund des starken immunmodulatorischen Potentials der Opiate ist es wahrscheinlich, dass der Opiateinfluss die Effekte der Regionalanästhesie maskiert.

Bereits 1983 wurde in einer Reihe von Tierexperimenten das immunmodulatorische Potential der Opiate beschrieben. Tubaro und seine Kollegen konnten in verschiedenen Spezies eine Abnahme der Phagozyten und eine Verminderung der Phagozytenaktivität feststellen, gemessen an ihrer Fähigkeit *Candida albicans* abzutöten. Darüber hinaus nahm das Gewicht der lymphatischen Organe der Versuchstiere signifikant ab (Tubaro et al., 1983). Fallbeispiele und Studien an Opiatabhängigen zeigen außerdem, dass der kontinuierliche Opiatgebrauch mit einem

erhöhten Risiko für bakterielle, virale und protozoenbedingte Infektionen einhergeht (Hussey und Katz, 1950; Cherubin und Brown, 1968).

Nicht nur die Langzeitbelastung mit Opiaten wirkt modulierend auf das Immunsystem ein. Neuere Forschungsergebnisse konnten eine signifikant verminderte NK-Zellaktivität nach 36-stündiger Morphinbelastung feststellen, die bei gesunden Freiwilligen bis zu 24 Stunden nach Beendigung der Opiatexposition anhielt (Yeager et al., 1995). Sogar die einmalige Gabe von Morphin in einer Konzentration von 30mg/kg führte in Ratten zu einer signifikanten Abnahme der NK-Zelltoxizität (Shavit et al., 1987). Eine weitere Studie konnte eine dosisabhängige Zunahme der Peritonealgranulozyten nach akuter Morphingabe nachweisen (Fecho und Lysle, 2002).

Auch die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen wird durch Opiate beeinflusst. Es konnte gezeigt werden, dass die LPS induzierte Sekretion von IL-12 und TNF- α durch Bauchfellmakrophagen unter Opiateinfluss in Mäusen ebenso zunimmt wie die antigeninduzierte Freisetzung von IL-2, IL-4, IL-10 und IFN- γ durch Milzzellen (Peng et al., 2000; Holan et al., 2003). Im Gegensatz zu diesen Arbeiten konnten einige Arbeitsgruppen an PBMCs einen signifikanten Abfall der Sekretion verschiedener proinflammatorischer Zytokine beobachten. Nach 24-stündiger Inkubation mit Morphin sank sowohl die mitogeninduzierte Sekretion von TNF- α als auch von IFN- γ aus PBMCs (Peterson et al., 1987; Chao et al., 1993; Peterson et al., 1993). Neben einem direkten Effekt auf Immunzellen haben Opiate auch einen indirekten, über das ZNS-vermittelten Einfluss auf das Immunsystem (Peterson et al., 1998). Dieser Effekt entgeht *in vitro*-Untersuchungen und ist wahrscheinlich die Ursache für die teilweise widersprüchlichen Untersuchungsergebnisse. Eine Studie an Patienten mit akutem Thoraxtrauma, die den Einfluss von Epidural- und Opiatanalgesie auf die Sekretion verschiedener Zytokine verglich, konnte in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen eine signifikante Zunahme des proinflammatorischen IL-8 nach Opiatanalgesie im Serum feststellen (Moon et al., 1999).

4.3 Zytokin- und sIL-2R-Sekretion unter Spinalanästhesie

Durch die Untersuchung der Konzentrationen verschiedener Zytokine im Vollbluttest konnte diese Studie aufzeigen, dass durch die Einleitung einer Spinalanästhesie die LPS-induzierte Freisetzung des Akut-Phase-Zytokines IL-6 ebenso wenig beeinflusst wird wie die PHA-bedingte Sekretion des löslichen IL-2-Rezeptors. Dagegen wird die LPS- und PHA-induzierte Sekretion von IFN- γ durch die Einleitung einer Spinalanästhesie im Vollbluttest signifikant gesteigert.

Über die Messung der verschiedenen Zytokine ist es möglich, indirekt eine Aussage über die Aktivität ihrer Ursprungszellen zu treffen. So deuten die durch die Einleitung der Spinalanästhesie im Vollblut unveränderten Konzentrationen von IL-6 auf eine unbeeinflusste Funktion der zirkulierenden Monozyten hin, von denen es hauptsächlich freigesetzt wird. Darüber hinaus sind auch andere antigenpräsentierende Zellen, wie dendritische Zellen und B-Zellen an der IL-6-Sekretion beteiligt.

IL-6 ist ein Zytokin mit weitreichendem immunologischem Wirkspektrum und hat als Entzündungsparameter eine erhebliche Bedeutung bei verschiedenen Erkrankungen. IL-6 reguliert die Hämatopoese und initiiert und kontrolliert die Synthese von Akut-Phase-Proteinen, wie dem C-reaktiven Protein (CRP), Fibrinogen und Haptoglobin. Darüber hinaus beeinflusst es die Differenzierung von Makrophagen und übernimmt eine wichtige Rolle bei der B-Zellreifung (Horn et al., 2000; Diehl und Rincon, 2002; Naka et al., 2002). Des Weiteren ist es an der TH1/TH2-Differenzierung beteiligt. IL-6 fördert die B-zelldominierte TH2-Antwort und unterdrückt gleichzeitig die Ausbildung von TH1-Zellen (Diehl und Rincon, 2002).

In Studien über den Einfluss des Operationstraumas auf das Immunsystem hat sich IL-6 als wertvoller Marker für den postoperativen Verlauf erwiesen, wobei hohe Werte mit einer erhöhten Komplikationsrate einhergehen (Tonnesen et al., 1996; Sheeran und Hall, 1997). Auch nach einem Herzinfarkt korreliert die Größe des Muskelschadens direkt mit der Höhe des IL-6-Spiegels im Blutserum. Der IL-6-Spiegel

soll dabei sensitiver sein als die Defektabschätzung durch wiederholte Messungen der Kreatinkinase (CK) (Sheerhan und Hall, 1997).

Gleichsam dient die Serumkonzentration des löslichen IL-2-Rezeptors als Marker für die T-Zellfunktion. Der sIL-2-Rezeptor wird bei der Synthese des Zytokines IL-2 in die Umgebung freigesetzt und ist daher besonders für die Aktivität der TH1-Zellen kennzeichnend (Rubin und Nelson, 1990). Der Interleukin-2-Rezeptor besteht aus drei Ketten, die als α -, β -, und γ -Ketten bezeichnet werden. Ruhende T-Zellen exprimieren eine Unterform dieses Rezeptors, der nur aus jeweils einer β - und γ -Kette besteht und eine geringe Affinität zu IL-2 aufweist. Erst nach Aktivierung der T-Zelle bindet auch die α -Kette an den IL-2-Rezeptor und induziert dadurch eine deutlich höhere Affinität zu IL-2. Der sIL-2R entspricht dem niedrig affinen IL-2-Rezeptor (Miossec, 1991).

Erhöhte Serumspiegel des sIL-2R wurden wiederholt bei entzündlichen, autoimmunologischen und hämatologischen Erkrankungen beschrieben. Auch bei der Transplantatabstoßung sind die sIL-2R Werte signifikant erhöht (Rubin und Nelson, 1990; Miossec, 1991). Sinkende Serumwerte sind dabei mit Therapieerfolgen und abnehmender Krankheitsaktivität verbunden. Die Arbeitsgruppe um Kato konnte nach Oberbauchoperationen eine signifikante Zunahme der sIL-2R-Plasmakonzentrationen nachweisen. Diese Veränderungen waren sogar am dritten postoperativen Tag noch nachweisbar und korrelierten mit dem intraoperativen Blutverlust (Kato et al., 2000).

In Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen konnten Hole und Unsgaard an PBMCs keine Veränderung der Zytokinproduktion vor und nach Einleitung einer lumbalen Epiduralanästhesie feststellen (Hole und Unsgaard, 1983). Auch eine Studie der Arbeitsgruppe um Goto konnte nach Einleitung einer Spinalanästhesie keine Veränderungen der IL-6-Konzentration im Plasma feststellen. Erst mehrere Stunden postoperativ ließ sich ein signifikanter Anstieg der IL-6-Konzentration im Plasma verglichen mit den präoperativen Messwerten nachweisen (Goto et al., 2000).

Über Einflüsse der Spinalanästhesie auf den löslichen IL-2-Rezeptor sind bislang keine vergleichbaren Studien veröffentlicht worden.

Frühere Studien, die sich mit Änderungen der Zytokinsekretion unter Allgemeinnarkose beschäftigten, konnten im Gegensatz zu den hier vorgestellten Ergebnissen wiederholt signifikante Anstiege der Konzentrationen von sIL-2R, IL-6, TNF- α und IFN- γ nachweisen (Brand et al., 1997; Brand et al., 2001; Schneemilch et al., 2001).

Es gibt nur wenige Vergleichsstudien über Veränderungen der Zytokinsekretion unter Spinalanästhesie und Vollnarkose, mit teilweise widersprüchlichen Ergebnissen. Sie beziehen sich darüber hinaus meist auf die postoperative Phase.

Die Arbeitsgruppe um Hogevoid konnte keinen Unterschied in der spontanen TNF- α - und IL-6-Freisetzung im Plasma nach Hüftoperationen in Vollnarkose oder Spinalanästhesie feststellen (Hogevoid et al., 2000).

Wheelan und Morris fanden im Gegensatz dazu an PBMCs von Patienten nach urologischen Operationen eine signifikant geringere mitogeninduzierte Proliferationsrate nach Allgemeinanästhesie verglichen mit Patienten nach Spinalanästhesie und Operation (Wheelan und Morris, 1982).

Auch IFN- γ dient als wichtiger T-Zellaktivitätsmarker. Im Gegensatz zur konstanten Freisetzung von IL-6 und sIL-2R war die IFN- γ -Sekretion in dieser Studie nach Einleitung einer Spinalanästhesie und Stimulation mit LPS oder PHA signifikant erhöht.

In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen konnte die Arbeitsgruppe um Le Cras eine Veränderung des TH1/TH2-Quotienten zugunsten der IFN- γ -produzierenden TH1-Zellen nach Einleitung einer Spinalanästhesie nachweisen (Le Cras et al., 1998). Bei den unter Vollnarkose operierten Patienten konnte Le Cras einen vergleichbaren TH1-Anstieg nicht beschreiben. Im Unterschied zur vorliegenden Studie untersuchte die Arbeit von Le Cras jedoch die intrazelluläre IFN- γ -Synthese, ohne die IFN- γ -Sekretion im Kulturüberstand zu messen. Darüber hinaus lag der Messzeitpunkt in dieser Arbeit nach der urologischen Operation, so dass nur eine begrenzte Aussage über den Einfluss der Anästhesie auf die Messergebnisse zu treffen ist.

Die Ergebnisse dieses Teilversuches zeigen, dass die Einleitung einer Spinalanästhesie im Vergleich zu den bereits bekannten Veränderungen nach Einleitung einer Vollnarkose mit Opiatgabe zu einer deutlich verminderten proinflammatorischen Zytokinverschiebung führt. Möglicherweise ist das Fehlen erhöhter Prolaktinkonzentrationen als proinflammatorischer Stimulus ursächlich an den weitgehend unveränderten Zytokinkonzentrationen im Vollbluttest beteiligt.

4.3.1 Beeinflussung der Zytokinsekretion durch direkte pharmakologische Effekte

Sowohl die Sekretion von IFN- γ als auch die Freisetzung von sIL-2R dienen als Marker für die Aktivität der T-Zellen, so dass die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen gegenläufigen Messergebnisse interpretiert werden müssen. Pharmakologische Effekte könnten direkt die IFN- γ -Synthese auslösen und so die erhöhte IFN- γ -Sekretion bei gleich bleibenden sIL-2R-Konzentrationen erklären. In einer Reihe von *in vitro* Untersuchungen konnte der Einfluss verschiedener Lokalanästhetika auf Parameter des Immunsystems nachgewiesen werden. Besonders die Phagozytosefähigkeit und die Zytotoxizität neutrophiler Granulozyten scheinen *in vitro* durch Lokalanästhetika gehemmt zu werden. Entsprechende Ergebnisse konnte die Arbeitsgruppe um Azuma für die Lokalanästhetika Lidocain, Mepivacain, Procain, Prilocain und Tetracain in Konzentrationen von 0,1mg/ml präsentieren (Azuma et al., 2000). Auch das Lokalanästhetikum Bupivacain führte durch eine verminderte Expression von Oberflächenrezeptoren auf polymorphkernigen Leukozyten zu einer verminderten Phagozytoseaktivität (Welters et al., 2001). Darüber hinaus war das Lokalanästhetikum Lidocain in einer Konzentration von 2 μ g/ml in der Lage, die NK-Zellzytotoxizität signifikant zu senken (Mitsuhata et al., 1991). NK-Zellen sind neben den T-Zellen die wichtigsten IFN- γ -Produzenten, so dass ein Einfluss verschiedener Lokalanästhetika auf die IFN- γ -Synthese denkbar wäre.

Eine Studie der Arbeitsgruppe um Giasi konnte jedoch nach einer Spinalanästhesie nur minimale Lokalanästhetikakonzentrationen im Blutplasma nachweisen (Giasi et al., 1979). Die im Plasma gemessenen Werte lagen dabei um vier Zehnerpotenzen unter den zur Anästhesie in den Subarachnoidalraum infiltrierten Konzentrationen. In einer vergleichbaren Studie konnte die Arbeitsgruppe um Yokoyama bei Eingriffen an den unteren Extremitäten, dem Unterbauch und der Lunge, die in Epiduralanästhesie durchgeführt wurden, ähnliche Ergebnisse nachweisen (Yokoyama et al., 2001). Diese geringen Konzentrationen liegen deutlich unter den in *in vitro* Untersuchungen verwendeten Lokalanästhetikakonzentrationen. Ein direkter pharmakologischer Effekt auf die Immunzellen im peripheren Blut durch die bei einer Spinalanästhesie gegebenen Medikamente erscheint deshalb wenig wahrscheinlich.

Auch ein steigernder Effekt auf die IFN- γ -Synthese durch Prolaktin kann ausgeschlossen werden, da die Einleitung einer Spinalanästhesie nicht zu einer Veränderung der Prolaktinkonzentration im Serum führt.

4.3.2 Beeinflussung der Zytokinsekretion durch die Wahl des Mitogens

Die Diskrepanz zwischen der konstanten sIL-2R-Freisetzung und der signifikant gesteigerten IFN- γ -Sekretion könnte auch durch Unterschiede im Stimulationsprozess der Zytokinfreisetzung ausgelöst sein, wie sie von der Arbeitsgruppe um Luxembourg beschrieben wurden. Nach Stimulation mit dem Superantigen Staphylokokken-Enterotoxin-A (SEA) konnten sie im Vergleich zur IL-2-Freisetzung eine bis zu 1000-fach stärkere IFN- γ -Sekretion aus T-Zellen transgener Mäuse feststellen (Luxembourg et al., 2002).

In der vorliegenden Studie wurde die Sekretion des sIL-2R durch das Mitogen PHA induziert, das ein pflanzliches Lektin ist und hauptsächlich eine polyklonale Stimulation von T-Zellen bewirkt. Man nimmt an, dass die Wirkung durch die Bindung an Oligosaccharidketten auf T-Zellen vermittelt wird (Kanellopoulos et al., 1985). Nach Einleitung der Spinalanästhesie und Stimulation mit PHA blieb die sIL-2R-Sekretion konstant.

Die IFN- γ -Sekretion wurde darüber hinaus auch durch LPS stimuliert. Dieser Stimulationsweg ist von Monozyten abhängig und induziert vorwiegend die Produkte der TH1-Lymphozyten wie IFN- γ und IL-2 (Mattern et al., 1994; Trinchieri, 1994). Sowohl nach Stimulation mit PHA als auch mit LPS stieg die IFN- γ -Sekretion signifikant an.

Da es sich bei der Induktion des löslichen IL-2-Rezeptors durch PHA um ein Standardverfahren der Zytokinbestimmung handelt, erscheint eine zu geringe Stimulation als Grund für die konstante sIL-2R-Konzentration wenig wahrscheinlich. Darüber hinaus spricht auch die gesteigerte IFN- γ -Sekretion, die sowohl nach LPS- als auch nach PHA-Stimulation nachweisbar war, gegen eine mangelhafte T-Zellinduktion durch PHA. Superantigene, für die eine selektive Steigerung der IFN- γ -Sekretion beschrieben wurde, wurden in dieser Studie nicht verwendet. Eine durch den Stimulationsweg ausgelöste Differenz zwischen der INF- γ -Freisetzung und der sIL-2R-Sekretion erscheint wenig wahrscheinlich.

Denkbar erscheint jedoch eine gegenläufige Beeinflussung der IFN- γ - und IL-2-Sekretion durch die partielle Sympathikolyse nach Einleitung einer Spinalanästhesie. Eine Untersuchung der Arbeitsgruppe um Madden konnte an Lymphknotenlymphozyten von Mäusen nach chemischer Sympathikusblockade eine signifikant erhöhte IFN- γ -Freisetzung bei gleichzeitig unveränderten IL-2-Konzentrationen nachweisen (Madden et al., 1994).

4.3.3 Beeinflussung der Zytokinsekretion durch den Sympathikus und die Sympathikolyse

Bereits seit den Arbeiten von Hans Selye in den 30er Jahren des vergangenen Jahrhunderts wird ein Einfluss des vegetativen Nervensystems auf das Immunsystem diskutiert. Dabei werden dem Sympathikus und dem Neurotransmitter Noradrenalin eine immunmodulatorische Rolle zugeschrieben.

Mittlerweile konnte anhand von *in vitro* Versuchen gezeigt werden, dass die NK-Zellaktivität durch mikromolare Konzentrationen von Noradrenalin gehemmt (Hellstrand et al., 1985) und die mitogeninduzierte TNF- α -Produktion von Makrophagen durch Katecholamine vermindert (Hu et al., 1991) werden. Diese Effekte werden offensichtlich durch β 2-Adrenozeptoren auf der Zelloberfläche vermittelt und lassen sich durch den β 2-Antagonisten Propranolol aufheben (Friedman und Irwin, 1997). In Bauchfellmakrophagen von Mäusen konnte die TNF- α -Freisetzung durch β -Agonisten signifikant herabgesetzt und durch β -Adrenozeptor-Antagonisten deutlich gesteigert werden (Spengler et al., 1994). Eine experimentelle, stressbedingte Sympathikusaktivierung konnte in *in vivo* Tierversuchen eine Verminderung der Lymphozytenproliferation und der mitogeninduzierten IFN- γ -Produktion hervorrufen (Luecken und Lysle, 1992; Dobbs et al., 1993). Aufgrund des immunmodulatorischen Potentials des Sympathikus scheint ein Einfluss auf die IFN- γ -Synthese möglich zu sein. Neuere Forschungsergebnisse der Arbeitsgruppe um Malarkey unterstreichen diese Hypothese, indem sie nachwies, dass Noradrenalin die IFN- γ -Synthese humaner, peripherer Immunzellen signifikant hemmen kann (Malarkey et al., 2002). Die verminderte IFN- γ -Freisetzung wird wahrscheinlich über eine Hemmung des lymphocyte growth hormone (L-GH) und der dadurch bedingten Hemmung des TH1-Zytokinprofils verursacht. Insgesamt wird einer Sympathikusaktivierung eine Hemmung proinflammatorischer Immunreaktionen zugeschrieben.

Durch die Epidural- oder Spinalanästhesie werden neben den motorischen und sensorischen Nervenfasern auch die Sympathikusfasern blockiert, so dass die NoradrenalinKonzentration im Blutplasma signifikant abnimmt (Baron et al., 1986). Sogar ein in Epiduralanästhesie durchgeführter Kipptischversuch führte, trotz eines Blutdruckabfalls bei den Probanden, nicht zu einer Zunahme des Noradrenalinpiegels im Blutplasma (Ecoffey et al., 1985). Neuere Forschungsergebnisse konnten bei intraneuronaler Messung eine vollständige Blockade der Sympathikusaktivität nach einer Spinalanästhesie nachweisen (Kirno et al., 1993). Da es sich bei der Spinalanästhesie jedoch um ein regionalanästhetisches

Verfahren handelt, erfolgt nur eine partielle, auf das betäubte Gebiet beschränkte Sympathikolyse.

Die Wirksamkeit dieser Sympathikolyse auf das Immunsystem wurde vor kurzem durch die Arbeitsgruppe um Yokoyama nachgewiesen, die eine signifikante Abnahme der NK-Zellaktivität nach Einleitung einer Epiduralanästhesie feststellte (Yokoyama et al., 2001). In der gleichen Studie beschrieb Yokoyama auch eine signifikante Abnahme der prozentualen NK-Zellzahl im peripheren Blut sowie eine signifikante Zunahme des CD4/CD8-Quotienten. Die Epiduralanästhesie benötigt jedoch deutlich höhere Dosen des verwendeten Lokalanästhetikums und führt dementsprechend zu höheren Plasmakonzentrationen des Lokalanästhetikums. Der Unterschied zu den hier präsentierten Daten, die keine Zellverschiebung nachweisen konnten, ist daher möglicherweise durch die im Vergleich zur Spinalanästhesie weitaus höheren Anästhetikakonzentrationen im Rahmen der Epiduralanästhesie bedingt.

In weiterführenden Versuchen konnte wiederholt eine gesteigerte Zytokinfreisetzung unter Sympathikolyse gezeigt werden. So stieg zum Beispiel die mitogeninduzierte Proliferation von Rattenlymphozyten nach sympathischer Denervierung signifikant an (Castrillion et al., 1998). Auch die mitogeninduzierte IFN- γ -Synthese sowie die spontane IFN- γ -Freisetzung nahmen nach sympathischer Denervierung in Rattenlymphozyten, die aus zervikalen Lymphknoten gewonnen wurden, signifikant zu (Castrillion et al., 2000). Lymphknoten sind sekundäre lymphatische Organe und enthalten postganglionäre, unmyelinisierte, noradrenerge Fasern, die mit den Gefäßen eintreten und sich anschließend hauptsächlich in die kapsulären und subkapsulären Bezirke sowie in die medullären Regionen verteilen. Sowohl die Kapsel und der Sinus als auch die Medulla und der an T-Zellen reiche Kortex und Parakortex werden von sympathischen Nervenfasern versorgt. Nur die Lymphfollikel bleiben von der neuralen Versorgung ausgespart (Felten et al., 1987; Zwingmann-Cornelius, 2001).

Der in der vorliegenden Studie beschriebene signifikante Anstieg der IFN- γ -Synthese im Vollblut nach Stimulation mit PHA und LPS ist also möglicherweise durch die Sympathikusblockade bedingt.

4.4 Immunmodulation durch fortgeschrittenes Alter

Neben dem Einfluss der Spinalanästhesie muss in der vorliegenden Studie auch mit einer möglichen Beeinflussung der gemessenen Parameter aufgrund des fortgeschrittenen Alters der untersuchten Patienten gerechnet werden. Sowohl die Vergleichswerte vor Einleitung als auch die Resultate nach Einleitung der Spinalanästhesie könnten möglicherweise durch das relativ hohe Alter der untersuchten Patienten beeinflusst worden sein. Das Alter der Patienten lag in dieser Studie im Median bei 70 Jahren. Generell geht man von einer Abnahme der Immunfunktion bei Senioren aus, wobei die T-zellvermittelte Immunantwort am deutlichsten betroffen ist. Neuere Studien deuten auch auf eine Abnahme der humoralen Immunantwort hin, wobei dies wahrscheinlich eine Folgeerscheinung der primär gestörten zellulären Immunantwort darstellt (Pawelec et al., 2002).

Obwohl wiederholt eine Altersabhängigkeit der Zytokinsekretion diskutiert wurde (Wei et al., 1992; Fagiolo et al., 1993; Sindermann et al., 1993; Song et al., 1993; Molteni et al., 1994), konnte eine Metaanalyse, die die Ergebnisse von 60 Studien über den Einfluss zunehmenden Alters auf die Zytokinsekretion auswertete, keinen konstanten Effekt auf die Freisetzung verschiedener Zytokine feststellen (Gardner und Murasko, 2002). Auch eine Studie, die versuchte, den Einfluss des Alters auf die perioperative Immunmodulation zu untersuchen, konnte keine Unterschiede in der Zytokinsekretion bei älteren Patienten feststellen (Roth-Isigkeit et al., 1998).

Die Serumwerte des in dieser Studie gemessenen Hormons Prolaktin werden anscheinend ebenfalls durch das Patientenalter beeinflusst, wobei widersprüchliche Ergebnisse vorliegen. Eine Studie, die den Einfluss des Patientenalters auf die Prolaktinkonzentration nach einem gleich bleibenden chirurgischen Trauma beurteilte,

konnte jedoch sowohl prä- als auch postoperativ keine signifikanten altersabhängigen Unterschiede feststellen (Arentz et al., 1984).

Alle in der vorliegenden Studie gemessenen Ergebnisse wurden in Verhältnis zu den Werten vor Einleitung der Spinalanästhesie gesetzt; dabei wurden stets Ergebnisveränderungen, nicht die numerischen Werte der Messergebnisse beurteilt. Eine Verzerrung der Endergebnisse erscheint daher wenig wahrscheinlich. Darüber hinaus nahmen trotz des hohen Altersmedians des untersuchten Patientenkollektivs auch jugendliche Patienten an der vorliegenden Studie teil, ohne dass sich die Messergebnisse einzelner Patienten signifikant von den Medianwerten unterschieden. Die gefundenen Resultate dürften daher selektiv den Einfluss der Spinalanästhesie auf das Immunsystem widerspiegeln.

Es kann trotz der bekannten Umstellung innerhalb des Immun- und neuroendokrinen Systems aufgrund steigenden Alters davon ausgegangen werden, dass die hier vorgestellten Resultate nicht durch das hohe Alter der Patienten verfälscht wurden.

4.5 Klinische Relevanz

Die in dieser Studie gezeigte fehlende proinflammatorische Immunmodulation durch eine Spinalanästhesie könnte am positiven postoperativen Verlauf regionalanästhetisch operierter Patienten beteiligt sein. Eine Metaanalyse, die 15 randomisierte Studien zu Hüftoperationen verglich, konnte eine verminderte Ein-Monats-Mortalität sowie ein geringeres Risiko für Beinvenenthrombosen unter Regionalanästhesie feststellen (Urwin et al., 2000). Die Risikosenkung für Beinvenenthrombosen nach Operationen in Spinalanästhesie ist möglicherweise durch die in dieser Studie nachgewiesene Minderung der anästhesiebedingten Immunmodulation hervorgerufen, da neuere Erkenntnisse wiederholt einen koagulationsfördernden Effekt proinflammatorischer Zytokine aufzeigen konnten (Esmon et al., 2000; Joseph et al., 2002; Shebusi und Kilgore, 2002). Durch die Konstanz des immunologischen Gleichgewichts scheint die Spinalanästhesie nicht nur schwerwiegende Zytokinengleichungen, die bis zum SIRS führen können, zu verhindern, sondern auch das Risiko thromboembolischer Komplikationen zu senken.

Gerade bereits präoperativ immungeschwächte Patienten könnten vom Einsatz der Spinalanästhesie und dem Erhalt der immunologischen Homöostase profitieren.

4.6 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen Auswirkungen der Spinalanästhesie auf das Immunsystem. Durch die Beurteilung verschiedener Parameter des Immunsystems ermöglicht es diese Studie, einen umfassenden Überblick über die Funktionen des Immunsystems zu gewinnen. Dabei konnte für IFN- γ ein Anstieg der Sekretion im Vollbluttest nachgewiesen werden, während IL-6, der lösliche IL-2-Rezeptor und zelluläre Parameter unbeeinflusst blieben.

Diese Ergebnisse zeigen deutliche Unterschiede im Vergleich zur bisher verfügbaren Literatur über den Einfluss der Vollnarkose auf das Immunsystem. Wiederholt wurde nach Einleitung einer Vollnarkose sowohl ein signifikanter Abfall der NK- sowie der T-Helferzellen, bei weitgehend unveränderter oder leicht erhöhter Zahl der zytotoxischen T-Zellen, als auch ein signifikanter Anstieg der mitogeninduzierten Konzentrationen von sIL-2R, IL-6, TNF- α und IFN- γ beschrieben. Die Hormone Prolaktin und Kortisol, denen bereits mehrfach ein eigenes immunmodulatorisches Potential zugeschrieben wurde, scheinen ursächlich für diese Veränderungen zu sein. Nach Einleitung einer Spinalanästhesie bleiben Serumkonzentrationen von Prolaktin und Kortisol unverändert. In den durchgeführten Vorversuchen konnte die IFN- γ -steigernde Wirkung des Prolaktins nachgewiesen werden.

Aufgrund der partiellen Sympathikolyse scheint die Spinalanästhesie sowohl, wie in der Literatur beschrieben, die Katecholaminsekretion zu unterdrücken als auch die Zytokinantwort weitgehend unbeeinflusst zu lassen. Die immunologische Homöostase bleibt dadurch gewährleistet. Auch an der gesteigerten IFN- γ -Sekretion, die in dieser Studie beobachtet wurde, scheint die Sympathikolyse beteiligt zu sein. Dies ist ein weiteres Beispiel für eine neuroendokrinvermittelte Immunmodulation.

Im Vergleich zur Allgemeinanästhesie mit Opiaten/Opioiden fällt die durch eine Spinalanästhesie verursachte Immunmodulation nur gering aus. Der damit

einhergehende Erhalt der immunologischen Homöostase könnte gerade bei bereits präoperativ immungeschwächten Patienten zu einer Verminderung postoperativer Komplikationen führen.

Weitere Studien, in denen die Auswirkung einer Sympathikolyse auf immunologische Parameter und besonders die Zytokinsekretion untersucht werden, könnten dazu beitragen, die grundlegenden Mechanismen der hier beobachteten Veränderungen genauer zu verstehen.

5. Zusammenfassung

Die perioperative Immunsuppression ist ein bekanntes Phänomen und wird nach heutigem Wissen sowohl durch das Operationstrauma als auch durch die Anästhesie ausgelöst. Da bei den meisten Operationen das Gewebetrauma und die damit verbundene Immunmodulation nur begrenzt minimierbar sind, erhalten die durch das Anästhesieverfahren ausgelösten Veränderungen des Immunsystems eine besondere Bedeutung. Der immunmodulierende Effekt der Vollnarkose ist bereits umfangreich beschrieben worden. Nur wenig ist derzeit über Einflüsse der Spinalanästhesie auf das Immunsystem bekannt.

Die vorliegende Arbeit befasst sich deshalb mit den Auswirkungen der Spinalanästhesie auf das Immunsystem. Dazu wurden direkt nach Einleitung der Anästhesie, vor Beginn des chirurgischen Eingriffs, sowohl zelluläre Parameter als auch die Zytokinsekretion im Vollbluttest und neuroendokrine Stressparameter mit dem Zustand vor Einleitung der Spinalanästhesie verglichen. Diese Parameter wirken als Effektoren, Botenstoffe und Regulatoren des Immunsystems und geben daher einen Überblick über das immunmodulatorische Potential der Spinalanästhesie.

In einem Vorversuch wurde darüber hinaus der Einfluss des Hormons Prolaktin auf die IFN- γ -Sekretion beurteilt. Dem Hormon Prolaktin wird eine wichtige Rolle bei der anästhesiebedingten Immunmodulation zugeschrieben. Es konnte nachgewiesen werden, dass humanes, rekombinantes Prolaktin die IFN- γ -Freisetzung nach LPS- und PHA-Stimulation signifikant steigert.

Insgesamt wurden 42 urologische Patienten untersucht. Zunächst wurden anhand der Durchflusszytometrie zelluläre Parameter vor und nach Einleitung der Spinalanästhesie bestimmt. Dabei zeigten sich keine Veränderungen in der prozentualen Zusammensetzung von B-, T- und NK-Zellpopulationen im peripheren Blut.

Zur Messung der Zytokinsekretion wurde das Patientenblut im Vollbluttest mit verschiedenen Mitogenen stimuliert und anschließend die Konzentration im ELISA bestimmt. Die Sekretion des Zytokines IL-6 und des Zytokinrezeptors sIL-2R wiesen

nach Anästhesieeinleitung keine Veränderungen zu den Ausgangswerten auf. Das Zytokin IFN- γ stieg sowohl nach LPS- als auch nach PHA-Stimulation signifikant an.

Der Einfluss der Spinalanästhesie auf die neuroendokrinen Hormone Kortisol und Prolaktin wurde anhand der RIA- und Chemilumineszenstechnik untersucht. Sowohl die Serumspiegel von Kortisol als auch von Prolaktin wurden durch die Einleitung der Spinalanästhesie nicht beeinflusst.

Eine prolaktinvermittelte IFN- γ -Erhöhung ist also nach Einleitung einer Spinalanästhesie nicht zu erwarten. Möglicherweise ist die partielle Sympathikolyse der auslösende Mechanismus der gesteigerten IFN- γ -Freisetzung. Nach Einleitung einer Vollnarkose mit Opiatgabe scheint Prolaktin jedoch ursächlich für die mehrfach beschriebene proinflammatorische Immunmodulation zu sein.

Die gewonnenen Ergebnisse zeigen eine nur geringe Immunmodulation durch die Einleitung der Spinalanästhesie auf. Das Ausbleiben tief gehender immunologischer Veränderungen könnte am wiederholt beschriebenen positiven postoperativen Verlauf nach Operationen in Spinalanästhesie beteiligt sein.

6. Abkürzungen

ACTH	adrenocorticotropes Hormon
APC	antigenpräsentierende Zelle
ASA	Amerikanische Anästhesistenvereinigung (american society of anesthesiologists)
CD	Differenzierungsmarker (cluster of differentiation)
CK	Kreatinkinase (creatin kinase)
Con A	Concanavalin A
CRH	kortikotropinfreisetzendes Hormon (corticotropin-releasing-hormone)
CRP	C-reaktives Protein
CSF	koloniestimulierender Faktor (colony stimulating factor)
ECD	energiegebundener Farbstoff (energy-coupled dye)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	enzymgekoppelter Immunosorbenttest (enzyme-linked immunosorbent assay)
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
GF	Wachstumsfaktor (growth factor)
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (hypothalamus-pituitary-adrenal-axis)
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IRF-1	interferonregulierender Faktor 1
L-GH	Lymphozyten-Wachstumsfaktor (lymphocyte growth hormone)
LPS	Lipopolysaccharid

MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex)
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
PBMC	mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (peripheral blood mononuclear cells)
PE	Phycoerythrin
PHA	Phytohämagglutinin
PRL	Prolaktin
RIA	Radio-Immunassay
RPMI	Kulturmedium (Roswell Park Memorial Institute Medium)
SEA	Staphylokokken-Enterotoxin-A
sIL-2R	löslicher Interleukin-2-Rezeptor (soluble interleukin-2-receptor)
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
TGF	transformierender Wachstumsfaktor (transforming growth factor)
TH-Zellen	T-Helferzellen
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
ZNS	Zentralnervensystem

7. Literaturverzeichnis

1. **Arentz BB, Lahnborg G, Eneroth P, Thunell S:** Age-related differences in the serum prolactin response during standardized surgery, *Life Sci* 35, 2675-2680 (1984)
2. **Azuma Y, Shinohara M, Wang PL, Suese Z, Yasuda H, Ohura K:** Comparison of inhibitory effects of local anesthetics on immune functions of neutrophils, *Int J Immunopharmacol* 22, 789-796 (2000)
3. **Baron JF, Decaux-Jacolot A, Edouard A, Berdeaux A, Kamran S:** Influence of venouse return on baroreflex control of heart rate during lumbar epidural anaesthesia in humans, *Anesthesiology* 64, 188-193 (1986)
4. **Bauer M, Rensing H, Ziegenfuss T:** Anästhesie und perioperative Immunfunktion, *Anaesthesist* 47, 538-556 (1998)
5. **Beilin B, Shavit Z, Cohn S, Kedar E:** Narcotic-induced suppression of natural killer cell activity in ventilated and nonventilated rats, *Clin Immunol Immunopath* 64, 173-176 (1992)
6. **Beilin B, Shavit Z, Hart J, Mordashov B, Cohn S, Notti I, Bessler H:** Effects of anesthesia based on large versus small doses of fentanyl on natural killer cell cytotoxicity in the perioperative period, *Anesth Analg* 83, 492-497 (1996)
7. **Benker G, Jaspers C, Hausler G, Reinwein D:** Control of prolactin secretion, *Klin Wochenschr* 68, 1157-1167 (1990)
8. **Bitterman H, Kinarty A, Lazarovich H, Lahat N:** Acute release of cytokines is proportional to tissue injury induced by surgical trauma and shock in rats, *J Clin Immunol* 11, 184-192 (1991)
9. **Blackwell TS, Christman JW:** Sepsis and cytokines: current status, *Br J Anaesth* 77, 110-117 (1996)
10. **Blalock JE:** The syntax of immune-neuroendocrine communication, *Immunology Today* 15, 504-511 (1994)
11. **Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ:** Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine, *Chest* 101, 1644-55 (1992)

12. **Brand JM, Kirchner H, Poppe C, Schmucker P:** The effects of general anesthesia on human peripheral immune cell distribution and cytokine production, *Clin Immun Immunopath* 83, 190-197 (1997)
13. **Brand JM, Schmucker P, Breidthardt T, Kirchner H:** Upregulation of IFN-gamma and soluble interleukin-2 receptor release and altered serum cortisol and prolactin concentration during general anaesthesia, *J Interferon Cytokine Res* 21, 793-796 (2001)
14. **Brockmann C, Raasch W, Bastian C:** Endocrine stress parameters during TIVA with remifentanyl or sufentanyl, *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 35, 685-691 (2000)
15. **Burger D, Dayer JM:** Inhibitory cytokines and cytokine inhibitors, *Neurology* 45 (6 Suppl), 39-43 (1995)
16. **Calandra T, Gerain J, Heumann D, Baumgartner J-D, Glauser MP and the Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group:** High circulating levels of interleukin 6 in patients with septic shock: evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines, *Am J Med* 91, 23-29 (1991)
17. **Casey LC, Balk RA, Bone RC:** Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with sepsis syndrome, *Ann Intern Med* 160, 771-778 (1993)
18. **Castrillon P, Acre A, Garcia Bonacho M, Cardinali DP, Esquifino AI:** Acute and chronic effects of superior cervical ganglionectomy on in vitro mitogenic responses of lymphocytes from submaxillary lymph nodes of pituitary-grafted rats, *Biol Signals Recept* 7, 25-32 (1998)
19. **Castrillon P, Cardinali DP, Arce A, Cutrera RA, Esquifino AI:** Interferon-gamma release in sympathetically denervated rat submaxillary lymph nodes, *Neuroimmunomodulation* 8, 197-202 (2000)
20. **Cepicky P, Sulkova S, Stroufova A, Roth Z, Burdova I:** The correlation of serum prolactin level and psychic stress in women undergoing a chronic hemodialysis programme, *Exp Clin Endocrinol* 99, 71-72 (1992)
21. **Cesario TC, Yousefi S, Carandang G, Sadati H, Le J, Vaziri N:** Enhanced yields of gamma interferon in prolactin treated peripheral blood mononuclear cells, *Proc Soc Exp Biol Med* 205, 89-95 (1994)
22. **Chao CC, Molitor TW, Close K, Hu S, Peterson PK:** Morphine inhibits the release of tumor necrosis factor in human peripheral blood mononuclear cultures, *Int J Immunopharmacol* 15, 447-453 (1993)
23. **Cherubin CE, Brown J:** Systemic infections in heroin addicts, *Lancet* 1, 298-299 (1968)

24. **Clark MA, Plank LD, Hill GL:** Wound healing associated with severe surgical illness, *World J Surg* 24, 648-654 (2000)
25. **Crozier TA, Muller JE, Quittkat D, Sydow M, Wuttke W, Kettler D:** Total intravenous anesthesia with methohexital-alfentanil or propofol-alfentanil in hypogastric laparotomy. Clinical aspects and the effects of stress reaction, *Anaesthesist* 43, 594-604 (1994)
26. **Damas P, Ledoux D, Nys M, Vridts Z, De Groote D, Franshimont P, Lamy M:** Cytokine serum level during severe sepsis in humans IL-6 as a marker of severity. *Ann Surg*, 215, 356-362 (1992)
27. **den Hoed PT, Boelhouwer RU, Veen HF, Hop WC, Bruining HA:** Infections and bacteriological data after laparoscopic and open gallbladder surgery, *J Hosp Infect* 39, 27-37 (1998)
28. **Devlin EG, Clark RS, Mirakhur RK, McNeill TA:** Effect of four i.v. induction agents on T-lymphocyte proliferations to PHA in vitro, *Br J Anaesth* 73, 315-317 (1994)
29. **Devlin EG, Clarke RS, Mirakhur RK, McNeill TA:** The effect of thiopentone and propofol on delayed hypersensitivity reactions, *Anaesthesia* 50, 496-498 (1995)
30. **Diehl S, Rincon M:** The two faces of IL-6 on TH1/TH2 differentiation, *Mol Immunol* 39, 531-536 (2002)
31. **Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM:** Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome, *JAMA* 269, 1829-1835 (1993)
32. **Dinarello CA:** Interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist, *Nutrition* 11(5 Suppl), 492-494 (1995)
33. **Dinarello CA:** Anti-cytokine therapies in the response to systemic infection, *J Investig Dermatol Symp Proc* 6, 244-250 (2001)
34. **Dobbs CM, Vasquez M, Glaser R, Sheridan JF:** Mechanisms of stress-induced modulation of viral pathogenesis and immunity, *J Neuroimmunol* 48, 151-160 (1993)
35. **Ecoffey C, Edouard A, Pruszczynski W, Taly E, Kamran S:** Effects of epidural anaesthesia on catecholamines, renin activity, and vasopressin changes induced by tilt in elderly men, *Anesthesiology* 62, 294-297 (1985)
36. **Eggermont AM, Steller EP, Sugarbaker PH:** Laparotomy enhances intraperitoneal tumor growth and abrogates the antitumor effects of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells, *Surgery* 102, 71-78 (1997)

37. **Elenkov IJ, Chrousos GP:** Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity, *Ann N Y Acad Sci* 966, 290-303 (2002)
38. **Esmon CT:** Does inflammation contribute to thrombotic events?, *Haemostasis* 30 (2 Suppl), 34-40 (2000)
39. **Fagiolo U, Cossarizza A, Scala E, Fanales-Belasio E, Ortolani C, Cozzi E, Monti D, Franceschi C, Paganelli R:** Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people, *Eur J Immunol* 23, 2375-2378 (1993)
40. **Faist E, Storck M, Hültner L, Redl H, Ertel W, Walz A, Schildberg FW:** Functional analysis of monocyte activity through synthesis patterns of proinflammatory cytokines and neopterin in patients in surgical intensive care, *Surgery* 112, 562-572 (1992)
41. **Farrar MW, Hall GM:** Neuroendocrine and inflammatory aspects of surgery: do they affect outcome?, *Europ J Anaesthesiol* 15, 736-738 (1998)
42. **Fecho K, Lysle DT:** Morphine-induced enhancement in the granulocyte response to thioglycollate administration in the rat, *Inflammation* 26, 259-271 (2002)
43. **Fehm HL, Holl R, Spath-Schwalbe E, Born J, Voigt KH:** Ability of corticotropin releasing hormone to stimulate cortisol secretion independent from pituitary adrenocorticotropin, *Life Sci* 42, 679-686 (1988)
44. **Felten DL, Felten SY, Bellinger DL, Carlson SL, Ackerman KD, Madden KS, Olschowki JA, Livnat S:** Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: structure and function, *Immunol Rev* 100, 225-60 (1987)
45. **Fischer E, Marano MA, Van Zee KJ, Rock CS, Hawes AS, Thompson WA, DeForge L, Kennedy JS, Remick DG, Bloedow DC, et al.:** Interleukin-1 receptor blockade improves survival and hemodynamic performance in escherichia coli septic shock, but fails to alter host response to sublethal endotoxemia, *J Clin Invest* 89, 1551-1557 (1992)
46. **Friedman EM, Irwin MR:** Modulation of immune cell function by the autonomic nervous system, *Pharmacol Ther* 74, 27-38 (1997)
47. **Friedrich M, Rixecker D, Friedrich G:** Evaluation of stress-related hormones after surgery, *Clin Exp Obstet Gynecol* 26, 71-75 (1999)
48. **Frucht DM, Fukao T, Bogdan C, Schindler H, O'Shea JO, Koyasu S.:** IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge, *Trends in Immunol* 22, 556-559 (2001)

49. **Gardner EM, Murasko DM:** Age-related changes in Type 1 and Type 2 cytokine production in humans, *Biogerontology* 3, 271-290 (2002)
50. **Gatti G, Cavallo R, Sartori ML, del Ponte D, Masera R, Salvadori A, Carignola R, Angeli A:** Inhibition by cortisol of human natural killer cell activity, *J steroid Biochem* 26, 49-58 (1987)
51. **Gerber H:** Abnormal hormone values: do drugs play a role? Abnormal prolactin, TSH and thyroid hormone values, *Schweiz Med Wochenschr* 120, 847-854 (1990)
52. **Giasi RM, D'Agostino E, Covino BG:** Absorption of lidocaine following subarachnoid and epidural administration, *Anesth Analg* 58, 360-363 (1979)
53. **Gilliland HE, Armstrong MA, Carabine U, McMurray TJ:** The choice of anesthetic maintenance technique influences the antiinflammatory cytokine response to abdominal surgery, *Anesth Analg* 85, 1394-1398 (1997)
54. **Goto Y, Ho SL, McAdoo J, Fanning NF, Wang J, Redmond HP, Shorten GD:** General versus regional anaesthesia for cataract surgery: effects on neutrophil apoptosis and the postoperative pro-inflammatory state, *Eur J Anaesthesiol* 17, 474-480 (2000)
55. **Hahn RG, Drobin D, Stahle L:** Volume kinetics of Ringer's solution in female volunteers, *Br J Anaesth* 78, 144-148 (1997)
56. **Hall GM und Ali W:** The stress response and its modification by regional anaesthesia, *Anaesthesia* 53 (2 Suppl), 10-12 (1998)
57. **Hashimoto T, Hashimoto S, Hori Y, Nakagawa H, Hosokawa T:** Epidural anesthesia blocks changes in peripheral lymphocytes subpopulation during gastrectomy for stomach cancer, *Acta Anaesthesiol Scand* 39, 294-298 (1995)
58. **Haupt W, Riese J, Mehler C, Weber K, Zowe M, Hohenberger W:** Monocyte function before and after surgical trauma, *Dig Surg* 15, 102-104 (1998)
59. **Held TK, Weihua X, Yuan L, Kalvakolanu DV, Cross AS:** Gamma interferon augments macrophage activation by lipopolysaccharide by two distinct mechanisms, at the signal transduction level and via an autocrine mechanism involving tumor necrosis factor alpha and interleukin-1, *Infect Immun* 67, 206-212 (1999)
60. **Heller A, Heller S, Blecken S, Urbaschek R, Koch T:** Effects of intravenous anesthetics on bacterial elimination in human blood in vitro, *Acta Anaesthesiol Scand* 42, 518-526 (1998)

61. **Hellstrand K, Hermodsson S, Strannegard O:** Evidence for a beta-adrenoceptor-mediated regulation of human natural killer cells, *J Immunol* 134, 4095-4099 (1985)
62. **Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B:** Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery, *Infect Immun* 65, 2283-2291 (1997)
63. **Hoehe M, Duka T, Doenicke A:** Human studies on the mu opiate receptor agonist fentanyl: neuroendocrine and behavioral responses, *Psychoneuroendocrinology* 13: 397-408 (1988)
64. **Hogevold HE, Lyberg T, Kahler H, Haug E, Reikeras O:** Changes in plasma IL-1beta, TNF-alpha, and IL-6 after total hip replacement surgery in general or regional anaesthesia, *Cytokine* 12, 1156-1159 (2000)
65. **Hole A, Unsgaard G, Breivik H:** Monocyte functions are depressed during and after surgery under general anaesthesia but not under epidural anaesthesia, *Acta Anaesthesiol Scand* 26, 301-307 (1982)
66. **Hole A, Unsgaard G:** The effect of epidural and general anaesthesia on lymphocyte functions during and after major orthopaedic surgery, *Acta Anaesthesiol Scand* 27, 135-141 (1983)
67. **Horn F, Henze C, Heidrich K:** Interleukin-6 signal transduction and lymphocyte function, *Immunobiology* 202, 151-167 (2000)
68. **Hu XX, Goldmuntz EA, Brosnan CF:** The effect of norepinephrine on endotoxin-mediated macrophage activation, *J Neuroimmunol* 31, 35-42 (1991)
69. **Huber TS, Gaines GC, Welborn MB 3rd, Rosenberg JJ, Seeger JM, Moldawer LL:** Anticytokine therapies for acute inflammation and systemic inflammatory response syndrome: IL-10 and ischemia/reperfusion injury as a new paradigm, *Shock* 13, 425-434 (2000)
70. **Hussey HH, Katz S:** Infections resulting narcotic addiction: report of 102 cases, *Am J Med* 9, 186-193 (1950)
71. **Joseph L, Fink LM, Hauer-Jensen M:** Cytokines in coagulation and thrombosis: a preclinical and clinical review, *Blood Coagul Fibrinolysis* 13, 105-16 (2002)
72. **Jullien Z, Rochette A, Desch G, Descomps B, du Cailar J:** Bromocriptine inhibition of hyperprolactinemia during surgery, *Acta Obstet Gynecol Scand* 64, 403-405 (1985)

-
73. **Kanellopoulos JM, DePetris S, Leca G, Crumpton MJ:** The mitogenic lectin from phaseolus vulgaris does not recognize the T3 antigen of human lymphocytes, *Eur J Immunol* 15, 479-486 (1985)
 74. **Karayiannakis AJ, Makri GG, Mantzioka A, Karousos D, Karatzas G:** Systemic stress response after laparoscopic or open cholecystectomy: a randomized trial, *Br J Surg* 84, 467-471 (1997)
 75. **Kato M, Kurosawa S, Matsuoka H, Murakami M, Imai R, Takahashi M:** Plasma soluble interleukin-2 receptor levels during and after upper abdominal surgery, *Anaesth Intensive Care* 28, 650-653 (2000)
 76. **Kato T, Murata A, Ishida H, Toda H, Tanaka N, Hayashida H, Monden M, Matsuura N:** Interleukin 10 reduces mortality from severe peritonitis in mice, *Antimicrob Agents Chemother* 39, 1336-1340 (1995)
 77. **Kehlet H, Nielsen HJ:** Impact of laparoscopic surgery on stress responses, immunofunction, and risk of infectious complications, *New Horiz* 6 (2 Suppl), 80-88 (1998)
 78. **Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Cacioppo JT, Malarkey WB:** Marital stress: immunologic, neuroendocrine, and autonomic correlates, *Ann N Y Acad Sci* 840, 656-663 (1998)
 79. **Kirchner H, Kleinicke Ch, Digel W:** A whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes, *J Immunol Meth* 48, 213-219 (1982)
 80. **Kirchner H, Kruse A, Neustock P, Rink L:** Cytokine und Interferone: Botenstoffe des Immunsystems, 1. Aufl., 11-148, Spektrum, Heidelberg (1993)
 81. **Kirno K, Lundin S, Elam M:** Effects of intrathecal morphine and spinal anaesthesia on sympathetic nerve activity in humans, *Acta Anaesthesiol Scand* 37, 54-59 (1993)
 82. **Kress HG, Eberlein T:** Wirkung von Anästhesie und Operation auf wesentliche Immunfunktionen, *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 27, 393-402 (1992)
 83. **Kronfol Z, Starkman M, Scheingart DE, Singh V, Zhang Q, Hill E:** Immune regulation in Cushing's Syndrome: relationship to hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones, *Psychoneuroendocrinology* 21, 599-608 (1996)
 84. **Lahat N, Zlotnick AY, Shtiller R, Bar I, Merin G:** Serum levels of IL-1, IL-6 and tumor necrosis factor in patients undergoing coronary artery bypass grafts or cholecystectomy, *Clin Exp Immunol* 89, 255-260 (1992)

85. **Latifi SQ, O’Riordan MA, Levine AD:** Interleukin-10 controls the onset of irreversible septic shock, *Infect Immun* 70, 4441-4446 (2002)
86. **LeCras A, Galley HF, Webster NR:** Spinal but not general anaesthesia increases the ratio of T helper 1 to T helper 2 cell subsets in patients undergoing transurethral resection of the prostate, *Anesth Analg* 87, 1421-1425 (1998)
87. **Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS:** 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, *Crit Care Med* 31, 1250-1256 (2003)
88. **Luecken LJ, Lysle DT:** Evidence for the involvement of beta-adrenergic receptors in conditioned immunomodulation, *J Neuroimmunol* 38, 209-219 (1992)
89. **Luxembourg A, Grey H:** Strong induction of tyrosine phosphorylation, intracellular calcium, nuclear transcription factors and interferongamma, but weak induction of IL-2 in naive T cells stimulated by bacterial superantigen, *Cell Immunol* 219, 28-37 (2002)
90. **Madden KS, Moynihan JA, Brenner GJ, Felten SY, Felten DL, Livnat S:** Sympathetic nervous system modulation of the immune system. III. Alterations in T and B cell proliferation and differentiation in vitro following chemical sympathectomy, *J Neuroimmunol* 49, 77-87 (1994)
91. **Malarkey WB, Wang J, Cheney C, Glaser R, Nagarja H:** Human lymphocyte growth hormone stimulates interferon gamma production and is inhibited by cortisol and norepinephrine, *J Neuroimmunol* 123, 180-187 (2002)
92. **Marana E, Scambia G, Maussier ML, Parpaglion R, Ferrandina G, Meo F, Sciarra M, Marana R:** Neuroendocrine stress response in patients undergoing benign ovarian cyst surgery by laparoscopy, minilaparotomy, and laparotomy, *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 10, 159-165 (2003)
93. **Matera L, Muccioli G, Cesano A, Bellussi G, Genazzani E:** Prolactin receptors on large granular lymphocytes: Dual regulation by cyclosporin A, *Brain Behav Immun* 2, 1-10 (1988)
94. **Matera, L:** Endocrine, paracrine and autocrine actions of prolactin on immune cells, *Life sci* 59, 599-614 (1996)
95. **Matera L, Contarini M, Bellone G, Forno B, Biglino A:** Up-modulation of interferon-gamma mediates the enhancement of spontaneous cytotoxicity in prolactin-activated natural killer cells, *Immunology* 98, 386-392 (1999)

-
96. **Matera L, Mori M:** Cooperation of pituitary hormone prolactin with interleukin-2 and interleukin 12 on the production of interferon-gamma by natural killer and T cells, *Ann NY Acad Sci* 917, 505-513 (2000)
 97. **Mattern T, Thanhäuser A, Reiling N, Toellner KM, Duchrow M, Kusukoto S, Rietschel ET, Ernst M, Brade H, Flad HD, Ulmer AJ:** Endotoxin and Lipid A stimulate proliferation of human T-cells in the presence of autologous monocytes, *J Immunol* 153, 2996-3004 (1994)
 98. **McBride WT, Armstrong MA, McBride SJ:** Immunomodulation: an important concept in modern anaesthesia, *Anaesthesia* 51, 465-473 (1996)
 99. **McMurray RW:** Bromocriptine in rheumatic and autoimmune diseases, *Semin Arthritis Rheum* 31, 21-32 (2001)
 100. **Miossec P:** Soluble interleukin 2 receptor. Clinical value and biological significance, *Presse Med* 20, 997-1001 (1991) Artikel auf Französisch
 101. **Miossec P:** Pro- and antiinflammatory cytokine balance in rheumatoid arthritis, *Clin Exp Rheumatol* 13 (12 Suppl), S13-16 (1995)
 102. **Mitsuhata H, Masaki Z, Matsumoto S, Shigeomi S; Enzan K, Hasegawa J:** Effects of local anesthetics upon human natural killer cytotoxicity in vitro, *Masui* 40, 1674-1681 (1991) Artikel auf Japanisch
 103. **Molteni M, Della Bella S, Mascagni B, Coppola C, DeMicheli V, Zulian C, Biridelli S, Vanoli M, Scorza R:** Secretion of cytokines upon allogenic stimulation: effect of aging, *J Biol Regul Homeost Agents* 8, 41-47 (1994)
 104. **Montgomery D.W., G.K. Shen, E.D. Ulrich, L.L. Steiner, P.R. Parrish, C.F. Zukoski:** Human thymocytes express a prolactin-like messenger ribonucleic acid and synthesize bioactive prolactin-like proteins, *Endocrinology* 131, 3019-3026 (1992)
 105. **Moon MR, Luchette FA, Gibson SW, Crews J, Sudarshan G, Hurst JM, Davis K Jr, Johannigman JA, Frame SB, Fischer JE:** Prospective, randomized comparison of epidural versus parenteral opioid analgesia in thoracic trauma, *Ann Surg* 229, 684-692 (1999)
 106. **Moudgil GC, Singal DP:** Halothane and isofluran enhance melanoma tumour metastasis in mice, *Can J Anaesth* 44, 90-94 (1997)
 107. **Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ:** Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions, *Endocr Rev* 5, 25-44 (1984)
 108. **Naito Y, Tamai S, Shingu K, Shindo K, Matsui T, Segawa H, Nakai Y, Mori K:** Responses of plasma adrenocorticotrophic hormone, cortisol, and cytokines during and after upper abdominal surgery, *Anesthesiology* 77, 426-432 (1992)

-
109. **Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T:** The paradigm of IL-6: from basic science to medicine, *Arthritis Res (4 Suppl)*, S233-42 (2002)
 110. **Nomoto Y, Karasawa S, Uehara K:** Effects of hydrocortisone and adrenaline on natural killer cell activity, *Br J Anest* 73, 318-321 (1994)
 111. **Northoff H, Berg A, Weinstock C:** Similarities and differences of the immune response to exercise and trauma: the IFN-gamma concept, *Can J Physiol Pharmacol* 76, 487-504 (1998)
 112. **Pan JT, Teo KL:** Fentanyl stimulates prolactin release through μ -opiate receptors, but not the serotonergic system, *Endocrinology* 125, 1863-1869 (1989)
 113. **Pawelec G, Barnett Z, Forsey R, Frasca D, Globerson A, McLeod J, Caruso C, Franceschi C, Fulop T, Gupta S, Mariani E, Mocchegiani E, Solana R:** T cells and aging, January 2002 update, *Front Biosci* 7, d1056-1183 (2002)
 114. **Peterson PK, Sharp B, Gekker G, Keane WF:** Opioid-mediated suppression of IFN- γ production by cultured peripheral blood mononuclear cell respiratory burst activity, *J Immunol* 138, 3907-3912 (1987)
 115. **Peterson PK, Molitor TW, Chao CC:** Mechanisms of morphine-induced immunomodulation, *Biochem Pharmacol* 46, 343-348 (1993)
 116. **Peterson PK, Molitor TW, Chao CC:** The opioid-cytokine connection, *J Neuroimmunol* 83, 63-69 (1998)
 117. **Pirttikangas CO, Perttola J, Salo M, Vainio O, Liukko-Sipi S:** Propofol infusion anaesthesia and immune response in minor surgery, *Anaesthesia* 49, 13-16 (1994)
 118. **Pirttikangas CO, Salo M, Mansikka M, Gronroos J, Pulkki K, Peltola O:** The influence of anaesthetic technique upon the immune response to hysterectomy. A comparison of propofol infusion and isoflurane, *Anaesthesia* 50, 1056-1061 (1995)
 119. **Pirttikangas CO, Salo M, Peltola O:** Propofol infusion anaesthesia and immune response in elderly patients undergoing ophthalmic surgery, *Anaesthesia* 51, 318-323 (1996)
 120. **Redmond HP, Chavin KD, Bromberg JS, Shepard RJ:** Acute exercise and immune function. Relationship between lymphocyte activity and changes in subset counts, *Int J Sports Med* 13, 452-461 (1992)
 121. **Rem J, Kehlet H, Brandt MR:** Prevention of postoperative lymphopenia and granulocytosis by epidural analgesia, *Lancet*, 283-285 (1980)

-
122. **Roth-Isigkeit AK, Schmucker P:** Postoperative dissociation of blood levels of cortisol and adrenocorticotropin after coronary artery bypass grafting surgery, *Steroids* 62, 695-699 (1997)
 123. **Roth-Isigkeit A, Schwarzenberg J, v Borstel T, Gehring H, Ocklitz E, Wagner K, Schmucker P, Seyfahrt M:** Perioperative cytokine release during coronary artery bypass grafting in patients of different ages, *Clin Exp Immunol* 114, 26-32 (1998)
 124. **Rubin LA, Nelson DL:** The soluble interleukin-2-receptor: biology, function, and clinical application, *Am Intern Med* 113, 619-27 (1990)
 125. **Salo M, Nissila M:** Cell-mediated and humoral immune responses to total hip replacement under spinal or general anaesthesia, *Acta Anaesthesiol Scand* 34, 241-248 (1990)
 126. **Salo M:** Effects of anaesthesia and surgery on the immune response, *Acta Anaesthesiol Scand* 36, 201-220 (1992)
 127. **Schneemilch CE, Bank U:** Release of pro- and anti-inflammatory cytokines during different anesthesia procedures, *Anaesthesiol Reanim* 26, 4-10 (2001)
 128. **Shavit Y, Martin FC, Yirmiya R, Ben-Ellyahu S, Terman GW, Weiner H, Gale RP, Liebeskind JC:** Effects of a single administration of morphine or footshock stress on natural killer cell cytotoxicity, *Brain Behav Immun* 4, 318-328 (1987)
 129. **Shebuski RJ, Kilgore KS:** Role of inflammatory mediators in thrombogenesis, *J Pharmacol Exp Ther* 300, 729-35 (2002)
 130. **Sheeran P, Hall GM:** Cytokines in anaesthesia, *Br J Anaesth* 78, 201-219 (1997)
 131. **Sindermann J, Kruse A, Frercks HJ, Schutz RM, Kirchner H:** Investigations of the lymphokine systems in elderly individuals, *Mech Ageing Dev* 70, 149-159 (1993)
 132. **Smit MJ, Beelen RH, Eijsbouts QA, Meijer S, Cuesta MA:** Immunological response in laparoscopic surgery, *Acta Gastroenterol Belg* 59, 245-247 (1996)
 133. **Smith EM, Blalock JE:** Human lymphocyte production of corticotropin and endorphin-like substances: association with leukocyte interferon, *Proc Natl Acad Sci USA* 78, 7530-7534 (1981)
 134. **Smith EM, Meyer WJ, Blalock JE:** Virus induced corticosterone in hypophysectomized mice: a possible lymphoid adrenal axis, *Science* 218, 1311-1312 (1982)

135. **Snell JJ:** Immunität und Narkose, Berlin Klin Wochenschr 40, 212 (1903)
136. **Song L, Kim YH, Chopra RK, Proust JJ, Nagel JE, Nordin AA, Adler WH:** Age-related effects in T cell activation and proliferation, Exp Gerontol 28, 313-321 (1993)
137. **Spengler RN, Chensue SW, Giacherio DA, Blenk N, Kunkel SL:** Endogenous norepinephrine regulates tumor necrosis factor-alpha production from macrophages in vitro, J Immunol 152, 3024-3031 (1994)
138. **Suliman AM, al Saber F, Hayes F, Fiad T, Cunningham S, McKenna TJ:** Hyperprolactinaemia: analysis of presentation, diagnosis and treatment in the endocrine service of a general hospital, Ir Med J 93, 74-76 (2000)
139. **Targarona EM, Balague C, Knook MM, Trias M:** Laparoscopic surgery and surgical infection, Br J Surg 87, 536-544 (2000)
140. **Thornton FJ, Schaffer MR, Barbul A:** Wound healing in sepsis and trauma, Shock 8, 391-401 (1997)
141. **Tonnesen E, Brinklov MM, Christensen NJ, Olesen AS, Madsen T:** Natural killer cell activity and lymphocyte function during and after coronary artery bypass grafting in relation to the endocrine stress, Anaesthesiology 67, 526-533 (1987)
142. **Tonnesen E, Wahlgreen C:** Influence of extradural and general anaesthesia on natural killer cell activity and lymphocyte subpopulations in patients undergoing hysterectomy, Br J Anaesth 60, 500-507 (1988)
143. **Tonnesen E, Christensen VB, Toft P:** The role of cytokines in cardiac surgery, Int J Cardiol 53 (Suppl), S1-10 (1996)
144. **Trinchieri G:** Interleukin 12: a cytokine produced by antigen presenting cells with immunoregulatory functions in the generation of T-helper cells type 1 and cytotoxic lymphocytes, Blood 84, 4008-4027 (1994)
145. **Tubaro E, Borelli G, Croce C, Cavallo G, Santiangeli C:** Effect of morphine on resistance to infection, J Infect Dis 148, 656-666 (1983)
146. **Urwin SC, Parker MJ, Griffiths R:** General versus regional anaesthesia for hip fracture surgery: a meta-analysis of randomized trials, Br J Anaesth 84, 450-455 (2000)
147. **Vedhara K, Cox NK, Wilcock GK, Perks P, Hunt M, Anderson S, Lightman SL, Shanks NM:** Chronic stress in elderly carers of dementia patients and antibody response to influenza vaccination, Lancet 353, 627-631 (1999)

-
148. **Walker SE, Jacobson JD:** The role of prolactin and gonadotropin-releasing hormone in rheumatic disease, *Rheum Dis Clin North Am* 26, 713-736 (2000)
 149. **Weese JL, Ottery FD, Emoto SE:** Do operations facilitate tumor growth? An experimental model in rats, *Surgery* 110, 273-277 (1986)
 150. **Wei J, Xu H, Davies JL, Hemmings GP:** Increase of plasma IL-6 concentration with age in healthy subjects, *Life Sci* 51, 1953-1956 (1992)
 151. **Welters ID, Menzebach A, Langfeld TW, Menzebach M, Hempelmann G:** Inhibitory effects of S-(-) and R-(+) bupivacaine on neutrophil function, *Acta Anaesthesiol Scand*, 45, 570-575 (2001)
 152. **Wheelan P, Morris PJ:** Immunological responsiveness after transurethral resection of the prostate: general versus spinal anaesthetic, *Clin exp Immunol* 48, 611-618 (1983)
 153. **Wieggers GJ, Reul JMHM:** Induction of cytokine receptors by glucocorticoids: functional and pathological significance, *TiPS* 19, 318-21 (1998)
 154. **Yeager MP, Colacchio TA, Yu CT, Hildebrand L, Howell AL, Weiss J, Guyre PM:** Morphine inhibits spontaneous and cytokine-enhanced natural killer cell cytotoxicity in volunteers, *Anesthesiology* 83, 500-508 (1995)
 155. **Yokoyama M, Mizobuchi S, Nagano O, Hiromi F, Yamashita M, Hirakawa M:** The effects of epidural insertion site and surgical procedure on plasma lidocaine concentration, *Anaesth Analg* 92, 470-475 (2001)
 156. **Yu-Lee LY:** Molecular actions of prolactin in the immune system, *Proc Soc Exp Biol Med* 215, 35-52 (1997)
 157. **Zwingmann-Cornelius D:** Einflüsse der noradrenergen Innervation auf die zelluläre Zusammensetzung, Zellaktivierung und Zytokinproduktion in lymphatischen Organen während einer spezifischen Immunantwort, Marburg, Dissertation, 2001

Eigene Publikationen

Brand JM, Schmucker P, Breidhardt T, Kirchner H: Upregulation of IFN-gamma and soluble interleukin-2 receptor release and altered serum cortisol and prolactin concentration during general anaesthesia, J Interferon Cytokine Res 21, 793-796 (2001)

Breidhardt T, Frohn C, Luhm J, Kirchner H, Brand JM: Prolactin induces enhanced interferon gamma release in peripheral whole blood after stimulation with either PHA or LPS, Immunobiol 206; 424-431 (2002)

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. H. Kirchner, für die Überlassung des interessanten Themas und die Unterstützung und Förderung dieser Arbeit.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Dr. med. J. M. Brand für die gute Zusammenarbeit bei der Patientenstudie, die hilfreichen Denkanstöße und die kritische Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. med. C. Poppe danke ich für die freundschaftliche Einführung in den Themenkreis und die verschiedenen Labortechniken.

Allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Immunologie und Transfusionsmedizin sei für ihre Hilfsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima gedankt, insbesondere Frau Nicole Heindl für die technische Hilfestellung und Unterstützung dieser Arbeit und Frau Beate Höschler für die Einweisung in die RIA-Technik.

Den Mitarbeitern der Klinik für Frauenheilkunde danke ich für die Kooperation bei der Bestimmung der Prolaktinwerte.

Herrn Dr. H. J. Friedrich aus dem Institut für Statistik und Medizinische Dokumentation danke ich für die statistische Beratung.

Mein besonderer Dank gilt allen, die frühere Entwürfe dieser Arbeit gelesen haben und sie durch hilfreiche Anmerkungen und Korrekturen mit geformt haben: besonders meiner Schwester Annika für ihre Ausdauer und Gelassenheit.

Meinen Eltern danke ich für die Ermöglichung eines sorgenfreien Studiums, für ihre Anteilnahme und das große entgegengebrachte Vertrauen.

Lebenslauf

Tobias Breidthardt

geboren am 27. April 1976 in München

09/1983 - 07/1987	Grundschule in München
09/1987 - 07/1994	Ludwigsgymnasium München, Humanistischer Zweig
08/1994 - 05/1996	Armand Hammer United World College of the American West, Montezuma, NM, USA Stipendiat des Deutschen Komitees United World Colleges
05/1996	International Baccalaureate Diploma (IB)
10/1996 - 05/2003	Studium der Humanmedizin an der Universität zu Lübeck
09/1998	Ärztliche Vorprüfung
09/1999	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/1999 - 03/2001	Experimentelle Untersuchungen im Rahmen der Dissertation
09/2001	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2002 - 04/2003	Praktisches Jahr am Universitätsspital Zürich, Schweiz, am National Hospital for Neurology and Neurosurgery, London, England und am Regionalspital Bozen, Italien
05/2003	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01/1998 - 03/2002	Wehersatzdienst im Katastrophenschutz der Hansestadt Lübeck beim Arbeiter-Samariter-Bund (ASB), Ortsverband Lübeck