

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. W.Klee

**Einfluss einer Isoflurananästhesie im Vergleich
zu einer Kombinationsanästhesie mit Xylazin,
Ketamin und Isofluran auf die Konzentrationen
ausgewählter Immunparameter im Blut von
Kälbern mit und ohne chirurgischen Eingriff**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Bettina Susanne Schäfer
aus Esslingen

München 2012

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Klee

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Kaspers

Tag der Promotion: 11. Februar 2012

Meinem Opa Erwin †

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1	Immunologische Folgen eines chirurgischen Eingriffe.....	3
2.1.1	Chirurgischer Stress.....	3
2.1.2	Hormoneinfluss.....	6
2.1.3	Zytokinfreisetzung und -wirkung	7
2.1.3.1	Proinflammatorische Zytokine	7
2.1.3.2	Antiinflammatorische Zytokine.....	9
2.1.3.3	Zusammenwirken der Zytokine.....	9
2.1.4	Zusammenfassung der Effekte chirurgischen Stresses auf das Immunsystem	10
2.1.5	Veränderungen des Leukozytogramms	13
2.1.6	Ursachen der Lymphopenie.....	15
2.1.7	Dauer der Blutbildveränderungen.....	16
2.2	Rolle der Anästhesie bei der postoperativen Immunsuppression	16
2.2.1	Direkter Einfluss von Anästhetika auf das Immunsystem.....	17
2.2.2	Anästhesie und Analgesie.....	18
2.2.3	Inhalationsnarkotika	19
2.2.4	Epidural- und Lokalanästhesie	20
III.	MATERIAL UND METHODEN.....	22
3.1	Tiere	22
3.2	Anästhesieverfahren	23
3.3	Blutentnahme	24
3.4	Laborarbeiten	25
3.4.1	Geräte, Materialien und Reagenzien.....	25
3.4.2	Blutprobenverarbeitung	26
3.4.3	Isolierung der Leukozyten	26
3.4.4	Durchflusszytometrie.....	27
3.5	Stichprobenplanung	30
3.6	Statistische Auswertung	31
3.6.1	Datenaufbereitung.....	31
3.6.2	Statistik	32

IV.	ERGEBNISSE.....	33
4.1	Tiere	33
4.2	Anästhesien.....	33
4.3	Immunologische Parameter	36
4.3.1	Leukozyten	36
4.3.2	Lymphozyten	39
4.3.3	CD4 ⁺ T-Zellen.....	43
4.3.4	CD8 ⁺ T-Zellen	47
4.3.5	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Ratio	52
4.3.6	Monozyten	53
4.3.7	Neutrophile Granulozyten	58
V.	DISKUSSION.....	63
5.1	Studienziel	63
5.2	Material und Methode.....	63
5.3	Ergebnisse.....	66
5.3.1	Allgemeine Ergebnisse	66
5.3.2	Leukozyten	67
5.3.3	Lymphozyten	70
5.3.4	CD4 ⁺ T-Zellen	72
5.3.5	CD8 ⁺ T-Zellen	74
5.3.6	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Ratio	76
5.3.7	Monozyten	77
5.3.8	Neutrophile Granulozyten	79
5.4	Fazit und Ausblick.....	80
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	83
VII.	SUMMARY	86
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	89
IX.	ANHANG.....	104
X.	DANKSAGUNG	112

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
CD	Cluster of differentiation
CD4 ⁺	T-Helferzellen
CD8 ⁺	zytotoxische T-Zellen
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
Fas	Oberflächen-/Transmembranprotein aus der Familie der TNF-Rezeptoren mit zytozider Wirkung; mediiert Apoptose aktivierter T-Lymphozyten
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
Il	Interleukin
INHc	Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff (Versuchsgruppe)
INHo	Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff (Kontrollgruppe)
KOMc	kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff (Versuchsgruppe)
KOMo	kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff (Kontrollgruppe)
MHC	Major histocompatibility complex

MOF	multi organ failure
NSAID	Nonsteroidal antiinflammatory drugs
PGE	Prostaglandin E
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
TGF	transformatory growth factors
TNF	Tumornekrosefaktor
Vol. %	Volumenprozent
WBC	White blood cells

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1 Beispiel für einen Density Plot mit den gesetzten Gates für Granulozyten, Lymphozyten/Monozyten und dem Zelldebris.....	29
Abbildung 2 Darstellung der CD14 ⁺ -Zellen in einem Histogramm.....	29
Abbildung 3 „Dot-plot“ mit Darstellung der CD4-positiven Zellen unten rechts, der CD8-positiven Zellen oben links, der CD4- und CD8-negativen Zellen unten rechts und der CD4- und CD8- positiven Zellen oben rechts.....	30
Abbildung 4 Dauer der OP-Vorbereitung (von Sedativaapplikation bis Erreichen des chirurgischen Toleranzstadiums) in Minuten (min) bei Kälbern mit (c) und ohne (o) chirurgischen Eingriff unter zwei verschiedenen Anästhesieverfahren	35
Abbildung 5 Durchschnittliche endexpiratorische Isoflurankonzentrationen (ET _{ISO}) zum Zeitpunkt des Erreichens der chirurgischen Toleranz bei Kälbern mit (c) und ohne (o) chirurgischen Eingriff bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren.....	36
Abbildung 6 Absolute Leukozytenkonzentrationen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den unterschiedlichen Probenzeitpunkten.....	37
Abbildung 7 Differenzen der absoluten Leukozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	38
Abbildung 8 Differenzen (Diff.) der prozentualen Leukozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	39
Abbildung 9 Absolute Lymphozytenkonzentrationen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten.....	41

- Abbildung 10** Differenzen der absoluten Lymphozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....42
- Abbildung 11** Differenzen (Diff.) der prozentualen Lymphozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....43
- Abbildung 12** Absolute Konzentrationen der CD4⁺ T-Zellen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten45
- Abbildung 13** Differenzen der absoluten Konzentrationen CD4⁺ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....46
- Abbildung 14** Differenzen (Diff.) der prozentualen Konzentrationen CD4⁺ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....47
- Abbildung 15** Absolute Konzentrationen der CD8⁺ T-Zellen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten49
- Abbildung 16** Differenzen der absoluten Konzentrationen CD8⁺ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....50

Abbildung 17 Differenzen (Diff.) der prozentualen Konzentrationen CD8 ⁺ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	51
Abbildung 18 Quotient der CD4 ⁺ und CD8 ⁺ T-Zellen (CD4/CD8 ⁺ -Ratio) im Blut von Kälbern mit (c) und ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten	53
Abbildung 19 Absolute Monozytenkonzentrationen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten.....	54
Abbildung 20 Differenzen der absoluten Monozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	56
Abbildung 21 Differenzen (Diff.) der prozentualen Monozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	57
Abbildung 22 Absolute Granulozytenkonzentrationen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten.....	60
Abbildung 23 Differenzen der absoluten Granulozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	61
Abbildung 24 Differenzen (Diff.) der prozentualen Granulozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).....	62

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Ergebnisse der statistischen Tests (Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Leukozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie den Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	38
Tabelle 2: Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Lymphozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	42
Tabelle 3: Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten CD4 ⁺ T-Zellkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	46
Tabelle 4: Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten CD8 ⁺ T-Zellkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	50
Tabelle 5: Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für den Vergleich der Mediane der CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Ratio im Blut von Kälbern zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	51
Tabelle 6: Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Monozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	56

Tabelle 7: Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Granulozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	61
Tabelle 8: Übersicht aller Versuchstiere und ihrer Anästhesien	103
Tabelle 9: Median- und Quartilwerte der absoluten Leukozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	104
Tabelle 10: Median- und Quartilwerte der absoluten Lymphozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	105
Tabelle 11: Median- und Quartilwerte der absoluten CD4 ⁺ T-Zellkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	106
Tabelle 12: Median- und Quartilwerte der absoluten CD8 ⁺ T-Zellkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	107
Tabelle 13: Median- und Quartilwerte der CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Ratio zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	108
Tabelle 14: Median- und Quartilwerte der absoluten Monozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.....	109

Tabelle 15: Median- und Quartilwerte der absoluten Granulozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff110

EINLEITUNG

In der Folge von Anästhesie und chirurgischen Eingriffen kommt es zu einer unterschiedlich stark ausgeprägten transienten Immunsuppression [BRÖCKER u. MACHER, 1981; FELSBURG et al., 1986; OKA et al., 1996; DELOGU et al., 2000 u. 2001], die bis hin zu einer Immunparalyse [FAIST et al., 1992 u. 1996; HILDEBRAND et al., 2005] reichen kann.

Dadurch nimmt das postoperative Komplikations- und Infektionsrisiko zu [TØNNESEN u. WAHLGREEN, 1988; OKA et al., 1996; DELOGU et al., 2000 u. 2001; TING et al., 2003; KAWASAKI et al., 2007], die Gefahr einer Sepsis oder die Entwicklung eines Multiorgandysfunktionssyndroms ist erhöht, und es wird ein Anstieg der Mortalität beobachtet [WANG et al., 1980; SALO, 1992; OKA et al., 1996; NELSON u. LYSLE, 1998; MUNFORD u. PUGIN, 2001]. Die zentrale Voraussetzung einer Multiorgandysfunktion ist die Dysregulation essentieller Mediator- und Zellsysteme der körpereigenen Abwehr [FAIST et al., 1992 u. 1996].

Zudem ist das Risiko des Auftretens von Tumorrezidiven und Metastasierungen deutlich erhöht [TARPLEY et al., 1977; WALTON, 1979; WANG et al., 1980; BRÖCKER u. MACHER, 1981; TØNNESEN u. WAHLGREEN, 1988; SALO, 1992; BAUER et al., 1998; BRAND et al., 1998; BAR-YOSEF et al., 2001; OGAWA et al., 2003;]. Es besteht ein kausaler Zusammenhang zwischen chirurgiebedingtem Schmerz und der Beeinträchtigung der Immunfunktion sowie Metastasenentwicklung [PAGE, 2005].

In der Humanmedizin ist dieses Phänomen schon seit langer Zeit ein viel beachtetes Forschungsobjekt und Gegenstand zahlreicher Dissertationen. Im tiermedizinischen Bereich existieren weitgehend nur Studien an Labortieren.

Lediglich eine Dissertation aus dem Jahr 2006 untersucht die Auswirkungen von Anästhesie und Chirurgie auf das Immunsystem von Schweinen [GEIST, 2006]. FELSBURG et al. (1986) untersuchten die Proliferation von Hundelymphozyten nach Allgemeinanästhesie. Im Rinderbereich beurteilten EARLEY und CROWE (2002) sowie TING et al. (2003) die Auswirkungen verschiedener Kastrationsverfahren bei Bullen auf das Immunsystem unter Berücksichtigung unterschiedlicher Analgesietechniken.

Ansonsten wurden das Immunsystem und speziell die Leukozytensubpopulationen bei

Rindern weitgehend nur im Hinblick auf Viruserkrankungen (BIV, BLV, BVD; Rotavirus) und Parasitenbefall (Läuse, Theileria parva) untersucht [GODDEERIS et al., 1986; OLDHAM et al., 1993; SCHWARTZ et al., 1994; ZHANG et al., 1997; COLLEN et al., 2000; KOETS et al., 2002; MILNES et al., 2007]. Außerdem ist die Expression bestimmter Oberflächenantigene beim Rind untersucht [TANAKA et al., 2007]. Bei Katzen untersuchten DEAN et al. (1991) die T-Lymphozytenuntereinheiten. FALDYNA et al. (2001) befassten sich mit den Lymphozytensubpopulationen bei Hunden.

Die vorliegende Arbeit vergleicht zwei verschiedene Anästhesieverfahren hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf ausgewählte Immunparameter von Kälbern und untersucht, inwiefern ein chirurgischer Eingriff in Form einer Nabelbruchoperation eine Beeinflussung hervorruft.

Ziel soll es sein, eine Aussage darüber treffen zu können, welche Anästhesieform die geringere Immunsuppression zur Folge hat.

II. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Immunologische Folgen eines chirurgischen Eingriffs

2.1.1 Chirurgischer Stress

Auf chirurgische Eingriffe, bestehend aus Anästhesie und Gewebstrauma, reagiert der Organismus zum einen mit entzündlichen Reaktionen, zum anderen mit katabol-endokrinen, [KEHLET, 1989 und 2000; FOËX, 1999; BEILIN et al., 2003] sowie immunologischen Veränderungen.

Bei einem Trauma handelt es sich im engeren Sinn um eine Kombination aus Blutung, Gewebsverletzung, Angst und Schmerz [FOËX, 1999].

Der Aktivierung der neurohumoralen/neuroendokrinen Stressantwort wird bei Operationen die größte Bedeutung hinsichtlich der Immunsuppression zugeschrieben [BRAND et al., 1998; NELSON u. LYSLE, 1998; DELOGU et al., 2000; BAR-YOSEF et al., 2001; OGAWA et al., 2003; TING et al., 2003; KUROSAWA u. KATO, 2008]. Ihre Aktivierung kann über Schmerz, d.h. Stimulation von Nozizeptoren [GREISEN et al., 1999; MUNFORD u. PUGIN, 2001; PAGE, 2005], oder durch Angst, aber auch durch Hypovolämie - ausgelöst durch starken Blutverlust und damit verbundenen Verlust von Immunglobulinen, antigenproduzierenden Zellen oder Lymphokinen [FAIST et al., 1992; SALO, 1992; AOSASA et al., 2000]-, Hypoxie oder Azidose erfolgen [WALTON, 1979; BAUER et al., 1998].

Systemisch wirksame Mediatoren, die bei einer eintretenden Gewebsverletzung mit Zellzerstörung und Nekrose [YOKOYAMA et al., 2001; OGAWA et al., 2003] freigesetzt werden, wirken ebenfalls aktivierend auf die Stressantwort ein.

Die stressinduzierte Immunsuppression mit Beeinträchtigung der polymorphkernigen Zellen und Monozyten [WANG et al., 1980] beginnt bereits unter dem chirurgischen Eingriff [KAWASAKI et al., 2007].

Eine zentrale Rolle spielen hierbei die Glukokortikoide und Katecholamine, denen eine immunsuppressive Wirkung v.a. auf die zellvermittelte Immunität eigen ist [TARPLEY et al., 1977; WALTON, 1979; FAIST et al., 1996; NELSON u. LYSLE, 1998; DELOGU et al., 2001; AKBAS et al., 2002; OGAWA et al., 2003; TING et al., 2003]. Betroffen sind insbesondere die antigenabhängigen T-Zell-Funktionen [VOSE u. MOUDGIL, 1976; WANG et al., 1980; BRÖCKER u. MACHER, 1981; BRAND et al.,

1998]. Die Depression steht in proportionalem Verhältnis zum Grad des chirurgischen Stresses. Eine Bestimmung der zellulären Immunkompetenz ist über die Messung der funktionellen Lymphozytenuntereinheiten möglich.

In der Folge chirurgischer Eingriffe kommt es zunächst zu einer Aktivierung des unspezifischen Immunsystems unter Vermittlung des Komplementsystems [AOSASA et al., 2000] und zu einer verstärkten Proteolyse mit der Freisetzung von Anaphylatoxinen. Dies zieht eine Granulozytendegranulation mit Mediatorenfreisetzung (bspw. Histamin und Serotonin, toxische Sauerstoffradikale, Proteasen) und Aktivierung der Fibrinolyse nach sich. Histamin und Serotonin führen zu einer Stimulation der zytotoxischen Zellen [FAIST et al., 1992].

Gleichzeitig transportieren Makrophagen und Granulozyten nekrotisches Material ab und beseitigen so evtl. eingedrungene Mikroorganismen. Die von den phagozytären Zellen ausgeschütteten Mediatoren triggern die Immunantwort, indem sie zu einer Erhöhung der Lymphozytenadhäsion und Verstärkung der Chemotaxis führen [SALO, 1992]. Somit werden die Effektorzellen am Ort des Geschehens konzentriert [MUNFORD u. PUGIN, 2001], die Phagozytose angeregt und der Weiterverbreitung evtl. eingedrungener Erreger im Körper entgegengewirkt. Außerdem kommt es zur Bildung von Immunkomplexen und zur Aktivierung von Proteinkaskaden wie dem Komplementsystem, der Koagulation, Fibrinolyse und dem Kinin-Kallikrein-System [SALO, 1992; DIETZ et al., 2000; MUNFORD u. PUGIN, 2001; GRÄFE, 2004], die zu Vasodilatation, gesteigerter Kapillarpermeabilität, Verlust von Immunglobulinen und weiterer Proteine ins Gewebe führen [FAIST et al.; 1992]. Dies ist die Voraussetzung für den Erfolg der lokalen Wirtsabwehr [SALO, 1992]. V.a. die Monozyten/Makrophagen, die über die MHC-Expression die Verbindung zum spezifischen Immunsystem herstellen und den T-Zellen Antigene präsentieren, sezernieren Zytokine [FAIST et al., 1992; ROMEO et al., 2002; OGAWA et al., 2003]. Am Ort der Gewebsverletzung kommt es letztlich zu einer nichtbakteriellen lokalen Entzündung [FAIST et al., 1992; DIETZ et al., 2000; MUNFORD u. PUGIN, 2001], die sich bei kompliziertem Verlauf durch übermäßige Freisetzung suppressorischer Mediatoren systemisch ausbreiten und zu Organschäden führen kann.

Eine zu ausgeprägte Komplementaktivierung führt zu Leukostase, Endothelschäden und Schock [SALO, 1992].

Im weiteren Verlauf führt das operative Trauma und der damit einhergehende Gewebeschaden zu einer Desintegration der Monozyten-T-Zell-Interaktion [FAIST et al., 1992; WAKEFIELD et al., 1993; DIETZ et al., 2000] mit einer Veränderung der

Monozyten-Regulationsmechanismen, einer unzureichenden Aktivierung des erworbenen Immunsystems [KAWASAKI et al., 2007] und einer substantiellen Depression der T-Zell-Funktion.

Ein Teil der aktivierten Makrophagen, die sog. suppressoraktiven Makrophagen [WANG et al., 1980; FAIST et al., 1996], produziert in großen Mengen Prostaglandin E₂ (PGE₂) [PAGE, 2005], welches einen der stärksten Immunsuppressoren darstellt [WAKEFIELD et al., 1993; HAUPT et al., 1998]. Unter seinem Einfluss kommt es zu einer Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration, welches einerseits die Il-12 und IFN γ -Produktion hemmt, sowie die T-Zell-Mitogenese und somit die T-Zellproliferation [VOSE u. MOUDGIL, 1976; TARPLEY et al., 1977; BRÖCKER u. MACHER, 1981; WAKEFIELD et al., 1993; BAUER et al., 1998; LE CRAS et al., 1998; NELSON u. LYSLE, 1998; OGAWA et al., 2003; TING et al., 2003]. Andererseits beeinflusst PGE₂ die Il-2-Produktion, die Expression seines Rezeptors sowie die IgM-Synthese der B-Zellen und auch die Aktivität der NK-Zellen negativ [FAIST et al., 1996; SHIMAOKA et al., 1998; DIETZ et al., 2000; MELAMED et al., 2003]. PGE₂ führt gemeinsam mit dem durch ihn hervorgerufenen IFN γ -Mangel zu einer herabgesetzten Zahl von MHC-Klasse-II-Molekülen, und dadurch zu einer geringeren Antigen-Präsentation [SALO, 1992; FAIST et al., 1996; HAUPT et al., 1998; DIETZ et al., 2000]. Zudem kommt es zu einer reduzierten T-Lymphozytenproliferation mit nachfolgend eingeschränktem zytotoxischem Potential, sowie einem Mangel der Zytokinsynthese. Das für die ungestörte Makrophagen-T-Zell-Interaktion wichtige Il-1 wird ebenfalls in seiner Konzentration herabgesetzt [WAKEFIELD et al., 1993]. Die Produktion von Il-4 und Il-10 hingegen wird gesteigert, mit dem Ergebnis, dass nach schweren Traumata Th2-Helferzellen vorherrschen [LE CRAS et al., 1998; DIETZ et al., 2000; OGAWA et al., 2003; WADA et al., 2007]. Auch aktivierte Monozyten unterstützen bevorzugt die Entstehung von Th2-Zellen [FAIST et al., 1996; BAUER et al., 1998]. Auf diese Weise wird die humorale Immunabwehr positiv beeinflusst und trägt über verstärkte Antikörperproduktion zu einer erhöhten Wirtsabwehr bei [OGAWA et al., 2003]. Die zelluläre Abwehr hingegen wird geschwächt.

Zum größeren Teil trägt PGE₂ jedoch zur Aktivierung der zytotoxischen T-Zellen bei [FAIST et al., 1996] bei gleichzeitig verminderter Il-1, Il-8 und IFN γ -Produktion.

Il-12, welches durch PGE₂ gehemmt wird, würde im Gegenzug die Differenzierung zu Th1-Zellen anregen und somit die zelluläre Immunität durch verstärkte Phagozytose, verbesserte Antigen-Präsentation und Fc-Rezeptor-Expression fördern [FAIST et al.,

1996; LE CRAS et al., 1998; OGAWA et al., 2003].

Außerdem kommt es unter PGE-Einfluss zur Verstärkung der Entzündungsreaktion und generell wird die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie Il-6 und TNF angeregt [PAGE, 2005].

2.1.2 Hormoneinfluss

Kurz nach Beginn chirurgischer Eingriffe kommt es über die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) zu einem steilen Anstieg der Kortisolkonzentration im Blut. Ausgelöst wird dieser Anstieg durch die schmerz- oder entzündungsbedingte Erhöhung der Corticotropin-Relasing-Hormon (CRH) -Freisetzung aus dem Hypothalamus infolge des Traumas, mit nachfolgender Ausschüttung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus der Hypophyse und daraus resultierender Exkretion von Kortisol aus der Nebennierenrinde [EARLEY u. CROWE, 2002]. Dieses wirkt sich v.a. innerhalb der ersten 24 Stunden postoperativ - synergistisch mit PGE - hemmend auf die Immunzellen aus [REM et al., 1980; BRÖCKER u. MACHER, 1981; FELSBURG et al., 1986; MATTLA-VUORI et al., 2000; OGAWA et al., 2003; KAWASAKI et al., 2007]. Später erfüllt es jedoch mitunter auch eine stimulierende Funktion [BRÖCKER u. MACHER, 1981; BAUER et al., 1998].

Kortisol schwächt insbesondere die Funktionen der Granulozyten [BAR-YOSEF et al., 2001], und bewirkt über Hormonrezeptoren auf den Lymphozyten eine Granulozytose und Lymphopenie [GREISEN et al., 1999], unterdrückt die Produktion proinflammatorischer Zytokine - besonders TNF- α , sowie Il-1/2 - [HØGEVOLD et al., 2000], steigert die Produktion des antiinflammatorischen Zytokins Il-10 [KAWASAKI et al., 2007] und verringert die lymphozytäre Blastogenese. Die Glukokortikoidaktivierung stellt die langfristige Reaktion des Körpers auf chirurgischen Stress dar [NELSON u. LYSLE, 1998; GRÄFE, 2004; RIONDATO et al., 2008].

Akut reagiert der Organismus auf eine Stresssituation mit der Sekretion von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark [GRÄFE, 2004; RIONDATO et al., 2008]. Die Aktivierung erfolgt über β -adrenerge Rezeptoren des sympathischen Nervensystems [NELSON u. LYSLE, 1998; MUNFORD u. PUGIN, 2001]. Die Blutkonzentrationen steigen unter der Operation stark an, erreichen aber bereits innerhalb von zwei Tagen wieder ihre Ausgangswerte [OGAWA et al., 2003]. Sie nehmen v.a. auf die Chemotaxis der Neutrophilen einen hemmenden Einfluss [GRÄFE,

2004], sowie auf die Aktivität der Natürlichen Killerzellen [RIONDATO et al., 2008] und reduzieren auch die B- und T-Zellproliferation [NELSON u. LYSLE, 1998; OGAWA et al., 2003].

Unter dem Hormoneinfluss kommt es zudem zu einer Lymphozytenumverteilung [SALO, 1992; TOFT et al., 1993] mit vermehrtem Übertritt von Leukozyten aus dem marginalen in den zentralen Pool [PAGE, 2005; RIONDATO et al., 2008] sowie zu einem verminderten Lymphozytenfluss [TING et al., 2003] und häufig auch zu einem Absinken der totalen Lymphozytenzahl mit der Folge einer Einschränkung der Phagozytosefähigkeit [WALTON; 1979; DAHANUKAR et al., 1996; SHIMAOKA et al., 1998; SHORT et al., 2006]. Nachteilig wirken sich diese Beeinträchtigungen der Immunabwehr jedoch nur bei bereits immunsupprimierten Individuen aus. Das größte Risiko, eine Sepsis zu entwickeln, besitzen anergische Patienten und solche mit, evtl. schon präoperativ bestehender, schwerwiegender Depression der T-Lymphozytenproliferation [SALO, 1992].

Nach großen chirurgischen Eingriffen kommt es in der frühen postoperativen Phase jedoch kurzfristig zu einer gesteigerten Lymphozytenaktivierung ($CD4^+ > CD8^+$) mit nachfolgender Anergie oder Apoptose der Zellen [SHIMAOKA et al., 1998].

2.1.3 Zytokinfreisetzung und -wirkung

2.1.3.1 Proinflammatorische Zytokine

Letztlich kommt es in der Folge der lokalen Gewebsverletzung auch zu einer massiven Aktivierung inflammatorischer Zytokine [SALO, 1992; FOËX, 1999; DELOGU et al., 2001; ROMEO et al., 2002; OGAWA et al., 2003] und v.a. aufgrund ihres Einflusses dann zu einer lokalen Entzündungsreaktion [MUNFORD u. PUGIN, 2001; PAGE, 2005], welche wiederum die systemische Antwort triggert. Besonders von Bedeutung sind hierbei Tumornekrosefaktor α und β , sowie Interleukin-1, 6 und 8 [MUNFORD u. PUGIN, 2001].

TNF α wird als eines der ersten Zytokine nach einem Trauma aktiviert. Auslöser scheint hierfür v.a. der Eintritt einer Blutung zu sein [FOËX, 1999]. Seine Produktion ist proportional zum Schweregrad des chirurgischen Stresses [AOSASA et al., 2000; LEE et al., 2003]. Er steuert die lokale Margination und Einwanderung von Neutrophilen und aktiviert Akute-Phase-Proteine. Zudem stellt er einen Hauptaktivator der zellulären Apoptose dar [DELOGU et al., 2000]. In hohen Konzentrationen führt er zu

Hypotension und Schocksymptomatik und korreliert somit mit der Erhöhung der Mortalität [SALO, 1992; LEE et al., 2003].

Il-1 bewirkt eine Stimulation der Akuten-Phase-Antwort, des Proteinstoffwechsels, des Gerinnungssystems und der T-Helferzellen [SALO, 1992]. Die CD4-positiven Zellen produzieren hierauf bei normalem Ablauf der zellvermittelten Immunantwort selbst vermehrt Il-2 und regen somit eine weitere T-Zell-Proliferation an [FAIST et al., 1996].

Il-6 stellt den zentralsten Mediator mit Wirkung auf den Hypothalamus dar [MUNFORD u. PUGIN, 2001] und wird als zuverlässiger Marker für die Schwere eines traumatischen Insults angesehen [HAUPT et al., 1998; AOSSA et al., 2000]. Durch seine Bestimmung lässt sich eine Prognose über ein mögliches schlechtes postoperatives „outcome“ des Patienten abgeben [AOSASA et al., 2000; HILDEBRAND et al., 2005]. Auch eine frühe Erhöhung der Il-8-Werte weist auf eine Komplikationsentwicklung hin.

Il-6 steigt unmittelbar nach der OP stark an [OGAWA et al., 2003], bleibt für ca. 4 Stunden erhöht [HØGEVOLD et al., 2000] und sinkt daraufhin mit zunehmender Monozytenaktivierung wieder kontinuierlich ab [HAUPT et al., 1998]. Es stimuliert gemeinsam mit TNF und Il-1 verschiedene Komponenten der HPA-Achse [HØGEVOLD et al., 2000]. Zudem ist es der Hauptmediator, welcher Hepatozyten zur Produktion von Akute-Phase-Proteinen anregt [OGAWA et al., 2003].

In erster Linie stellen die Aktivierung der proinflammatorischen Mechanismen und die Veränderungen der Immunantwort infolge Anästhesie und Chirurgie einen wichtigen Stimulus für die physiologischen Reaktionen des Körpers als Antwort auf eine Verletzung oder Infektion dar [SALO, 1992; HØGEVOLD et al., 2000; MUNFORD u. PUGIN, 2001; BREIDTHARDT, 2003; TING et al., 2003]. So sorgen sie dafür, dass schädigende Mikroorganismen bereits am Eintrittsort abgetötet werden und spielen zudem eine wichtige Rolle im Wundheilungsprozess. Sie steigern jedoch auch das Schmerzempfinden [BEILIN et al., 2003]. Die proinflammatorischen Zytokine sind normalerweise am Tag des Traumas erhöht und sinken bei unkomplizierten Verläufen in den folgenden 48 Stunden stetig wieder ab.

Bei lokaler Überproduktion nach einem massiven Trauma können die inflammatorischen Zytokine das Immunsystem jedoch auch negativ beeinflussen [PAGE, 2005], eine systemische Wirkung entfalten und so zu einer allgemeinen Hyperinflammation (systemic inflammatory response syndrome; SIRS) mit starker Organschädigung bis hin zum frühen Multiorganversagen führen („one-hit“-Theorie) [FOËX, 1999; AOSASA et al., 2000; HILDEBRAND et al., 2005].

Bei anderen Patienten kann es infolge eines zweiten Insults zu einem erneuten Anstieg der Zytokinproduktion („two-hit“-Theorie) kommen. Dies kann bspw. bei der chirurgischen Versorgung eines Knochenbruchs wenige Tage nach dem auslösenden Trauma der Fall sein. Hier wird die bereits bestehende Entzündungsantwort getriggert und Lymphozyten reaktiviert [AOSASA et al., 2000]. Dies endet dann in einer Immunsuppression/-paralyse mit dem möglichen Ergebnis eines verzögerten/späten Multiorganversagens (MOF) [FOËX, 1999; HILDEBRAND et al. 2005].

Begünstigend für eine Sepsisentwicklung ist die Herabsetzung der Antikörperproduktion, Komplementaktivität, Neutrophilenfunktion und zu einem großen Anteil die Störung der zellulären Immunantwort [WANG et al., 1980].

2.1.3.2 Antiinflammatorische Zytokine

Gegenregulatorisch werden antiinflammatorische Mechanismen in Gang gesetzt, die eine überschießende systemische Entzündungsreaktion und damit eine evtl. Schädigung unbeteiligter Gewebe oder Organe verhindern sollen. Dieses natürliche Schutzsystem kann jedoch bei zu starker Aktivität auch eine immunsuppressive oder gar immunparalytische Wirkung entfalten und dann die Vermehrung und das Überleben von Mikroorganismen, sowie deren Übertritt durch zerstörte Epithelien ermöglichen [SALO, 1992; DELOGU et al., 2001; MUNFORD u. PUGIN, 2001; TING et al., 2003]. Charakteristischerweise kommt es zur gesteigerten Il-10 [KAWASAKI et al., 2007] und Il-1-Rezeptor-Antagonist-Produktion [FOËX, 1999]. Außerdem werden Parasympathikus und Thermoregulationszentren aktiviert [MUNFORD u. PUGIN, 2001].

Il-10 korreliert sowohl mit der Verletzungsschwere als auch mit der Entwicklung posttraumatischer Komplikationen und deren Schwere sowie dem Ausmaß der Lymphozytenapoptose [DELOGU et al., 2001; HILDEBRAND et al., 2005].

Neben Il-10 spielen auch transformierende Wachstumsfaktoren (TGF) eine Rolle. Sie hemmen die Makrophagenaktivierung und fördern die Entwicklung von B-Lymphozyten zu Immunglobulin-produzierenden Plasmazellen.

2.1.3.3 Zusammenwirken der Zytokine

Normalerweise befinden sich diese pro- und antiinflammatorischen Mechanismen im Gleichgewicht und kontrollieren sich gegenseitig. In der Folge eines chirurgischen

Eingriffes kommt es jedoch häufig zu einer Veränderung der Zytokinproduktion und damit zu einer Störung der Kooperation der Immunzellen untereinander [PAGE, 2005]. Sehr ausgedehnte Gewebsverletzungen führen über eine TNF α -Überproduktion und nachfolgende Hyperfunktion der Phagozyten [LEE et al., 2003] zu einer starken initialen Makrophagenaktivierung mit rascher Überlastung der Kapazität der unspezifischen Abwehr. Der Organismus entlässt dann unreife Makrophagen mit eingeschränkter Aktivität in die Zirkulation [WAKEFIELD et al. 1993]. Diese schütten in großen Mengen proinflammatorische Zytokine aus, zeichnen sich durch eine Dysfunktion/Hyporesponsivität aus, exprimieren in stark reduziertem Umfang MHC-II-Moleküle und zeigen letztlich häufig eine Paralyse [MUNFORD u. PUGIN, 2001; KAWASAKI et al., 2007]. So unterbleibt eine Aktivierung des spezifischen Immunsystems [FAIST et al., 1992; SALO, 1992; HAUPT et al., 1998; BREIDTHARDT, 2003] und die antigenspezifische Lymphozytenproliferation sowie die Lymphozytenfunktionen und die Antikörperproduktion sind deutlich herabgesetzt [VOSE u. MOUDGIL, 1976; WANG et al., 1980; HAUPT et al., 1998]. Dieser Zustand wird auch als Anergie bezeichnet. Je länger er andauert, desto höher ist das Risiko postoperativer infektiöser Komplikationen [FAIST et al., 1992]. Der Grad der Nicht-Ansprechbarkeit und das zeitliche Ausmaß korrelieren hierbei v.a. mit dem Grad der Verletzungsausdehnung.

Das Versagen inhibitorischer oder anderer Feedbackmechanismen resultiert also in einer unkontrollierten Mediatorenaktivierung und mündet dann in einer gegensätzlichen Reaktion mit Komplikationsentwicklung wie bspw. eines Multiorganversagens [SALO, 1992; DELOGU et al., 2000].

Die MHC-II-Expression erreicht bei unproblematischem postoperativem Verlauf laut WAKEFIELD et al. (1993) nach 5 Tagen, bei Komplikationsentwicklung erst nach 7 Tagen wieder ihre präoperativen Ausgangswerte.

2.1.4 Zusammenfassung der Effekte chirurgischen Stresses auf das Immunsystem

Als Fazit lässt sich festhalten: Bei der Antwort des Körpers auf chirurgische Stresseinwirkung handelt es sich um eine komplexe Interaktion verschiedener endogener Systeme - Nervensystem, endokrine Systeme, Immunsystem [NELSON u. LYSLE, 1998; DELOGU et al., 2000; OGAWA et al., 2003]. Besondere Bedeutung kommt der gegenseitigen Beeinflussung von neuroendokrinem System und Immunsystem zu [BRAND et al., 1998; YOKOYAMA et al., 2001; BEILIN et al.,

2003; KAWASAKI et al., 2007]. Außerdem spielt das Ausmaß der hormonellen Stressantwort und die nachfolgende Entzündungsantwort eine Rolle [KEHLET, 1989 u. 2000], ebenso wie das Zusammenspiel zwischen lokaler Immunreaktion und systemischer Antwort [SALO, 1992].

Die Antwort des Organismus auf den chirurgischen Stress soll einerseits der Wiederherstellung der Homöostase dienen [BREIDTHARDT, 2003], unterdrückt andererseits aber die Immunozytenfunktion [OGAWA et al., 2003]. Dies führt zu einer transienten Hyporesponsivität der Immunzellen gegenüber Endotoxin [KAWASAKI et al., 2007] und zusätzlich zu einer vorübergehenden, zwei bis 3 Wochen andauernden, Reduktion oder gar zum völligen Ausfall einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp [SALO, 1992; MARKOVIC et al., 1993; HAUPT et al., 1998; NELSON u. LYSLE, 1998; SHORT et al., 2006].

Als mögliche endogene Ursachen für die peri- und postoperative Immunsuppression, die häufig komplex zusammenhängen, werden angenommen: die Gewebsverletzung, die zur Schädigung mechanischer und chemischer Schutzbarrieren der Körperoberfläche führt und somit das Eindringen von Mikroorganismen erleichtert; die endokrine Stressantwort und die Anästhesie selbst [GRÄFE, 2004]. Eine getrennte Untersuchung dieser Einflüsse auf das Immunsystem ist nahezu unmöglich.

Sicher scheint jedoch zu sein, dass die postoperativen Veränderungen der zellulären Immunität nicht alleine durch die erhöhten Hormonkonzentrationen erklärbar sind, sondern wahrscheinlich mehr vom Trauma, welches durch die OP ausgelöst wurde, abhängen [BRÖCKER u. MACHER, 1981; KRESS u. EBERLEIN, 1992; WADA et al., 2007]. Je ausgedehnter und damit schwerer das Gewebstrauma ist, desto ausgeprägter fällt die postoperative Suppression der Lymphozytenaktivität aus [BRÖCKER u. MACHER, 1981; AOSASA et al., 2000; BAR-YOSEF et al., 2001; VALLEJO et al., 2003].

Zudem spielt die Dauer der Eingriffe eine Rolle [WALTON, 1979; SALO, 1992; NELSON u. LYSLE, 1998; DIETZ et al., 2000; MUNFORD u. PUGIN, 2001; BREIDTHARDT, 2003; HILDEBRAND et al., 2005; PAGE, 2005; SHORT et al., 2006;].

Es besteht eine direkte Korrelation zwischen der Schwere und Dauer der Eingriffe und dem Risiko, dass die Patienten postoperativ Komplikationen in Form von Infektionen oder gar Sepsis entwickeln [WANG et al., 1980; MUNFORD u. PUGIN, 2001].

Abhängig von der Schwere des chirurgischen Eingriffes vermindert sich auch die Chemotaxis der Immunzellen [NELSON u. LYSLE, 1998].

Bei kleinen Eingriffen ist die Lymphozytenmigration meist ungestört [KEHLET, 2000; MATTILA-VUORI et al., 2000] und es ist sogar eher eine Stimulation der Immunantwort zu beobachten [ROMEO et al., 2002]. Es findet eine effektive Infektionsabwehr statt und meist ist nur die lokale Entzündungsreaktion wirklich sichtbar, während die systemische Antwort unbemerkt und schwach ausgeprägt im Hintergrund abläuft [SALO, 1992]. Es kommt normalerweise auch zu keiner massiven Erhöhung der Kortisolkonzentration.

Im Hinblick darauf wurde in zahlreichen Studien an Labortieren und auch im humanen Bereich untersucht, inwiefern minimal invasive Operationstechniken wie bspw. Laparoskopien das Immunsystem beeinflussen. Alle kommen zu dem Ergebnis, dass solche Operationen aufgrund der Geringfügigkeit des Gewebstraumas, dem damit verbundenen geringeren Schmerz, der letztlich reduzierten chirurgischen Stressantwort und verminderten lokalen Entzündungsreaktion geringere postoperative suppressive Auswirkungen auf das Immunsystem zu beobachten sind, [SALO, 1992; KEHLET, 1989 u. 2000; PAGE, 2005; DUCHENE et al., 2008;] als dies bei chirurgischen Verfahren mit großflächiger Gewebsverletzung der Fall ist [LEE et al., 2003].

Eine Anästhesie mit einem nachfolgenden schweren chirurgischen Eingriff hingegen besitzt ein deutlich höheres Potential, das Immunsystem nachteilig zu beeinflussen [NELSON u. LYSLE, 1998; ROMEO et al., 2002].

Nebenbei spielt der allgemeine Gesundheitszustand des Patienten hinsichtlich der möglichen Immunsuppression eine Rolle. Bei Neugeborenen oder älteren Patienten, solchen mit malignen Erkrankungen oder bakteriellen Infektionen sind die immunologischen Veränderungen häufiger mit negativen Ereignissen im postoperativen „outcome“ behaftet als bei völlig Gesunden [WALTON, 1979; BRÖCKER u. MACHER, 1981; KÄBISCH et al., 1986; FAIST et al., 1992; KRESS u. EBERLEIN, 1992; SALO, 1992; BRAND et al., 1998; PAGE, 2005]. Ebenso haben der Einsatz bestimmter Medikamente, Hypothermie und im humanmedizinischen Bereich auch die Verwendung von Bluttransfusionen, die eine erhöhte Inzidenz postoperativer Infektionen nach sich zieht, einen Einfluss [WALTON, 1979; SALO, 1992; YOKOYAMA et al., 2001; VALLEJO et al., 2003; WADA et al., 2007].

Zumindest beim Menschen scheint auch die Lokalisation der Verletzung eine Rolle zu spielen. So weisen Patienten nach Gliedmaßenoperationen geringere Werte an proinflammatorischen Zytokinen auf als solche mit Abdomen- oder Thorax-OPs [HILDEBRAND et al., 2005].

In Folge eines ausgedehnten Traumas kann es auch zu einem hypovolämischen/hämorrhagischen Schock mit nachfolgender Hypoperfusion und Gewebsischämie kommen [FAIST et al., 1992; SALO, 1992]. Dadurch wird die neuroendokrine Antwort verstärkt und es werden weitere Immunmediatoren freigesetzt. Infolge eines Schocks wird v.a. die Darmdurchblutung herabgesetzt und es kommt zu einer Erhöhung der Durchlässigkeit der Darmschranke für Bakterien und Endotoxine [SALO, 1992; FOËX, 1999]. Dies regt wiederum zu einer verstärkten Produktion von Entzündungsmediatoren an - u.a. von Zytokinen in der Leber - mit der Folge einer Unterdrückung der zellulären Immunabwehr. Dies führt dann letztlich zu einer systemischen Entzündungsreaktion, die unter Umständen im Multiorganversagen enden kann.

2.1.5 Veränderungen des Leukozytogramms

Postoperative Veränderungen der Leukozyten umfassen eine ausgeprägte Leukozytose mit Neutrophilie, sowie eine mehr oder weniger schwerwiegend ausgeprägte transiente absolute Lymphopenie [REM et al., 1980; FAIST et al., 1992; SALO, 1992; TOFT et al., 1993; OKA et al., 1996; MARKOVIC u. MURASKO, 1997; SHIMAOKA et al., 1998; GREISEN et al., 1999; OGAWA et al., 2003; TING et al., 2003; PAGE, 2005; KAWASAKI et al., 2007]. REM et al. (1980) halten jedoch fest, dass eine Narkose alleine nicht ausreicht, um eine Leukozytose mit Neutrophilie auszulösen. FELSBURG et al. (1986) stellten 24 Stunden postoperativ jedoch eine absolute Lymphozytose fest.

Die Migrationsfähigkeit, Chemotaxis und Phagozytosefähigkeit der Neutrophilen sind postoperativ für einige Stunden bis Tage reduziert [REM et al., 1980; FAIST et al., 1992; SALO, 1992; ROMEO et al., 2002; KAWASAKI et al., 2007].

Die natürlichen Killerzellen zeigen während des chirurgischen Eingriffes und unmittelbar postoperativ eine Steigerung der Aktivität [TØNNESEN u. WAHLGREEN, 1988; SALO, 1992; BAUER et al., 1998; GREISEN et al., 1999; MATTILA-VUORI et al., 2000; YOKOYAMA et al., 2001]. Später sind jedoch sowohl ihre Zahl als auch ihre zytotoxische Aktivität und damit ihre Phagozytoseleistung vermindert [FAIST et al., 1992; SALO, 1992; MARKOVIC et al., 1993; WAKEFIELD et al., 1993; BRAND et al., 1998; LE CRAS et al., 1998; NELSON u. LYSLE, 1998; SHIMAOKA et al., 1998; BAR-YOSEF et al., 2001; OGAWA et al., 2003; PAGE, 2005]. Erklärt wird die anfängliche Aktivitätssteigerung mit der positiven Wirkung von Adrenalin auf die Natürlichen Killerzellen. Die spätere Minderung wird dem Einfluss des Kortisols zugeschrieben [TØNNESEN u. WAHLGREEN, 1988; GREISEN et al., 1999]. Dadurch

erklärt sich dann das vermehrte Auftreten von Tumorrezidiven und Metastasierungen nach Operationen [LIU et al., 1995; MELAMED et al., 2003; VALLEJO et al., 2003; PAGE, 2005; WADA et al., 2007].

Zudem kommt es meist zu einer ausgeprägten Monozytose [FAIST et al., 1992; SALO, 1992; DIETZ et al., 2000; KAWASAKI et al., 2007]. Die chemotaktische Motilität, Verdauungskapazität und Lysozymproduktion der Makrophagen sind unmittelbar postoperativ erhöht, sinken aber anschließend rasch wieder ab [SALO, 1992; PAGE, 2005].

Die totale Anzahl der CD4⁺-Zellen sinkt deutlich ab [COSTA et al., 1989; FAIST et al., 1992; MARKOVIC u. MURASKO, 1997; BAUER et al., 1998; DELOGU et al., 2001; AKBAS et al., 2002; OGAWA et al., 2003].

Die B-Zellproliferation wird durch zusätzliche Chirurgie zwar stärker beeinflusst als durch eine Anästhesie alleine [WALTON, 1979; NELSON u. LYSLE, 1998], generell wird die humorale Seite der spezifischen Immunität während Operationen jedoch besser aufrecht erhalten als die T-Zellabwehr [SALO, 1992] und erfährt manchmal sogar eine Steigerung mit vermehrter Antikörperproduktion [NELSON u. LYSLE, 1998]. Die Verteilung der T- und B-Lymphozyten verschiebt sich mit zunehmendem Ausmaß des chirurgischen Eingriffes zugunsten der B-Lymphozyten [SALO, 1992].

Die CD8⁺ T-Zellen zeigen in den gesichteten Studien Unterschiede im postoperativen Verhalten. Es werden sowohl geringgradige Abfälle [SALO, 1992; AKBAS et al., 2002], als auch deutliche Anstiege [NELSON u. LYSLE, 1998; YOKOYAMA et al., 2001; OGAWA et al., 2003] oder unveränderte postoperative Werte [TØNNESEN u. WAHLGREEN, 1988; COSTA et al., 1989; DIETZ et al., 2000; DELOGU et al., 2000 u. 2001] beschrieben. Erhöhte CD8-Werte sollen eine zusätzliche Suppression der NK-Zell-Aktivität auslösen [MELAMED et al., 2003; VALLEJO et al., 2003]. In einigen Studien kommt es unmittelbar postoperativ zu einem Anstieg der CD8-Subpopulation. Ihre Zahl sinkt jedoch rasch wieder auf präoperative Werte.

Infolge des Absinkens der CD4⁺-Zellen und häufig unveränderter CD8⁺ T-Zellkonzentrationen kommt es zu einer - mitunter nicht signifikanten- Absenkung der CD4⁺/CD8⁺-Ratio [FAIST et al. 1992; WAKEFIELD et al., 1993; SHIMAOKA et al., 1998; YOKOYAMA et al., 2001]. Allgemein hin wird eine Absenkung der Ratio als Hinweis auf ein erhöhtes postoperatives Komplikationsrisiko gewertet. SALO (1992) behauptet jedoch, dass dieser Wert nur eine geringe bis gar keine klinische Korrelation besitzt. KÖCHLING (2003) kam in ihrer Dissertation zu dem Ergebnis, dass keine Korrelation zwischen einem erniedrigten CD4⁺/CD8⁺-Verhältnis und der Entwicklung

postoperativer Komplikationen bei HIV-Patienten besteht. Sie weist jedoch darauf hin, dass in diesem Bereich noch weitergehende Untersuchungen notwendig sind, um die Aussagekraft des $CD4^+/CD8^+$ -Quotienten vollständig zu klären. Zudem erwähnt sie, dass man in der Literatur einerseits Aussagen antrifft, die besagen, dass es eine Korrelation zwischen präoperativ erniedrigten CD-Werten und postoperativen Komplikationen gibt. Andererseits gibt es auch Vertreter, die keinen Zusammenhang sehen.

2.1.6 Ursachen der Lymphopenie

Über die Ursache der postoperativen Lymphopenie existieren verschiedene Hypothesen. DIETZ et al. (2000) gehen davon aus, dass die in der Zirkulation befindlichen Lymphozyten infolge der operationsbedingten Aktivierung des Immunsystems rasch aufgebraucht werden und das Knochenmark nicht schnell genug neue reife Zellen nachliefern kann.

Andere Autoren nehmen an, dass es zu einer Umverteilung der Lymphozyten aus dem Blutstrom ins lymphatische Gewebe mit Lymphozytensequestration kommt [TOFT et al., 1993; SHIMAOKA et al., 1998].

Eine weitere Theorie verfolgt den Ansatz, dass es postoperativ aufgrund der unregulierten Aktivierung apoptotischer Prozesse zum verstärkten, Fas-medierten Lymphozytentod kommt [OKA et al., 1996; DELOGU et al., 2000], wobei die $CD8^+$ -Zellen eher von der Apoptose als die $CD4^+$ -Zellen betroffen sind und für die Erhöhung der Infektanfälligkeit verantwortlich sein sollen. Auch diese Veränderungen sollen jedoch nur eine transiente Erscheinung sein, mit den höchsten Zelltodraten innerhalb 24 Stunden postoperativ [OKA et al., 1996] und Rückkehr zu präoperativen Werte innerhalb von 96 Stunden [DELOGU et al., 2000].

Um den Lymphozytenmangel allein mit einer Hämodilution zu erklären, wären massive intraoperative Blutverluste und Volumensubstitution mittels Infusionslösungen erforderlich.

Zu deutlichen Veränderungen der Lymphozytenzahlen kommt es allerdings nur bei ausgedehnten Operationen. Bei kleineren oder moderaten Eingriffen bleiben die absoluten Konzentrationen meist unverändert. Eine Rückkehr zu präoperativen Leveln findet innerhalb weniger Tage statt [SALO, 1992].

2.1.7 Dauer der Blutbildveränderungen

Hinsichtlich dem Andauern der Veränderungen werden in der Literatur Spannen zwischen vier und acht Tagen angegeben [WANG et al., 1980; ROMEO et al., 2002; SHORT et al., 2006].

FELSBURG et al. (1986) berichten von einer deutlichen Suppression caniner Lymphozyten innerhalb der ersten vier Stunden nach einer Narkose. Vier Tage nach der Anästhesie befand sich zumindest die mitogene Ansprechbarkeit wieder auf dem Ausgangslevel.

TØNNESEN u. WAHLGREEN (1988) kommen zu dem Ergebnis, dass die Natürlichen Killerzellen lediglich einen Tag in ihrer Funktion eingeschränkt sind und bereits zwei Tage postoperativ wieder ihre Ausgangswerte erreicht haben. NELSON u. LYSLE (1998) unterstützen diese Ergebnisse. Die Suppression der T-Zellen dauert vier Tage an und die Kontrollwerte sind am achten postoperativen Tag wieder erreicht. Dies wird auch von OKA et al. (1996) sowie SHIMAOKA et al. (1998) berichtet. Nur die B-Zellen sind längere Zeit in ihrer Funktion eingeschränkt. Die meisten Autoren gehen davon aus, dass die chirurgiebedingten Veränderungen mindestens drei Tage andauern.

OGAWA et al. (2003) nehmen eine länger währende Suppression der zellulären Immunität von mindestens zwei Wochen an. BRÖCKER und MACHER (1981) berichten gar von einer dreiwöchigen postoperativen Immunsuppression.

LIU et al. (1995) erwähnen, dass bei bereits präoperativ immunsupprimierten Patienten die Immunveränderungen länger als bei gesunden Personen andauern.

2.2 Rolle der Anästhesie bei der postoperativen Immunsuppression

Welchen Einfluss die Anästhesie selbst auf das Immunsystem hat, darüber existieren recht kontroverse Meinungen. In früheren Jahren ging man noch häufig von einer untergeordneten Rolle der Anästhesie als Ursache der postoperativen Immunsuppression aus [WALTON, 1979; WANG et al., 1980]. In den letzten 20 Jahren kommt jedoch die Mehrzahl der Studien zu dem Ergebnis, dass auch sie alleine schon zu einer Beeinträchtigung der Immunabwehr führt [KÄBISCH et al., 1986; WAKEFIELD et al., 1993; BRAND et al., 1998; NELSON u. LYSLE, 1998; MELAMED et al., 2003; VALLEJO et al., 2003; KUROSAWA u. KATO, 2008].

NELSON und LYSLE (1998) sind sogar der Meinung, dass die Veränderungen der Immunabwehr innerhalb der ersten 12 Stunden postoperativ zum überwiegenden Teil der Narkose zuzuschreiben sind. Die Auswirkungen der Chirurgie sollen sich erst nach 24 Stunden zeigen.

Da der genaue Wirkmechanismus der meisten Anästhetika, mit Ausnahme der Opioide, noch nicht bekannt ist, wird es problematisch, Veränderungen in den immunologischen Parametern allein auf die eingesetzten Mittel zurückzuführen. Zudem werden häufig Anästhetikakombinationen eingesetzt, so dass es zu sehr komplexen Reaktionen kommt, die nicht auf ein Anästhetikum allein zurückgeführt werden können und somit eine Interpretation schwierig machen.

2.2.1 Direkter Einfluss von Anästhetika auf das Immunsystem

Durch die direkte immunmodulatorische Wirkung verschiedener Anästhetika [VOSE u. MOUDGIL, 1976; WALTON, 1979; WAKEFIELD et al., 1993] werden Immunfunktionen wie bspw. die Chemotaxis, die Zelladhärenz, die Phagozytosefähigkeit und die lysosomalen Funktionen der Zellen der unspezifischen Abwehr - v.a. der Natürlichen Killerzellen und Makrophagen - beeinträchtigt [BRÖCKER u. MACHER, 1981; SALO, 1992; MARKOVIC u. MURASKO, 1997; BRAND et al., 1998; MELAMED et al., 2003; CHANG et al., 2005; KUROSAWA u. KATO, 2008] oder die monozytäre Zytokinantwort beeinflusst [BAUER et al., 1998; DELOGU et al., 2001]. Teilweise kommt es auch zu einer Reduktion der Immunzellzahl bspw. der NK-Zellen [MELAMED et al., 2003].

BRUCE war bereits 1973 der Überzeugung, dass sich Anästhetika sowohl akut als auch chronisch auf die Leukozytenaktivität auswirken und zu einer reversiblen Mitosesuppression führen. Spätere Studien unterstützen seine These [WALTON, 1979; BRÖCKER u. MACHER, 1981] und weisen darauf hin, dass dieser Effekt durch Störung des Zellzyklus zur Eindämmung eines möglichen Tumorwachstums auch positiv genutzt werden kann [PAGE, 2005].

Manche Anästhetika wirken hemmend auf das hämatopoetische Gewebe ein, wobei massive Veränderungen in Form einer Knochenmarksdepression nur bei einer Langzeitexposition auftreten und die Immunantwort erst bei sehr hohen Dosen, die deutlich über den klinisch angewandten liegen, negativ beeinflusst wird [KRESS u. EBERLEIN, 1992; SALO, 1992; KAWASAKI et al., 2007; KUROSAWA u. KATO, 2008]. Es findet v.a. eine Interaktion mit den Präcursorzellen im Knochenmark statt, mit

der Folge eines Neutrophilendefizits [BRUCE, 1973; WALTON, 1979]. Einige Anästhetika wirken auch geradezu toxisch auf die Leukozyten oder führen zu deren Umverteilung im Gewebe.

SANCHEZ et al. (2004) betrachteten die Auswirkungen unterschiedlicher Muskelrelaxantien (Succinylcholin, Cisatracurium, Vecuronium) auf humane Lymphozyten und wiesen eine messbare Lymphopenie mit einer Reduktion v.a. der CD4⁺-Zellen und des IgE durch die eingesetzten Anästhetika nach.

Ketamin kann die proinflammatorische Zytokinproduktion der Makrophagen durch Reduktion des mitochondrialen Membranpotentials supprimieren [CHANG et al., 2005] und beeinflusst die Natürliche Killerzellaktivität sehr stark negativ [MELAMED et al., 2003].

2.2.2 Anästhesie und Analgesie

Eine gut ausbalancierte Allgemeinanästhesie reduziert den Schmerz und die Nervosität bei operativen Eingriffen effektiv. Dadurch kommt es zu einer geringfügigeren Aktivierung der neurohumoralen Stressantwort mit geringeren Kortikosteroid- und/oder Katecholamin-konzentrationen und einem besseren „outcome“ der Patienten [BAUER et al., 1998]. Es treten keine ausgeprägt negativen Effekte hinsichtlich der Lymphozytenproliferation auf [TØNNESEN u. WAHLGREEN, 1988; SALO, 1992]. Zudem wird die Homöostase besser aufrechterhalten und somit die endokrine und metabolische Antwort, die Oxygenierung, Ventilation und Gewebsdurchblutung [SALO, 1992; SHORT et al., 2006].

Durch die Wahl der schonendsten Anästhesietechnik und den Einsatz peri- und postoperativer Analgesie kann das Ausmaß der chirurgiebedingten Immunsuppression und das Risiko infektiöser postoperativer Komplikationen durch Verringerung der Entzündungsreaktion deutlich eingedämmt werden [BEILIN et al., 2003; PAGE, 2005]. Außerdem wird die humorale Immunantwort getriggert [SALO, 1992].

Eine nicht ausreichende Analgesie hingegen hemmt besonders die Funktion der natürlichen Killerzellen und führt auf diese Weise zu einer Immuninkompetenz mit nachfolgender Erhöhung der Infektanfälligkeit und/oder Tumorprogression [BAUER et al., 1998].

KEHLET (2000) ist der Meinung, dass nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAID) keinen oder nur einen geringen hemmenden Effekt auf die klassischen Stresshormone und Akute-Phase-Proteine besitzen. TING et al. (2003) hingegen gehen davon aus, dass

nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAIDs) die Cyclooxygenaseproduktion und somit die Entzündungsreaktion und auch Schmerzweiterleitung effektiv unterdrücken. Sie untersuchten die Effekte von Ketoprofen auf die Kortisolkonzentration bei der Kastration von Bullen mit der Burdizzozange. Auch EARLEY u. CROWE (2002) erwähnen, dass Ketoprofen die nachteiligen immunsuppressorischen Effekte einer chirurgischen Kastration reduzieren.

2.2.3 Inhalationsnarkotika

Für Inhalationsnarkotika (Äther, Halothan) beschrieb BRUCE (1973) eine reversible Veränderung des intrazellulären Milieus mit einer Störung der Zellfunktion wie bspw. einer Einschränkung der Phagozytoseleistung und herabgesetzter Zellmigration/-diapedese. WALTON (1979) und auch KUROSAWA und KATO (2008) unterstützen diese Beobachtungen. Betroffen sind besonders die zirkulierenden Lymphozyten [HASHIMOTO et al., 1995]. Stammzellen hingegen werden geschützt, da ihr Eintritt in den Zellzyklus durch die Narkotika verhindert wird [BRUCE, 1973].

DELOGU et al. (2001) beschreiben einen geringeren Il-10-Anstieg bei Inhalations- im Gegensatz zu Injektionsnarkose. Damit fällt die Gegenregulation einer möglichen überschießenden Wirkung proinflammatorischer Zytokine geringer aus und die Gefahr eines SIRS erhöht sich.

Halothan hemmt die Lymphozytentransformation und Proliferation [TARPLEY et al., 1977; SALO, 1992]. Betroffen sind von der Suppression v.a. die CD4⁺-Zellen. Es wurde auch eine höhere Tumormetastasierungsrate beim alleinigen Einsatz von Halothan festgestellt [MARKOVIC et al., 1993; BAR-YOSEF et al., 2001]. Die Veränderungen sind umso ausgeprägter, je länger der Eingriff und damit die Halothanexposition andauert [KÄBISCH et al., 1986].

Isofluran beeinflusst ebenso wie Halothan die Zytotoxizität der Natürlichen Killerzellen nachteilig [MARKOVIC et al., 1993; KUROSAWA u. KATO, 2008].

KUROSAWA und KATO (2008) stellen die Behauptung auf, dass eine Inhalationsnarkose grundsätzlich ausgeprägtere immunsuppressive Effekte nach sich zieht als eine reine Injektionsnarkose. Unterstützt wird diese These durch KITAMURA et al. (2008).

2.2.4 Epidural- und Lokalanästhesie

Die Wissenschaft ist sich nahezu einig darüber, dass Peridural- oder Spinalanästhesie zu einer weitaus geringeren Immunsuppression führt als dies eine Allgemeinanästhesie hervorruft [HASHIMOTO et al., 1995; LIU et al., 1995; LE CRAS et al., 1998; BREIDTHART, 2003; VOIGT, 2006].

So verhindert sie die Beeinträchtigung der Lymphozytenproliferation, es kommt somit zu keiner Lymphopenie und die Zytotoxizität der Natürlichen Killerzellen wird aufrechterhalten oder gar verbessert [REM et al., 1980; TØNNESSEN u. WAHLGREEN, 1988; KOLTUN et al., 1996; VALLEJO et al., 2003; KAWASAKI et al., 2007; WADA et al., 2007; KUROSAWA u. KATO; 2008]. Dadurch lässt sich das geringere Risiko einer Tumorstreuung nach Einsatz einer Spinalanästhesie erklären [KOLTUN et al., 1996; BAR-YOSEF et al., 2001].

YOKOYAMA et al. (2001) kommen hingegen zu dem Schluss, dass auch eine Epiduralanästhesie zu einer vorübergehenden signifikanten Lymphozytenveränderung und Beeinträchtigung der Aktivität der natürlichen Killerzellen führt.

Erklärt wird die geringere Immunsuppression bei Spinalanästhesien mit der effektiveren Unterdrückung oder gar Ausschaltung der Stressreaktion durch eine Blockade der afferenten Nervenbahnen mit Hemmung der Depolarisation [BRÖCKER u. MACHER, 1981; BAR-YOSEF et al., 2001] und somit niedrigeren Kortisol- und Katecholaminspiegeln [REM et al., 1980; KÄBISCH et al., 1986; KOLTUN et al., 1996; LE CRAS et al., 1998; HØGEVOLD et al., 2000; KEHLET, 2000; YOKOYAMA et al., 2001; BEILIN et al., 2003; PAGE, 2005; SHORT et al., 2006; WADA et al., 2007; KUROSAWA u. KATO; 2008;].

Eine Epiduralanästhesie besitzt aber keinen hemmenden Effekt auf die Entzündungsantwort, da diese weitgehend unabhängig von neuraler Aktivierung und Schmerz ist. KEHLET (2000) behauptet sogar, dass diese vollkommen unabhängig von endokriner Aktivierung ist.

Lokalanästhetika setzen zwar die Chemotaxis der Lymphozyten und Granulozyten herab, supprimieren die Aktivität der natürlichen Killerzellen jedoch geringer [GREISEN et al., 1999] und verringern somit das Tumormetastasierungsrisiko [BAR-YOSEF et al., 2001]. Zudem steigern sie die Il-2-Produktion bei gleichzeitig herabgesetzter Il-1 und Il-6-Sekretion und halten somit die Zahl an Th1-Zellen besser aufrecht [BEILIN et al., 2003; PAGE, 2005; WADA et al., 2007]. Lokale Entzündungsreaktionen fallen jedoch stärker aus und die allgemeine Stressreaktion wird

nicht effektiv genug unterdrückt [TING et al., 2003] oder nicht anhaltend [EARLEY u. CROWE, 2002].

Epidural eingesetzte Lokalanästhetika verhindern nur dann effektiv die Stressreaktion und halten die Mediatorenkonzentration sowie Lymphozytenzahlen auf präoperativen Leveln, wenn sie vor dem stressauslösenden Hautschnitt eingesetzt werden [REM et al., 1980; LIU et al., 1995]. Eine weitere Stressreduktion kann erreicht werden, wenn eine epidurale Analgesie postoperativ fortgesetzt wird.

Die besten Ergebnisse werden hierbei beim Menschen jedoch nur bei Operationen unterhalb des Nabels erreicht. Bei Oberbauch- oder Thorax-Operationen können nicht alle afferenten sensorischen Bahnen sowie der N. phrenicus blockiert werden, genauso wenig wie vagale Afferenzen [LIU et al., 1995; KEHLET, 2000; YOKOYAMA et al., 2001; TING et al., 2003; KAWASAKI et al., 2007].

III. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Tiere

Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war, dass die Kälber einen unkomplizierten, operationsbedürftigen Nabelbruch und keine weiteren Begleiterkrankungen hatten und das Körpergewicht 110 kg nicht überschritt. Leichte Lungenerkrankungen ohne Störungen des Allgemeinbefindens konnten nicht in allen Fällen ausgeschlossen werden.

Es gingen insgesamt 20 Tiere im Zeitraum zwischen Mai und September 2008 in die Studie ein. Sie stammten teils aus dem Patientengut der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim, teils wurden Kälber mit Nabelbrüchen auf einem Kälbermarkt zugekauft. Die Kälber wurden in Iglus oder fahrbaren Kälberboxen untergebracht. Bei zugekauften Tieren wurde erst nach einer Eingewöhnungszeit von mindestens 4 Tagen mit den Versuchen begonnen.

Der Tierversuch wurde von der Regierung von Oberbayern unter dem Geschäftszeichen 55.2-1-54-2531-142-07 genehmigt.

Insgesamt wurden 24 Anästhesien durchgeführt. Hierbei wurde bei 12 Tieren ein Nabelbruch chirurgisch versorgt.

Als Kontrolltiere wurden 12 Kälber genutzt, die lediglich einer Anästhesie ohne einen chirurgischen Eingriff unterzogen wurden. Neun Tiere dieser Gruppe waren zuvor bereits einer Anästhesie und Nabelbruchoperation unterzogen worden. Sie wurden jedoch frühestens 10 Tage nach erfolgter Operation als Kontrolltiere genutzt. Die einzelnen Anästhesien aller Tiere im Versuch sind in Tabelle 8 im Anhang aufgeführt.

Die Narkosedauer eines Kontrolltieres wurde immer der Operationsdauer eines chirurgisch versorgten Kalbes angeglichen, so dass vergleichbare Bedingungen hinsichtlich der Anästhesielänge geschaffen wurden. Hierzu wurde einem operierten Tier immer ein Tier aus der Kontrollgruppe zugelost und das Narkoseprotokoll des operierten Tieres für die Kontrollanästhesie zugrunde gelegt.

Einen Tag vor der Operation/Narkose erhielten die Kälber nach vorheriger Wiegung das nichtsteroidale Antiphlogistikum Metacam[®] (Meloxicam 0,5 mg/kg; Fa. Boehringer

Ingelheim) subcutan und wurden mit Cobactan[®] (Cefquinomsulfat 1mg/kg; Fa. Intervet, Unterschleißheim) subcutan antibakteriell behandelt. Die Antibiose wurde insgesamt über fünf Tage aufrechterhalten.

3.2 Anästhesieverfahren

Im Rahmen dieser Dissertation wurden zwei unterschiedliche Anästhesieverfahren untersucht. Als Narkosegerät kam ein Dräger Medical Sulla 808 V (Fa. Dräger, Berlin) zum Einsatz.

Bei den beiden Anästhesieverfahren handelte es sich um:

1. eine Inhalationsanästhesie (INH).

Die Anästhesieeinleitung erfolgte mittels Atemmaske mit einem am Verdampfer (Vapor 19.3, Fa. Dräger) eingestellten Volumen von 5 % Isofluran (Isoflo[®], Fa. Albrecht) und einem Sauerstoffflow von 12 ml/kg/min. Sobald der Lidreflex nicht mehr auslösbar war, die Bulbi nach ventral oder zentral rotiert waren, das Tier keine Schluck- und Kaubewegungen mehr zeigte und somit die chirurgische Toleranz erreicht war, wurde intubiert.

Nach Intubation wurde diese Narkose mit einer Verdampferkonzentration von 1,5 % Isofluran und einem Sauerstoffflow von 10 ml/kg/min aufrechterhalten.

2. eine kombinierte Injektions- und Inhalationsanästhesie (KOM).

Die Anästhesieeinleitung erfolgte hier durch Gabe von 0,2 mg/kg des Sedativums Xylazin 2 %[®] (Fa. Serumwerk Bernburg, Bernburg) intramuskulär in den M. triceps brachii. Nach 5 min wurden die Kälber in Seitenlage auf den OP-Tisch verbracht und nach weiteren 5 min wurde Ketamin 10 %[®] (Fa. Serumwerk Bernburg, Bernburg) 2 mg/kg intravenös über einen Ohrvenenkatheter appliziert. Anschließend wurden die Tiere intubiert und die Narkose mit einer am Verdampfer eingestellten Konzentration von 1,5 Volumenprozent (Vol. %) Isofluran bei einem Sauerstoffflow von 10 ml/kg/min aufrechterhalten.

Bei Anzeichen von Abwehrbewegungen wurde die Isoflurankonzentration am Verdampfer kurzfristig auf 5 % erhöht, bis das Tier wieder die chirurgische Toleranz erreicht hatte.

Eine detailliertere Beschreibung der Anästhesieverfahren ist in der Dissertation von HEFTI (2010) zu finden.

Bei beiden Anästhesieformen wurden die Kälber nach der Einleitung intubiert. Über die Intubation wurde einerseits die Anästhesie mit Isofluran aufrechterhalten und andererseits bei beiden Formen die O₂-, CO₂-, sowie in- und expiratorische Isoflurankonzentration gemessen. Es wurde ein venöser Zugang in eine Ohrvene gelegt, und die Tiere wurden während der Narkose mit einer Elektrolytlösung (Fa. Albrecht, Aulendorf) infundiert. Zur direkten Blutdruckmessung mittels Membranometer wurde noch zusätzlich ein Katheter in eine Ohrarterie gelegt. Zudem wurde ein Pulsoxymeter an der Zunge und ein EKG angeschlossen. Diese gemessenen Parameter waren Gegenstand einer zeitgleich angefertigten Dissertation [HEFTI, 2010].

Es sollten sich jeweils sechs Kälber innerhalb einer Anästhesiegruppe befinden. Einerseits sechs Tiere mit einem chirurgischen Eingriff in Form einer Nabelbruchoperation (INHc/KOMc) andererseits sechs Kälber als Kontrolltiere ohne chirurgische Intervention (INHo/KOMo). Die Zuordnung der Kälber zu einer Anästhesieform erfolgte per Losverfahren.

3.3 Blutentnahme

Die Blutprobenentnahme zur Erstellung des Blutbildes und die Bestimmung der Immunparameter erfolgte einen Tag vor und am Morgen vor der Narkose/Operation, sowie ein, drei und acht Tage postoperativ aus der V. jugularis externa. Alle Proben wurden vormittags zwischen acht und neun Uhr gezogen, um den Einfluss circadianer Schwankungen ausschließen zu können [CALVELLI et al., 1993].

Entnommen wurden 12 ml Vollblut in eine EDTA-Monovette (Fa. Sarstedt, Nümbrecht). Hiervon wurden 10 ml unmittelbar nach der Entnahme auf Eis gelagert und später für die durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytenuntereinheiten sowie der Monozyten verwendet. 2 ml dienten der automatisierten Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl und der Herstellung eines Blutausrichs für die spätere Auszählung des Differentialblutbildes.

3.4 Laborarbeiten

3.4.1 Geräte, Materialien und Reagenzien

Geräte

Durchflusszytometer FACScan (Fluorescence Activated Cell Sorter) mit Computereinheit	Fa. Becton Dickinson, Heidelberg
Minishaker MS1	Fa. IKA, Staufen
Pipetten (0,5-10 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl)	Fa. Biohit, Köln
SYSMEX PocH-100 i	Fa. Sysmex, Norderstedt
Zentrifuge Universal 32R	Fa. Hettich, Tuttlingen

Materialien

EDTA Blutentnahmeröhrchen (2 ml)	Fa. Sarstedt, Nümbrecht
FACS-Polystyrolröhrchen (5 ml)	Fa. Becton Dickinson, Heidelberg
Falconröhrchen 50 ml	Fa. Greiner, Frickenhausen
Neoject Kanülen (17 G)	Fa. Dispomed, Gelnhausen
Pipettenspitzen (gelb, blau und weiß)	Fa. Zefa Laborservice, Harthausen
Vacutainerröhrchen (10 ml) mit 18 mg K ₂ E	Fa. Becton Dickinson, Heidelberg

Reagenzien

Aqua dest.

Antikörper:

Mouse anti bovine CD4 FITC	Fa. AbD Serotec, Düsseldorf
Mouse anti bovine CD8 beta RPE	Fa. AbD Serotec, Düsseldorf
Mouse anti bovine CD14 RPE-ALEXA 647	Fa. AbD Serotec, Düsseldorf

PBS (Phosphat Buffered Saline)	8,00 g	NaCl	} pro Liter Aqua tridest. (pH 7,4)
	0,20 g	Na ₂ HPO ₄	
	0,20 g	KH ₂ PO ₄	
	1,24 g	KCL	

zweifaches PBS	16,00 g	NaCl	} pro Liter Aqua tridest. (pH 7,4)
	0,40 g	Na ₂ HPO ₄	
	0,40 g	KH ₂ PO ₄	
	2,48 g	KCl	

PBS und zweifaches PBS wurden im Labor selbst hergestellt.

3.4.2 Blutprobenverarbeitung

Die Gesamtleukozytenzahl (WBC) wurde mit dem SYSMEX[®]-Gerät, welches auch zur Routinediagnostik in der Klinik eingesetzt wird, bestimmt. Zusätzlich lieferte es Prozent- und Absolutwerte der Lymphozyten und anderen Leukozyten (Granulozyten, Monozyten) im Vollblut.

Außerdem wurde ein Blutausstrich für das Differentialblutbild angefertigt, welcher später nach Pappenheim angefärbt wurde. Nach Trocknung wurden 100 Leukozyten differenziert.

3.4.3 Isolierung der Leukozyten

Die Probenverarbeitung erfolgte innerhalb von maximal 2 Stunden nach Blutentnahme. 10 ml EDTA-Blut wurden in ein 50 ml FALCON-Röhrchen überführt und 15 Minuten bei 1000 x g und 4°C zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma so vollständig wie möglich abpipetiert, das Pellet mit PBS wieder auf die Marke von 10 ml aufgefüllt und die Zellen aufgemischt.

Nun folgte die Erythrozytolyse. Hierzu wurden 20 ml Aqua dest. hinzugegeben und das Röhrchen 20 Sekunden geschwenkt. Zum Stopp der Lyse wurden 20 ml zweifaches PBS zugefügt. Es folgte ein Zentrifugationsschritt von 10 min bei 1000 x g und 4°C. Nach Abkippen des Überstandes wurde das Pellet erneut mit 10 ml PBS aufgemischt und eine zweite Lyse durchgeführt.

Nach der zweiten Lyse wurden die Zellen in 20 ml PBS gewaschen (Zentrifugation 10 min, 1000 x g und 4°C) und das daraus entstandene Pellet in 1 ml PBS aufgenommen. Hiervon wurden 100 µl in 900 µl PBS überführt, gemischt und im SYSMEX[®] die Gesamtleukozytenzahl bestimmt.

Anschließend wurde eine Verdünnung der Zellsuspension in PBS hergestellt und damit die Zellzahl auf 4 Mio/ml eingestellt.

200 μ l dieser verdünnten Suspension wurden in ein FACS-Polystyrolröhrchen überführt.

Nun folgte die Anfärbung der T-Lymphozyten mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern. Zur Anfärbung der CD4-positiven Zellen wurden 2 μ l FITC-markierter Mouse-anti-bovine-CD4-Antikörper - in einer effektiven Verdünnung von 1:10 - eingesetzt (Serotec MCA1653F). CD8-positive Zellen wurden mit 10 μ l RPE-markiertem Mouse-anti-bovine-CD8-beta (Serotec MCA1654PE) angefärbt. Es kam damit effektiv eine Verdünnung von 1:2. zum Einsatz. Die Monozyten wurden mit 2 μ l RPE-Alexa Fluor[®] 647 Mouse-anti-bovine-CD14⁺ Antikörper (Serotec MCA1568P647) – effektive Verdünnung 1:10 - für die Durchflusszytometrie vorbereitet.

Die Zellen wurden nach Zusatz der Antikörper und gründlicher Durchmischung 30 Minuten im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Um nicht gebundene, überschüssige Antikörper zu entfernen, schloss sich ein letzter Waschschrift mit 2 ml PBS an (Zentrifugation 5 min, 1000 x g bei 4°C). Nach Abkippen des Überstandes und Resuspension des Pellets mit 200 μ l PBS wurde die Probe sofort am Durchflusszytometer (FACScan, Becton Dickinson) gemessen.

3.4.4 Durchflusszytometrie

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie ist es möglich, Zellen anhand ihrer Größe und Granularität aufzutrennen und quantitativ zu analysieren. Durch Anfärbung von Zellen mit farbstoffmarkierten Antikörpern und Messung ihrer Fluoreszenzintensität ist eine weitergehende Zellcharakterisierung wie bspw. den Lymphozytensubpopulationen CD4⁺ und CD8⁺ möglich.

Das Prinzip beruht darauf, dass der Probenflüssigkeitsstrom mittels hydrodynamischer Fokussierung an einem Laserstrahl vorbeigeleitet wird. Dadurch werden die Zellen wie an einer Perlenkette einzeln aneinander aufgereiht und jede Einzelzelle erfasst.

Wir arbeiteten mit dem FACScan (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg), welches mit einem Argon-Ionen-Laser mit einer Wellenlänge von 488 nm ausgestattet ist. Der emittierte Lichtstrahl trifft einerseits in einem Winkel von bis zu max. 10° auf den Probenstrom auf (Vorwärtsstreuung; Forward Scatter, FSC), andererseits streut er im rechten Winkel seitwärts (Seitwärtsstreuung; Side Scatter, SSC). Der Forward Scatter liefert Informationen über die Zellgröße, der Side Scatter gibt Auskunft über die Granularität und Morphologie einer Zelle.

Durch Messung von Fluoreszenzen (FL-1, FL-2, FL-3) ist es möglich,

farbstoffkonjugierte Antikörper, die sich an Oberflächenantigene der Zellen gebunden haben, sichtbar zu machen und so bspw. Lymphozytensubpopulationen zu differenzieren. Die verwendeten Farbstoffe emittieren nach Anregung durch den Laser Licht verschiedener Wellenlänge. Fluoresceinisothiocyanat (FITC) strahlt maximal im Wellenbereich von 515 nm (grün, FL-1), das Maximum von Phycoerythrin (PE) liegt bei 580 nm (orange, FL-2). FL-3 misst Rotfluoreszenzen im Wellenbereich von 650 nm. Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht wird linear dargestellt, die Fluoreszenzen werden logarithmisch aufgezeichnet.

Das von den angeregten Zellen emittierte Licht wird ebenso wie Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht von hochsensiblen Detektoren aufgefangen, verstärkt und in elektrische Impulse umgewandelt. Diese korrelieren in ihrer Höhe mit den Intensitäten der von den Zellen emittierten Lichtsignale und werden dann von einem angeschlossenen Computer mit der Analysesoftware CellQuest[®] (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) erfasst und graphisch als Punktediagramme („Dot-Plots“) oder Histogramme dargestellt. Um Überschneidungen der einzelnen Fluoreszenzspektren zu vermeiden, muss eine Signalkompensation eingestellt werden, die überlappende Fluoreszenzsignale voneinander subtrahiert.

Durch Setzen sog. „Gates“ kann man bestimmte Zellpopulationen aufgrund ihrer Größe und Granularität eingrenzen (x -Achse FSC, y -Achse SSC). Die graphische Darstellung erfolgt in Form eines „Density Plots“ (Abbildung 1). Dies ermöglichte in unserer Studie die Unterscheidung zwischen Lymphozyten und Monozyten, sowie Granulozyten. Für die Lymphozyten und Monozyten wurde ein gemeinsames Gate gesetzt, da die weitere Auftrennung mit Hilfe der farbstoffmarkierten Antikörper erfolgte.

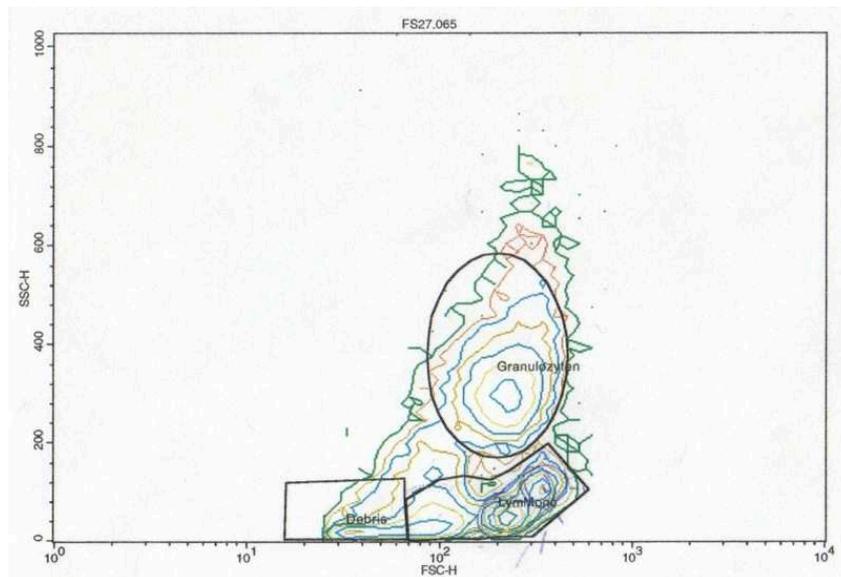


Abbildung 1 Beispiel für einen Density Plot mit den gesetzten Gates für Granulozyten, Lymphozyten/Monozyten und dem Zelldebris

Mit Hilfe der Fluoreszenzkanäle wurde eine weitere Detektierung und Darstellung der CD4-, CD8- oder CD14-positiv angefärbten Zellen möglich (Fluoreszenzintensitätsmessung).

Aus dem Lymphozyten/Monozyten-Gate wurden die CD14-positiven Zellen, d.h. die Monozyten, in FL-3 (rote Fluoreszenz) in Form einer Ein-Parameter-Darstellung (Histogramm) dargestellt (Abbildung 2). Dabei wurde die Zellanzahl (Ordinate) gegen die Fluoreszenzintensität (Abszisse) aufgezeichnet.

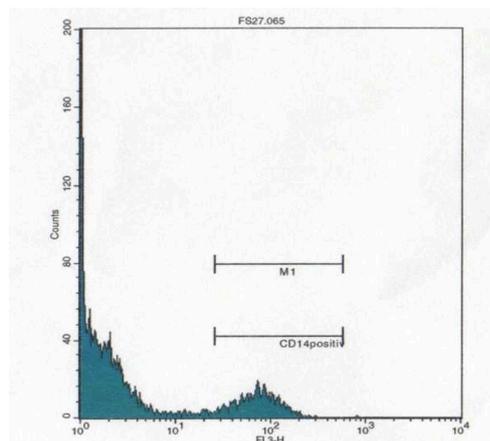


Abbildung 2 Darstellung der CD14⁺-Zellen in einem Histogramm

Die CD14-positiven Zellen wurden in einem weiteren Gate „Lymphozyten“ rein rechnerische von allen im Gate „Lymphozyten/Monozyten“ gezählten Events abgezogen. Diese im Gate „Lymphozyten“ gezählten Events konnten dann aufgrund ihrer unterschiedlichen Fluoreszenz als CD4- oder CD8-positive Zellen identifiziert werden. FITC-markierte Antikörper ließen CD4-positive T-Zellen in FL-1 (grüne Fluoreszenz)

als fluoreszenz-positives Signal erscheinen, PE-markierte Antikörper zeigten $CD8^+$ - Zellen in FL-2 (orange Fluoreszenz) als fluoreszenzpositiv an. Die beiden Zellpopulationen wurden mittels ihrer Fluoreszenzintensität in einem Punktediagramm („Dot-Plot“) gegeneinander aufgezeichnet (Abbildung 3). $CD4$ -positive Zellen zeigten sich im unteren rechten Quadranten, $CD8$ -positive Zellen im oberen linken Quadranten. Im linken unteren Quadranten zeigten sich alle $CD4$ - und $CD8$ -negativen Ereignisse, im rechten oberen Quadranten waren vereinzelte $CD4$ - und $CD8$ -positive Events zu sehen.

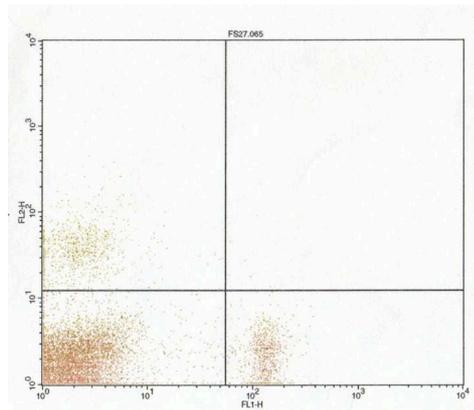


Abbildung 3 „Dot-plot“ mit Darstellung der $CD4$ -positiven Zellen unten rechts, der $CD8$ -positiven Zellen oben links, der $CD4$ - und $CD8$ -negativen Zellen unten links und der $CD4$ - und $CD8$ -positiven Zellen oben rechts.

Bei unseren vorbereiteten Proben sind pro Einzelprobe 10 000 Ereignisse (events) gemessen worden.

3.5 Stichprobenplanung

Die Stichprobenplanung wurde mit Hilfe des Computerprogramms Java Applets for Power and Sample Size free available on internet [LENTH, 2006] vorgenommen. Sie basierte auf den publizierten Daten einer Studie an Wasserbüffeln [DHINAKAR RAJ et al., 2007]. Anhand des t-Tests für zwei unabhängige Proben wurde eine klinisch relevante Differenz von 350 Zellen bei den $CD4^+$ T-Zellen angenommen. Um diese Differenz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% und einer Power von 80% statistisch zu erkennen, benötigt man, bei einer angenommenen Standardabweichung von 150 Zellen, mindestens fünf Tiere pro Gruppe.

Bei den $CD8^+$ T-Zellen wurde, gemäß der Studie von RAJ et al. (2007), eine Standardabweichung von 120 angenommen und ein klinisch relevanter Unterschied von 250 Zellen. Auch hier wurden mindestens fünf Tiere als Stichprobengröße bestimmt,

um diesen Unterschied bei einer Power von 80% und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% als statistisch signifikant zu erkennen.

3.6 Statistische Auswertung

3.6.1 Datenaufbereitung

Die in CellQuest[®] erfassten Ergebnisse der durchflusszytometrischen Untersuchung wurden in das Programm FCS Express[®] (Version 3 – 30-Tage-Testversion, De Novo Software) übertragen. Hier wurden ebenfalls Gates für die Lymphozyten und Monozyten gesetzt und die Eventzahlen exakt erfasst. Diese prozentualen Zahlen wurden anschließend in Excel-Tabellen (MS Excel, Fa. Microsoft) zusammengefasst.

Aus den so aufbereiteten Ergebnissen der durchflusszytometrischen Untersuchung und der automatisch bestimmten Leukozytenzahl aus dem SYSMEX[®] sowie dem Differentialblutbild wurden die absoluten Zahlen der einzelnen untersuchten Zellpopulationen pro μl folgendermaßen errechnet:

Zunächst wurde aus der automatisch bestimmten Leukozytenzahl (WBC) und der Lymphozytenzahl aus dem Differentialblutbild die absolute Anzahl lymphoider Zellen berechnet. Auf dieselbe Art und Weise wurden die absoluten Granulozytenzahlen errechnet (WBC x [Segmentkernige + stabkernige Neutrophile aus Differentialblutbild]).

Für die Bestimmung der absoluten Anzahl der CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen wurden zunächst jeweils die prozentualen Anteile aus der Durchflusszytometrie ermittelt. Die CD4⁺ bzw. CD8⁺ Events wurden hierzu auf die lymphoiden Events bezogen und ihre Anteile letztlich mit den absoluten Lymphozytenzahlen multipliziert um die absoluten T-Zellzahlen der Subpopulationen zu erhalten.

Des Weiteren wurden noch die Differenzen der absoluten Zahlen der Tage null, eins, drei und acht postoperativ zum Ausgangswert einen Tag vor der Anästhesie / dem chirurgischen Eingriff gebildet (= Basalwert) und deren prozentuale Änderungen zum Ausgangswert berechnet.

Alle weiteren Daten (Patientendaten, Ergebnisse der automatischen Blutuntersuchung im SYSMEX und des Differentialblutbildes) wurden ebenfalls in Excel-Tabellen erfasst.

Der komplette Datensatz wurde anschließend in das Statistikprogramm SPSS[®] (Version

16.0, www.spss.com) übertragen und mit dessen Hilfe ausgewertet.

3.6.2 Statistik

Für normal verteilte Häufigkeiten wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Bei nicht normal verteilten Daten wurde der Medianwert berechnet und nicht-parametrische Tests verwendet. Zum Vergleich der Gruppen (chirurgisch versorgte Tiere versus Kontrolltiere) sowie zum Vergleich der Anästhesieformen (kombinierte Anästhesie versus Inhalationsanästhesie) wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Als statistisch signifikant wurden p-Werte von 0,05 angesehen.

Graphisch dargestellt wurden die Ergebnisse in sog. Boxplots (Box-/Whiskerdiagramme) mittels derer die Häufigkeitsverteilung der Werte innerhalb der unterschiedlichen Gruppen erkennbar wird. Die Box enthält dabei 50 % der Werte (zwei mittlere Quartile) inklusive des Medians, die Länge der Box entspricht dem Interquartilbereich. Die „Whiskers“ (T-Balken) stellen „Extremwerte“ dar und vermitteln einen Eindruck, wie weit die restlichen 50 % der Werte (Extremwerte innerhalb des 1,5-fachen Interquartilabstands) streuen (HARMS, 1998). Extremwerte außerhalb dieses 1,5 Interquartilbereichs werden als milde Ausreißer in Form eines ° dargestellt, Werte außerhalb des dreifachen Interquartilabstandes werden als extreme Ausreißer bezeichnet und mit * abgebildet.

Unterschiede im Verlauf der Werte über alle Probenzeitpunkte zwischen den Gruppen (INHc, KOMc, INHo, KOMo) wurden mit Hilfe eines gemischten Modells (Proc. Mixed) des Programmes SAS (Version 9.2; www.SAS.com) berechnet. Dabei wird für wiederholte Messungen innerhalb eines Tieres korrigiert. Als statistisch signifikant galt ein Wert von $p < 0,05$.

IV. ERGEBNISSE

4.1 Tiere

Es handelte sich durchweg um Kälber der Rasse Deutsches Fleckvieh. 16 Tiere waren männlich, 4 Tiere weiblich.

Die Kälber waren zu Versuchsbeginn, d.h. zum Zeitpunkt der ersten Probenentnahme, zwischen 12 und 111 Tagen alt. Im Mittel betrug das Alter aller 24 Kälber im Versuch $51,9 \pm 22,8$ Tage. Das Alter der Kälber mit einem chirurgischen Eingriff betrug im Mittel $44,1 \pm 26,9$ Tage. Die Kälber, die lediglich eine Anästhesie erhielten, waren im Mittel $58,3 \pm 22,1$ Tage alt.

Das durchschnittliche Gewicht aller 24 Tiere im Versuch lag bei $81,0 \pm 19,6$ kg. Die zwölf an einem unkomplizierten Nabelbruch operierten Kälber wogen im Mittel $71,6 \pm 22,6$ kg, die zwölf Tiere mit alleiniger Anästhesie $87,9 \pm 18,9$ kg.

Die Gewichtsunterschiede zwischen OP-Gruppe und Kontrollgruppe kamen dadurch zustande, dass einige Tiere frühestens 10 Tage nach einer erfolgten Nabelbruchoperation als Kontrolltiere erneut einer Anästhesie unterzogen wurden. (s. Tabelle 8 im Anhang)

4.2 Anästhesien

Die OP-Vorbereitung der Kälber vom Verabreichen des Sedativums bis zum Eintritt der chirurgischen Toleranz, und damit bis zum Hautschnitt bei einer chirurgischen Intervention, betrug im Mittel $25,0 \pm 10,3$ min.

Bei Einsatz der Inhalationsanästhesie und einem nachfolgenden chirurgischen Eingriff ergab sich ein Median von 38,0 min, bei alleiniger Anästhesie (INHo) 24,5 min bis zum Eintritt der chirurgischen Toleranz. Statistisch ergab sich hier ein signifikanter Unterschied ($p = 0,004$). Bei einer kombinierten Anästhesie mit chirurgischem Eingriff benötigten die Kälber im Median 23,0 min, ohne nachfolgende chirurgische Intervention 11,0 min bis zum Erreichen der chirurgischen Toleranz (Abbildung 4).

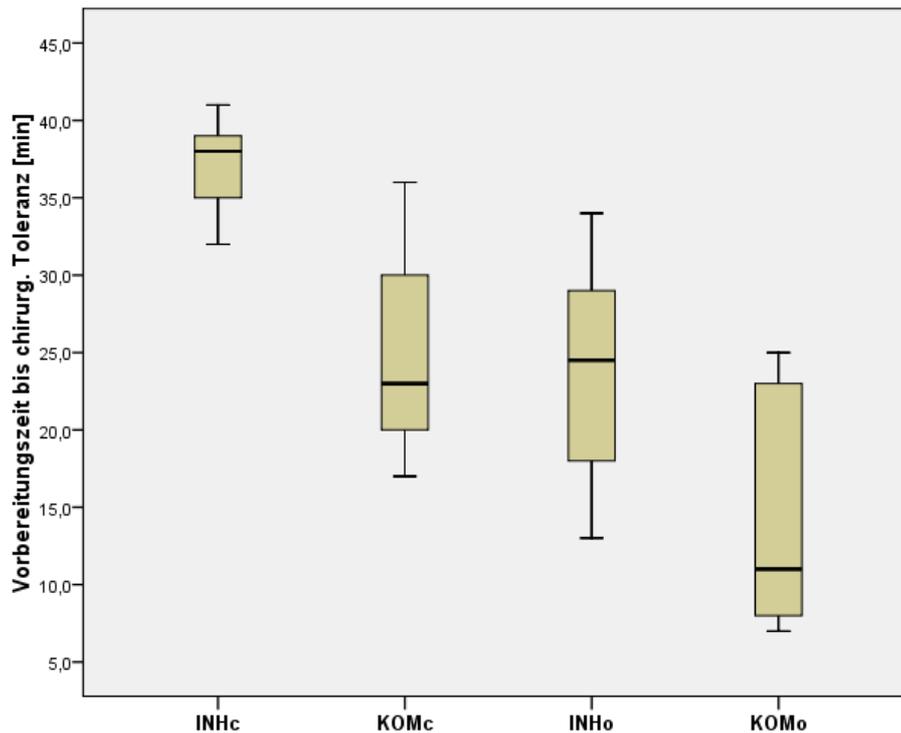


Abbildung 4 Dauer der OP-Vorbereitung (von Sedativumapplikation bis Erreichen des chirurgischen Toleranzstadiums) in Minuten [min] bei Kälbern mit (c) und ohne (o) chirurgischen Eingriff unter zwei verschiedenen Anästhesieverfahren
 INH = Inhalationsanästhesie mit Isofluran
 KOM = kombinierte Anästhesie mit Xylazin, Ketamin und Isofluran

Der chirurgische Eingriff dauerte bei den operierten Tieren im Mittel $28,8 \pm 7,7$ min. Die Gesamtnarkosedauer betrug im Mittel $51,0 \pm 13,7$ min.

Der Medikamenteneinsatz wurde bereits vor Versuchsbeginn festgelegt und im Kapitel Material und Methode näher erläutert.

Die endexpiratorische Isoflurankonzentration (ET_{ISO}) betrug bei den unter Kombinationsanästhesie operierten Nabelbruchkälbern zum Zeitpunkt der chirurgischen Toleranz im Mittel $1,20 \pm 0,31$ Vol.%. Die Kontrolltiere ohne chirurgischen Eingriff wiesen bei Erlangung der chirurgischen Toleranz im Mittel $1,23 \pm 0,15$ Vol.% ET_{ISO} auf. Die chirurgische Toleranz (CT) galt als erreicht, wenn kein Lidreflex, kein Ohr- und Zwischenklauenreflex mehr auslösbar und keine Sensibilität des äußeren Gehörgangs mehr nachweisbar waren.

Bei alleiniger Isoflurananästhesie ergaben sich bei den operierten Tieren ET_{ISO} von durchschnittlich $2,00 \pm 0,25$ Vol.% und bei den Kontrolltieren $1,48 \pm 0,23$ Vol.% (Abbildung 5). Es ergab sich hier ein signifikanter Unterschied zwischen INHc und INHo ($p = 0,004$).

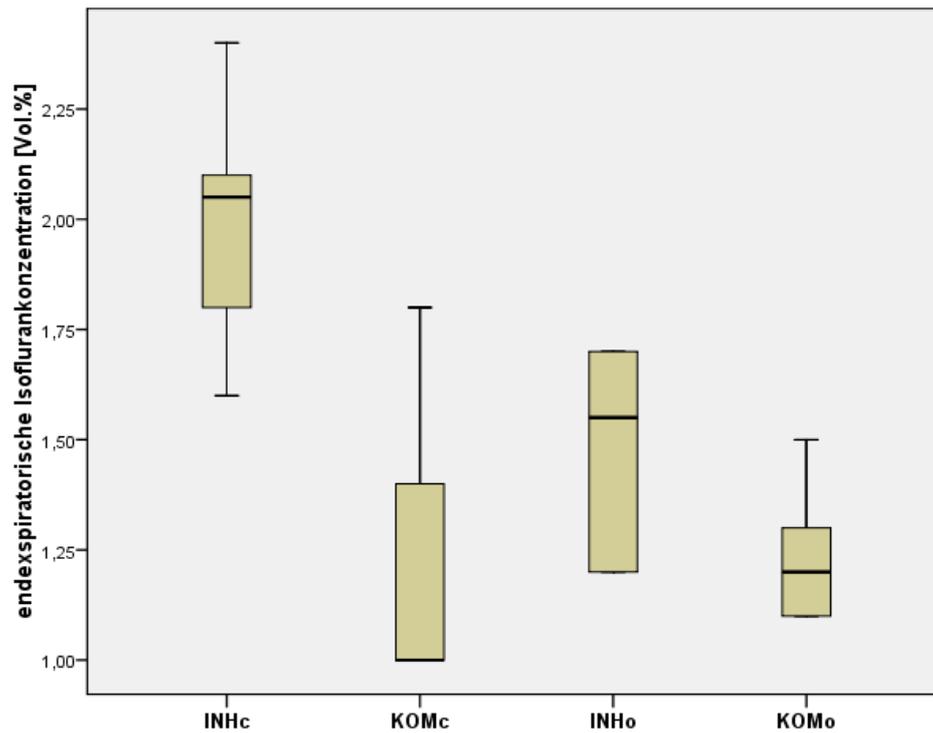


Abbildung 5: Durchschnittliche endexpiratorische Isoflurankonzentrationen (ET_{ISO}) zum Zeitpunkt des Erreichens der chirurgischen Toleranz bei Kälbern mit (c) und ohne (o) chirurgischen Eingriff bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren
INH = Inhalationsanästhesie mit Isofluran
KOM= kombinierte Anästhesie mit Xylazin, Ketamin und Isofluran

4.3 Immunologische Parameter

4.3.1 Leukozyten

Bei der Untersuchung der absoluten Leukozytenkonzentrationen der einzelnen Versuchsgruppen konnten gewisse Tendenzen jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Es fiel eine große Streuung der Werte auf. Lediglich bei KOMc lagen die Konzentrationen am dritten und achten postoperativen Tag bei allen sechs Versuchstieren eng zusammen (Abbildung 6).

Auch die Untersuchung der Verläufe der Leukozytenkonzentrationen über alle Probenzeitpunkte hinweg lieferte im mixed-model keine Unterschiede zwischen den Gruppen ($p = 0,233$).

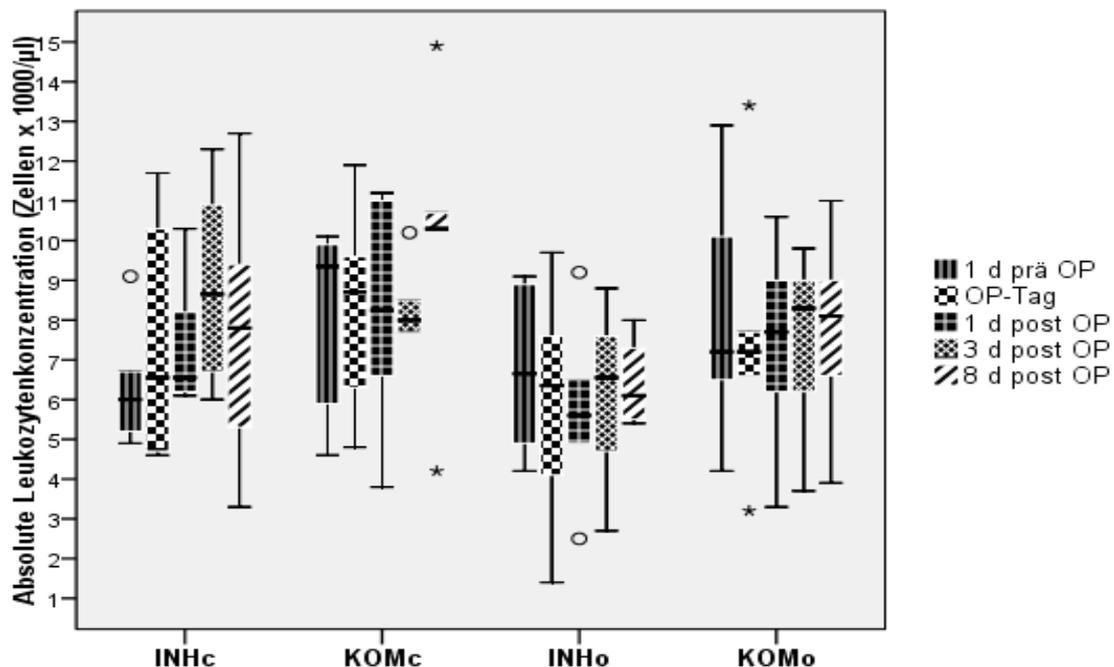


Abbildung 6 Absolute Leukozytenkonzentration im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Erst die Betrachtung der Differenzen der absoluten Leukozytenkonzentrationen zum Ausgangswert einen Tag präoperativ lieferte signifikante Gruppenunterschiede.

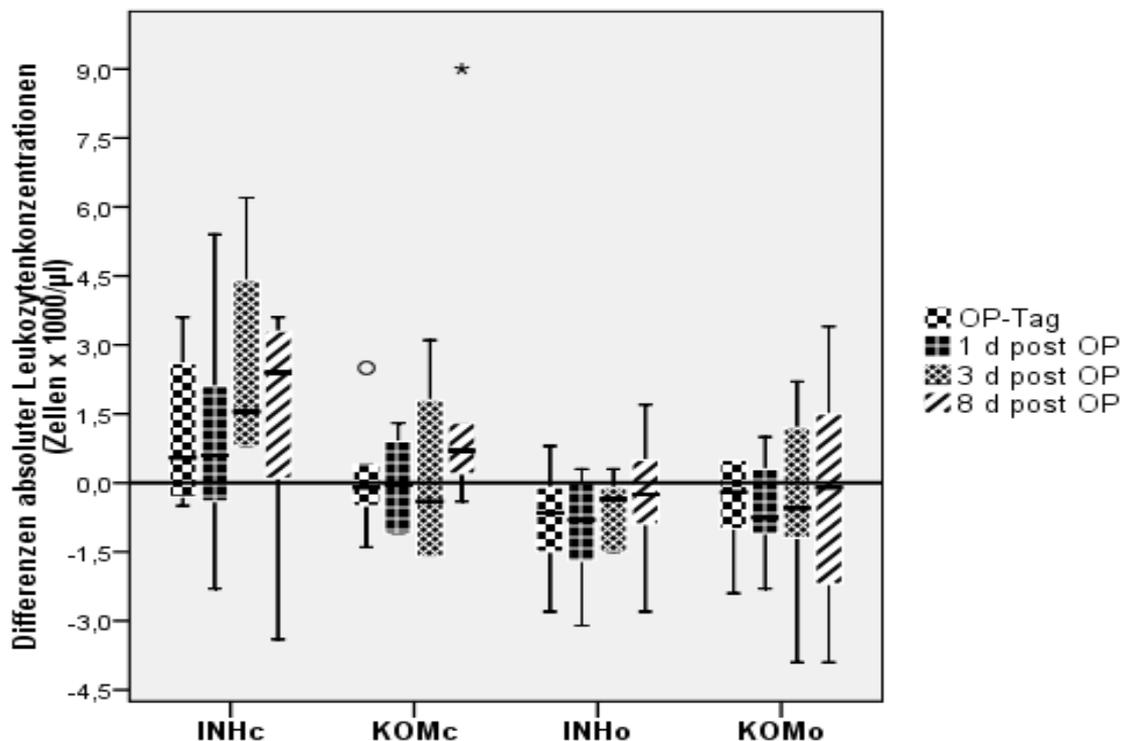


Abbildung 7 Differenzen der absoluten Leukozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Bei den Tieren, die eine Inhalationsnarkose erhielten konnten – unabhängig davon ob ein chirurgischer Eingriff erfolgte oder nicht (INHc; INHo) – einerseits bei Untersuchung der Differenz der Werte von Tag zwei (OP-Tag) zum Ausgangswert ($p = 0,045$) andererseits bei Vergleich der Werte drei Tage postoperativ zu Tag eins ($p = 0,004$) signifikante Unterschiede festgestellt werden. Unter alleiniger Inhalationsanästhesie (INHo) kam es dabei zu einem Abfall der Leukozytenkonzentrationen (Median: OP-Tag $-0,650$; 1 Tag post OP $-0,800$) wohingegen sie bei Kombination mit einem chirurgischen Eingriff (INHc) anstiegen (Median: OP-Tag $0,550$; 1 Tag post OP $0,600$) (Abbildung 7).

Auch bei der Untersuchung der prozentualen Veränderungen der absoluten Zahlen zum Ausgangswert (1 d präop) konnte am dritten Tag postop ein signifikanter Unterschied ($p = 0,004$) bei der Inhalationsnarkose (INHc; INHo) festgestellt werden. Hier zeigte sich erneut ein Anstieg nach einem erfolgten chirurgischen Eingriff (INHc) (Median

11,196), wohingegen unter alleiniger Inhalationsanästhesie (INHo) ein Abfall der Konzentrationen (Median -9,857) zu beobachten war (Abbildung 8).

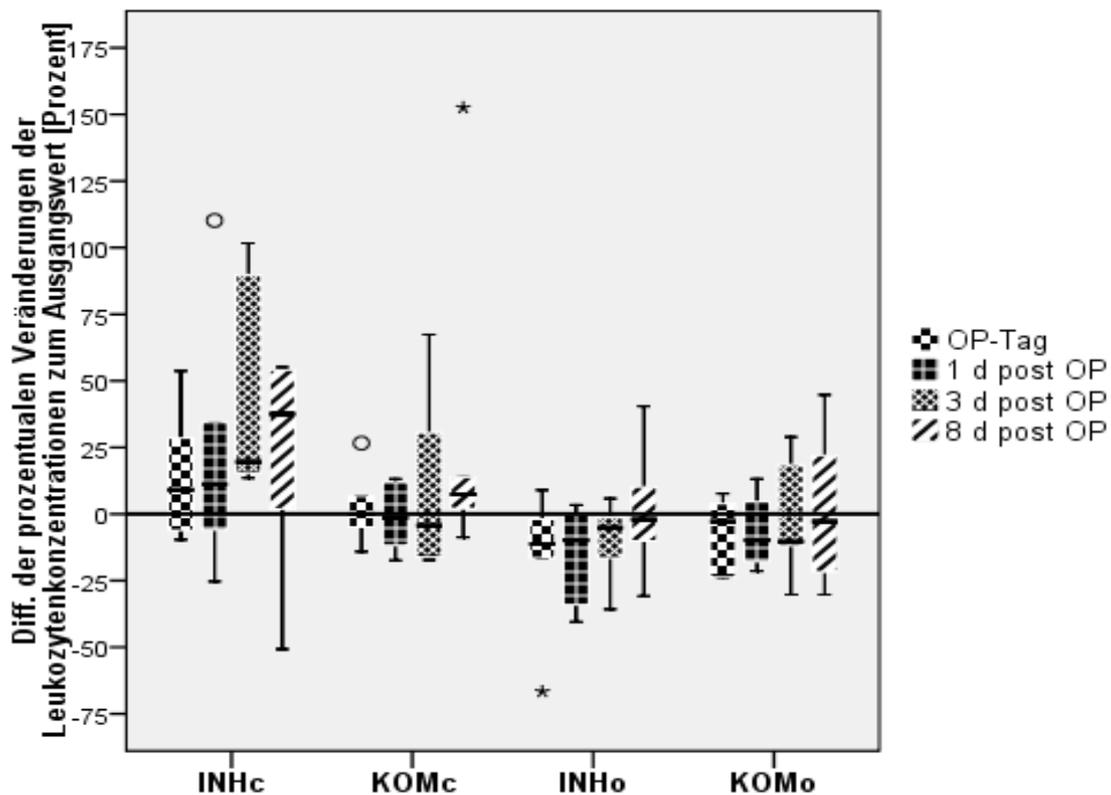


Abbildung 8 Differenzen (Diff.) der prozentualen Leukozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Generell ist auffällig, dass der Median der Leukozytenkonzentration mit Ausnahme von INHc im Vergleich zum Ausgangswert an den folgenden Probetagen absank (s. Tab. 9 im Anhang). Jedoch kam es bei der INHc-Gruppe bereits vor dem chirurgischen Eingriff, d.h. am Tag der OP, zu einem signifikanten Anstieg ($p = 0,045$). Am achten postoperativen Tag erreichte diese Gruppe ihre höchsten Leukozytenkonzentrationen. Dieser Anstieg war jedoch im Vergleich zum Ausgangswert nicht signifikant ($p = 0,150$).

Am letzten Probetag waren bei den unter einer Kombinationsanästhesie chirurgisch versorgten Tieren (KOMc) nicht signifikante Anstiege über den Basalwert (Median 7,397) zu beobachten. Im Gegensatz dazu waren bei KOMo die Ausgangswerte noch nicht wieder erreicht (Median -2,802). Auch hier waren keine Signifikanzen feststellbar. Im Vergleich der beiden Gruppen mit der Kombinationsanästhesie fiel der oben beschriebene Abfall der Leukozytenkonzentration bei KOMo deutlicher aus als bei

KOMc (s. Tab. 9 im Anhang).

Tabelle 1 Ergebnisse der statistischen Tests (Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Leukozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie den Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff

Leukozyten		INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
Absolute Leukozytenkonzentration	1 d prä OP	p = 0,173	p = 0,936	p = 0,936	p = 0,575
	OP-Tag	p = 0,423	p = 0,521	p = 0,522	p = 0,630
	1 d post OP	p = 0,297	p = 0,109	p = 0,631	p = 0,200
	3 d post OP	p = 0,747	p = 0,078	p = 0,807	p = 0,149
	8 d post OP	p = 0,147	p = 0,470	p = 0,147	p = 0,150
Differenzen absoluter Leukozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,297	p = 0,045	p = 0,872	p = 0,630
	1 d post OP	p = 0,470	p = 0,127	p = 0,519	p = 0,574
	3 d post OP	p = 0,091	p = 0,004	p = 0,873	p = 0,936
	8 d post OP	p = 0,631	p = 0,150	p = 0,337	p = 1,000
Differenzen der prozentualen Änderungen der Leukozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,522	p = 0,055	p = 0,522	p = 0,749
	1 d post OP	p = 0,337	p = 0,078	p = 0,631	p = 0,423
	3 d post OP	p = 0,109	p = 0,004	p = 0,631	p = 0,873
	8 d post OP	p = 0,631	p = 0,262	p = 0,337	p = 0,873

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff. Signifikante p-Werte sind in fetter Schreibweise dargestellt.

4.3.2 Lymphozyten

Bei der Gesamtzahl der Lymphozyten (Abbildung 9) und auch bei Untersuchung der Veränderungen zum Ausgangswert konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nachgewiesen, aber doch gewisse Tendenzen erkannt werden (s. Tabelle 2).

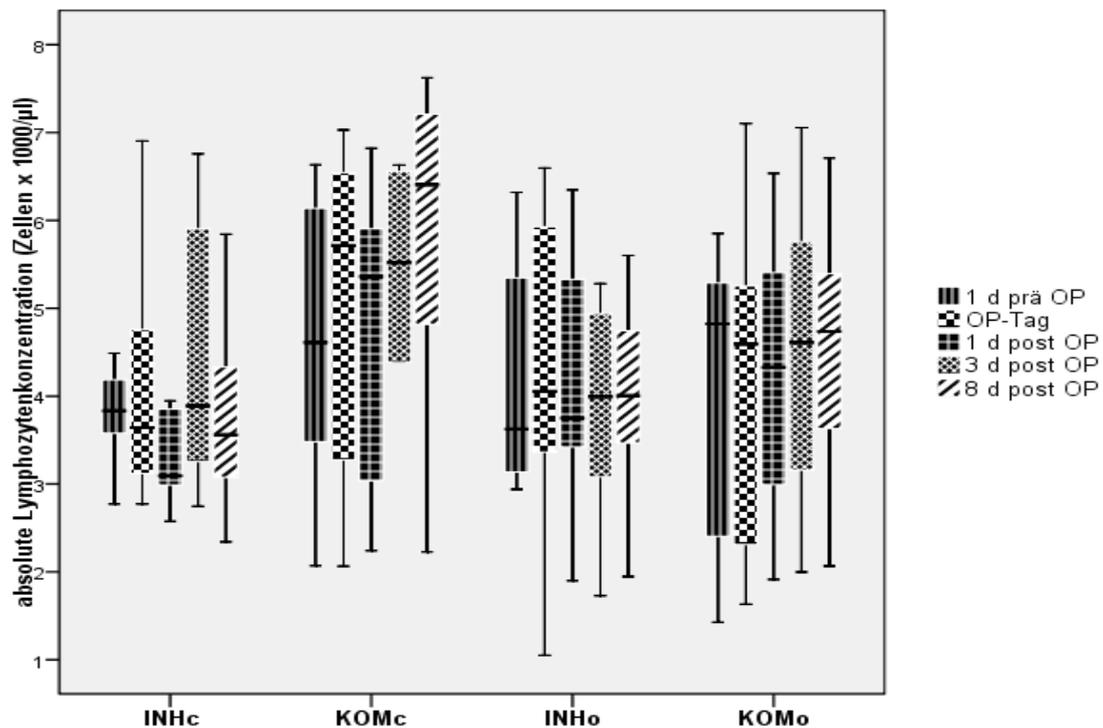


Abbildung 9 Absolute Lymphozytenkonzentration im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Bei den beiden chirurgisch versorgten Gruppen zeigte sich bei Betrachtung der Lymphozyten bei KOMc bereits am OP-Tag (Median 5,715), also bereits vor Beginn der Anästhesie, ein deutlicher, nicht signifikanter Anstieg gegenüber dem Ausgangswert (Median 4,611) (Abbildung 10). Bei INHc blieb die Konzentration weitestgehend unverändert. Einen Tag postoperativ kam es bei INHc zu einem sichtbaren Abfall der Lymphozyten, wohingegen bei KOMc nur minimale Schwankungen zum Ausgangswert auftraten. An den beiden weiteren Proben Tagen (drei bzw. acht Tage postoperativ) lagen bei beiden Gruppen die Werte über dem Basalwert, wobei der Anstieg bei KOMc sehr viel deutlicher ausfiel als bei INHc. Die Medianwerte sind der Tabelle 10 im Anhang zu entnehmen.

Auffällig war bei Vergleich der beiden Gruppen mit Inhalationsanästhesie, dass die Lymphozytenkonzentrationen einen Tag nach der Anästhesie absanken, an den folgenden Tagen jedoch bei den chirurgisch versorgten Tieren (INHc) langsam über den Ausgangswert anstiegen. Nach alleiniger Anästhesie (INHo) sanken die Konzentrationen stetig ab und erreichten erst am achten postoperativen Tag Werte über dem Ausgangswert. Es waren jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festzustellen (Tabelle 2).

Beim Vergleich der Kontrollgruppen zeigten sich bei KOMo ab dem ersten präoperativen Tag steigende Konzentrationen, während es bei INHo wie oben beschrieben zu deutlichen Abfällen kam. Es waren jedoch keine statistisch signifikanten Gruppenunterschiede nachweisbar (Tabelle 2).

Der Vergleich der Kombinationsanästhesien mit (KOMc) und ohne (KOMo) chirurgischen Eingriff lieferte keine signifikanten Unterschiede der Lymphozytenkonzentrationen. Auffällig war, dass bei Tieren, die später einer Nabeloperation unter einer Kombinationsnarkose unterzogen wurden, bereits morgens vor der OP ein Anstieg der Lymphozyten im Vergleich zum Vortag feststellbar war. Bei den Kontrolltieren blieben die Konzentrationen nahezu unverändert. Ab dem ersten postoperativen Tag stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen über den Basalwert an. Zu diesem Probenzeitpunkt waren die Anstiege bei den Kontrolltieren (Median 0,302) deutlicher als bei den chirurgisch versorgten Tieren (Median – 0,031). An den weiteren Proben Tagen stiegen die Werte dann jedoch bei KOMc stärker an als bei KOMo.

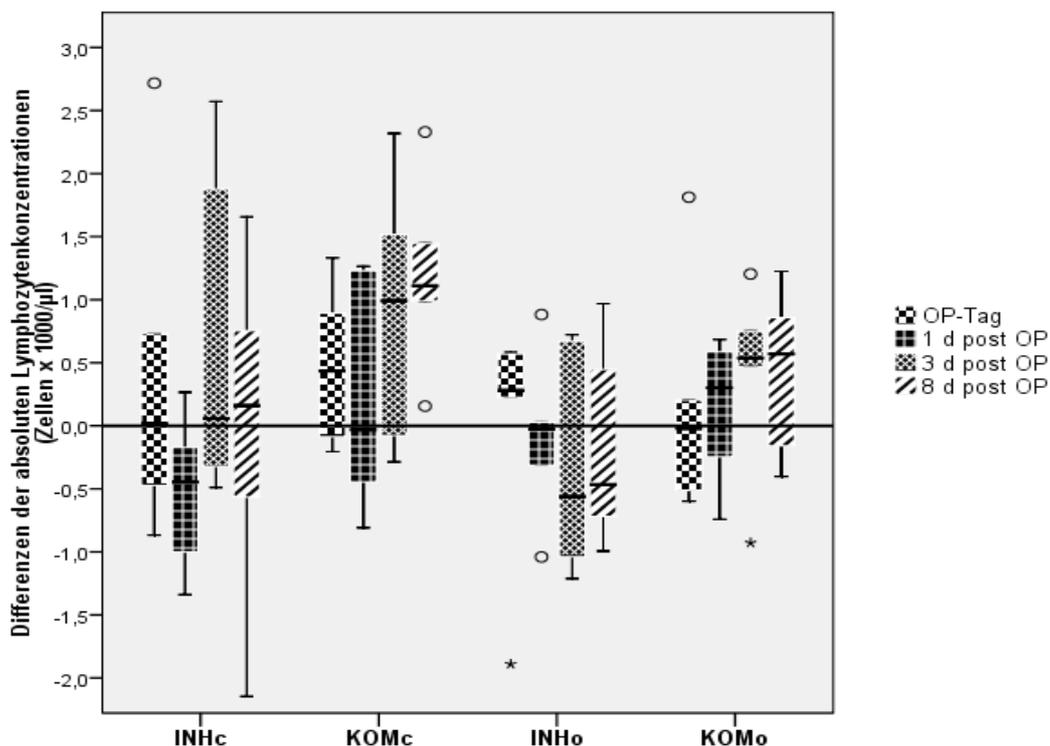


Abbildung 10 Differenzen der absoluten Lymphozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).

Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Die Untersuchung der Differenzen der prozentualen Konzentrationen (Abbildung 11) bestätigte die oben aufgeführten Beobachtungen.

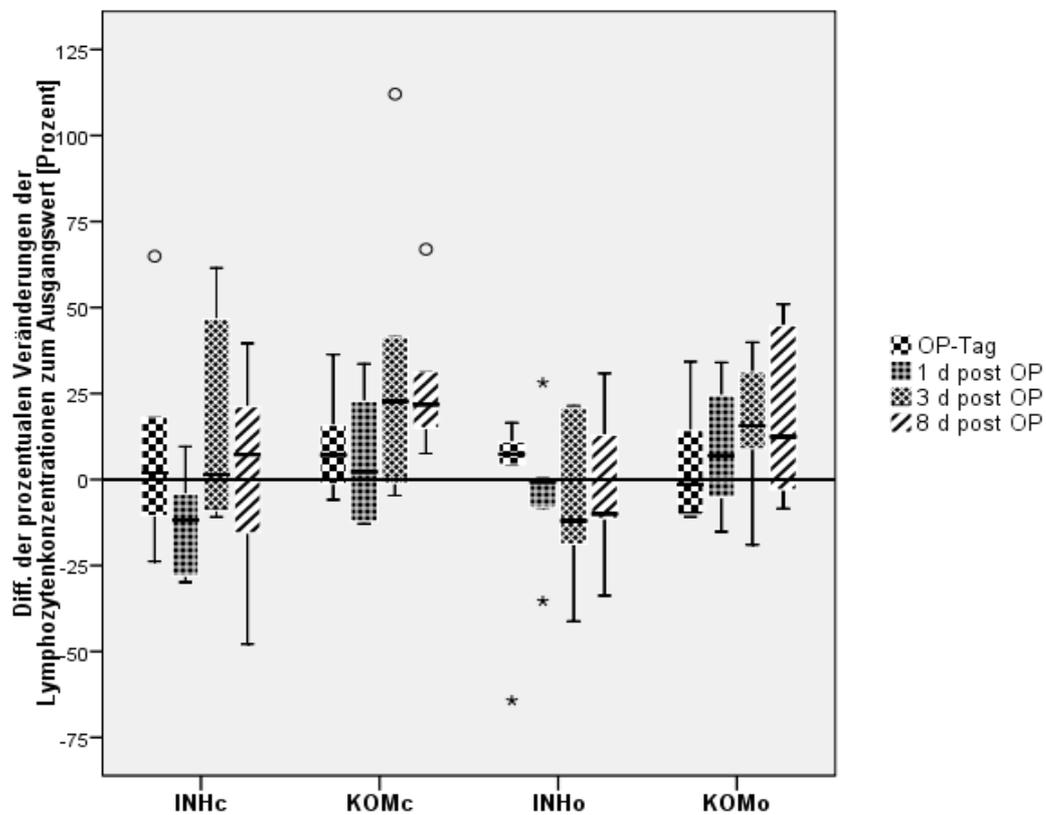


Abbildung 11 Differenzen (Diff.) der prozentualen Lymphozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Tabelle 2 Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Lymphozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff

Lymphozyten		INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
Absolute Lymphozytenkonzentration	1 d prä OP	p = 0,522	p = 1,000	p = 0,522	p = 0,873
	OP-Tag	p = 0,337	p = 0,631	p = 0,522	P = 0,749
	1 d post OP	p = 0,200	p = 0,200	p = 0,423	p = 0,631
	3 d post OP	p = 0,199	p = 0,749	p = 0,336	p = 0,423
	8 d post OP	p = 0,109	p = 0,631	p = 0,150	p = 0,423
Differenzen absoluter Lymphozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,337	p = 0,873	p = 0,423	p = 0,262
	1 d post OP	p = 0,200	p = 0,262	p = 1,000	p = 0,423
	3 d post OP	p = 0,631	p = 0,873	p = 0,522	p = 0,749
	8 d post OP	p = 0,078	p = 0,423	p = 0,078	p = 0,109
Differenzen der prozentualen Änderungen der Lymphozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,522	p = 0,749	p = 0,337	p = 0,631
	1 d post OP	p = 0,109	p = 0,337	p = 0,749	p = 0,337
	3 d post OP	p = 0,522	p = 0,200	p = 0,631	p = 0,262
	8 d post OP	p = 0,262	p = 0,631	p = 0,337	p = 0,078

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Das mixed-model zur Untersuchung der Verläufe der Lymphozytenkonzentrationen zwischen den Gruppen lieferte keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,452$).

4.3.3 CD4⁺ T-Zellen

Hier lieferte der Vergleich der absoluten Zellzahlen (Abbildung 12) bei den operierten Kälbern am ersten postoperativen Tag ($p = 0,037$) und am achten Tag postoperativ ($p = 0,010$) signifikante Unterschiede zwischen der Inhalations- (INHc) und der Kombinationsanästhesie (KOMc) (Tabelle 3). Nach einer Kombinationsanästhesie (Median erster postoperativer Tag 0,483; achter postoperativer Tag 0,840) waren zwei- bis dreimal so viele CD4⁺ T-Zellen vorhanden als nach einer Inhalationsanästhesie (Median erster postoperativer Tag 0,137; achter postoperativer Tag 0,386).

Diese deutlichen Unterschiede waren bereits einen Tag präoperativ sichtbar, wenn auch nicht signifikant (Median INHc 0,372; Median KOMc 0,720).

Bei der Untersuchung der Verläufe der $CD4^+$ -T-Zellkonzentrationen zwischen den Gruppen über den gesamten Probenzeitraum lieferte das mixed-model einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,001$). Beim Vergleich zwischen INHc und KOMc ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p = 0,014$),

Auch bei den Kontrolltieren ohne chirurgischen Eingriff (INHo; KOMo) waren signifikante Unterschiede zwischen den beiden Anästhesieformen nachweisbar, mit deutlich höheren absoluten Zellzahlen bei den Kälbern, die eine kombinierte Anästhesie erhielten. Jedoch waren diese Unterschiede bereits am Morgen vor der Anästhesie ($p = 0,037$) und damit vor jeglicher vorangehender Manipulation signifikant (Tabelle 3) (Median INHo 0,287; Median KOMo 0,691). Zudem wurde einen Tag postoperativ ($p = 0,006$) ein signifikanter Unterschied bei den Kontrollgruppen sichtbar (Median INHo 0,278; Median KOMo 0,563).

Unterstützt wird dieser Unterschied zwischen den beiden Kontrollgruppen auch durch das Ergebnis des mixed-model, welches für den Verlauf der $CD4^+$ T-Zellen zwischen INHo und KOMo einen p-Wert von 0,007 lieferte.

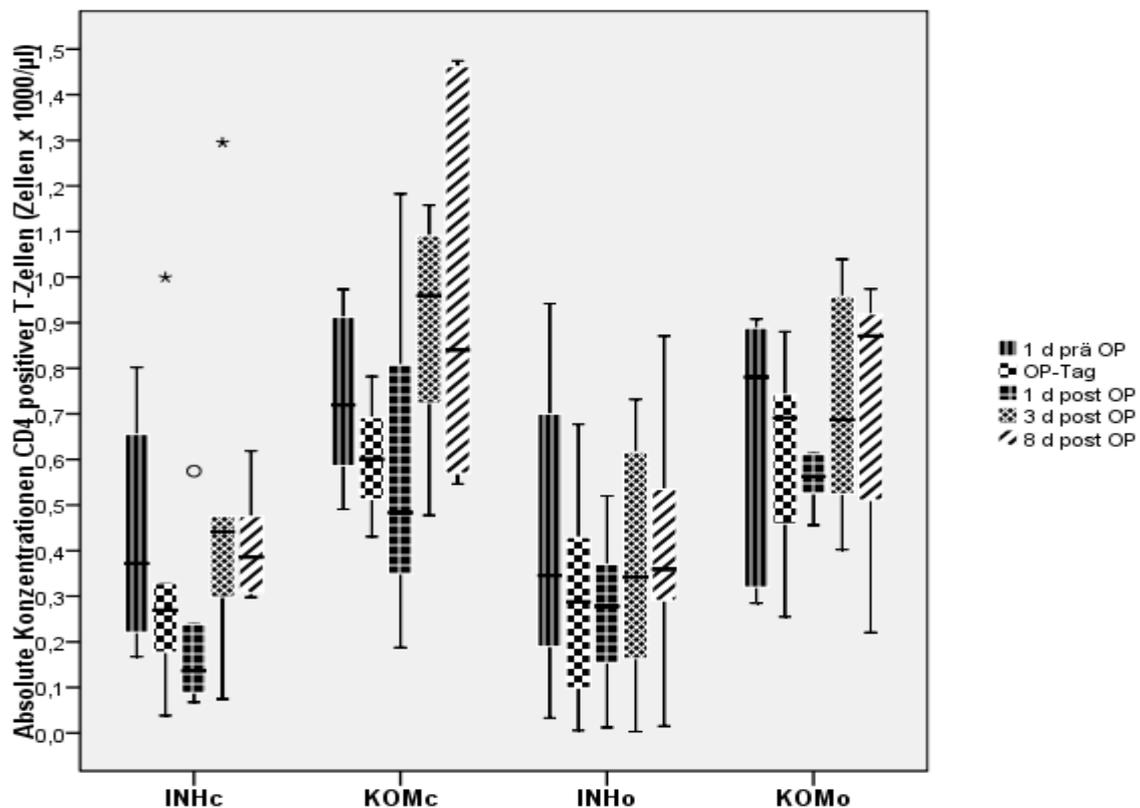


Abbildung 12 Absolute Konzentrationen der $CD4^+$ T-Zellen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Bei der Untersuchung der Differenzen der absoluten $CD4^+$ Konzentrationen zum Ausgangswert aller vier Gruppen zeigte sich bereits am OP-Tag, d.h. vor jeglicher Manipulation, ein deutlicher Abfall der $CD4^+$ T-Zellen im Vergleich zum Ausgangswert, der bei KOMo am geringsten ausfiel (Abbildung 13). Auch einen Tag postoperativ lagen die Werte bei allen vier Gruppen noch unter dem Basalwert (Medianwerte s. Tabelle 11 im Anhang). Diese Unterschiede waren jedoch zu keinem Probenzeitpunkt signifikant. An den darauf folgenden zwei Probetagen (drei bzw. acht Tage postoperativ) stiegen die Konzentrationen mit Ausnahme der INHo-Gruppe über die Ausgangswerte an. In der INHo-Gruppe blieben die Werte zu allen Messzeitpunkten unter dem Ausgangswert.

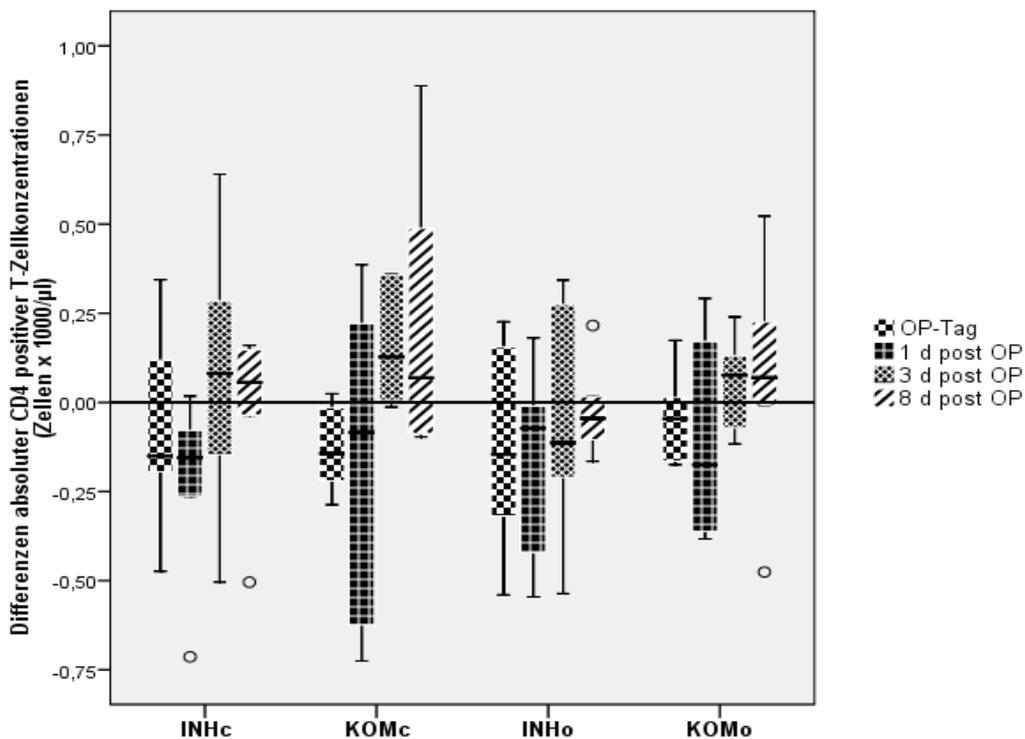


Abbildung 13 Differenzen der absoluten Konzentrationen $CD4^+$ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM).

Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen

Die Differenzen der prozentualen $CD4^+$ -Konzentrationen zum Ausgangswert (Abbildung 14) folgen demselben eben beschriebenen Muster.

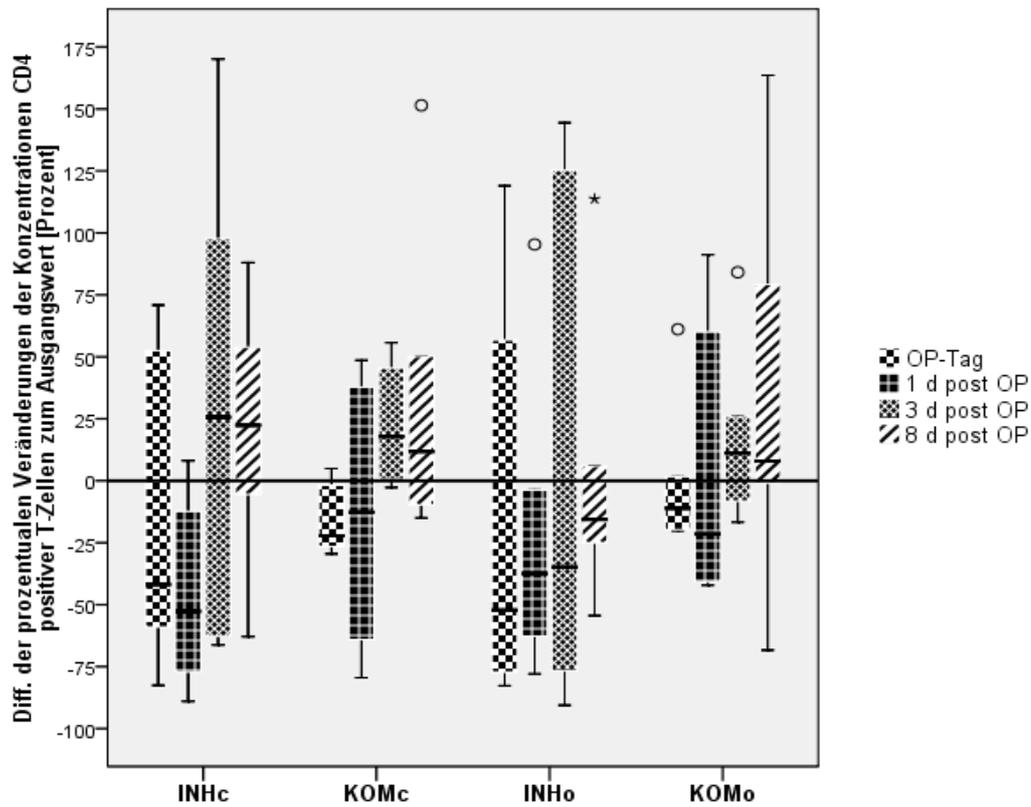


Abbildung 14 Differenzen (Diff.) der prozentualen Konzentrationen $CD4^+$ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Tabelle 3 Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten CD4⁺ T-Zellkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff

CD4⁺ T-Zellen		INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
Absolute CD4 ⁺ T-Zellkonzentration	1 d prä OP	p = 0,078	p = 0,873	p = 0,631	p = 0,262
	OP-Tag	p = 0,055	p = 0,873	p = 0,749	p = 0,037
	1 d post OP	p = 0,037	p = 0,423	p = 0,522	p = 0,006
	3 d post OP	p = 0,055	p = 0,749	p = 0,262	p = 0,078
	8 d post OP	p = 0,010	p = 0,749	p = 0,631	p = 0,109
Differenzen der absoluten CD4 ⁺ T-Zellkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,749	p = 0,749	p = 0,423	p = 0,631
	1 d post OP	p = 0,631	p = 0,631	p = 1,000	p = 0,749
	3 d post OP	p = 0,631	p = 0,423	p = 0,262	p = 0,522
	8 d post OP	p = 0,749	p = 0,423	p = 0,873	p = 0,200
Differenzen der prozentualen Änderungen der CD4 ⁺ T-Zellkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,337	p = 0,873	p = 0,150	p = 0,262
	1 d post OP	p = 0,337	p = 0,522	p = 0,631	p = 0,423
	3 d post OP	p = 1,000	p = 0,522	p = 0,631	p = 0,337
	8 d post OP	p = 1,000	p = 0,337	p = 1,000	p = 0,262

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff. Signifikante p-Werte sind in fetter Schreibweise dargestellt.

4.3.4 CD8⁺ T-Zellen

Auch die CD8⁺ T-Zellen wiesen beim Vergleich der absoluten Zellzahlen (Abbildung 15) signifikante Unterschiede bei den chirurgisch versorgten Tieren (INHc; KOMc) zwischen den beiden Anästhesieformen auf (Tabelle 4). Bei KOMc zeigten sich höhere CD8⁺ T-Zellkonzentrationen als bei INHc (Medianwerte s. Tabelle 12 im Anhang).

Es traten bereits am Tag vor der Anästhesie (p = 0,025) signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen mit chirurgischem Eingriff auf (Median INHc 0,346; Median KOMc 0,576). Des Weiteren waren Signifikanzen am ersten (p = 0,010) und achten (p = 0,037) postoperativen Tag festzustellen (Median INHc erster postoperativer Tag 0,186, achter postoperativer Tag 0,462; Median KOMc erster postoperativer Tag 0,661, achter postoperativer Tag 0,680).

Es war ebenso wie bei den CD4⁺ T-Zellen bei Untersuchung des Verlaufs der CD8⁺ T-

Zellkonzentrationen über den gesamten Probenzeitraum hinweg zwischen INHc und KOMc ein signifikanter Unterschied im mixed-model nachweisbar ($p = 0,019$). Anzumerken bleibt noch, dass bei INHc zu nahezu allen Untersuchungszeitpunkten die Medianwerte unterhalb derer der anderen Gruppen lagen.

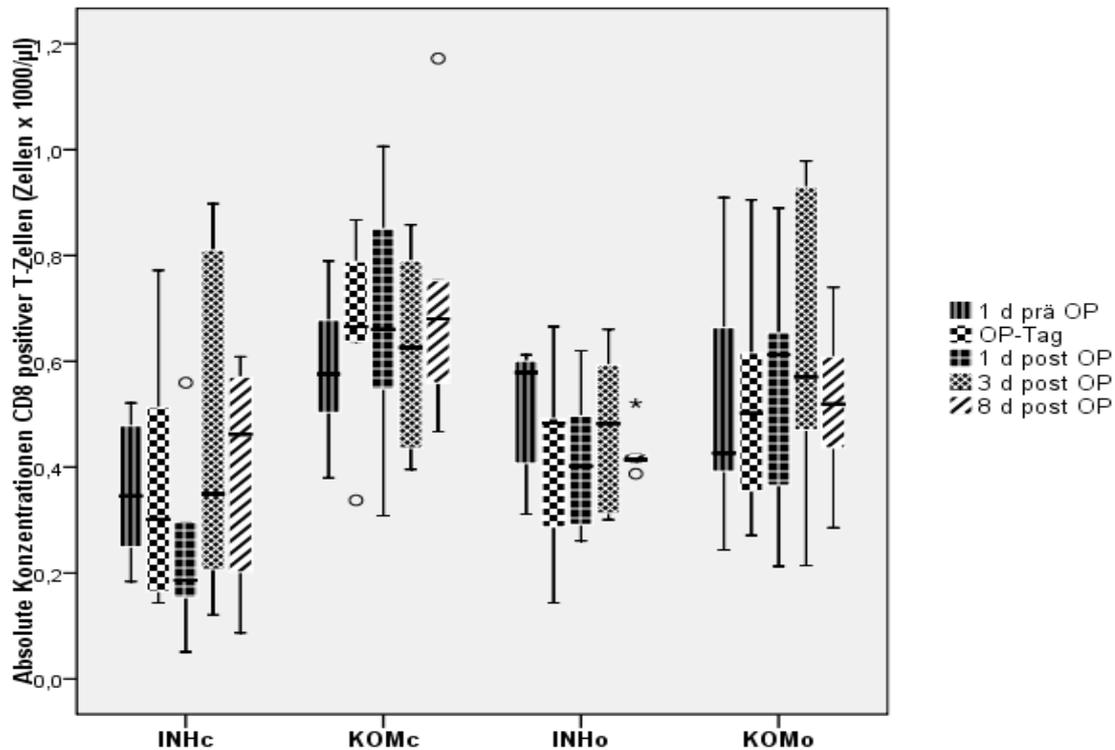


Abbildung 15 Absolute Konzentrationen der $CD8^+$ T-Zellen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Zudem konnte ein signifikanter Unterschied bei der Differenz der absoluten Zahlen zwischen dem ersten postoperativen und dem ersten präoperativen Tag bei den operierten Kälbern nachgewiesen werden ($p = 0,025$) (Median INHc $-0,103$; Median KOMc $0,117$). Die INHc-Gruppe wies zu allen Probenzeitpunkten, mit Ausnahme des Wertes acht Tage postoperativ, einen deutlichen Abfall der $CD8^+$ T-Zellen im Vergleich zum Ausgangswert auf, wohingegen bei KOMc die Zellzahlen stetig zunahmen. Der Abfall bei INHc war am ersten Tag postoperativ am ausgeprägtesten (Abbildung 16). Beim Vergleich der beiden Inhalationsanästhesiegruppen (INHc vs. INHo) fiel auf, dass die Konzentrationen der $CD8^+$ T-Zellen in der INHc-Gruppe am achten postoperativen Tag über die Ausgangswerte anstiegen (Median $0,041$), wohingegen bei der INHo-Gruppe zu diesem Probenzeitpunkt die tiefsten Werte erreicht wurden (Median $-0,167$). Es konnte jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Bei den Kontrolltieren (INHo vs. KOMo) konnten zwar keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Es zeigte sich aber ein ähnliches Bild wie bei den chirurgisch Versorgten. Nach einer Inhalationsnarkose kam es zum Absinken der Zellzahlen im Vergleich zum Ausgangswert.

Nach einer kombinierten Anästhesie lagen die Zellzahlen sowohl absolut als auch prozentual unabhängig davon, ob ein chirurgischer Eingriff stattfand (KOMc) oder nicht (KOMo), stets über dem Ausgangswert.

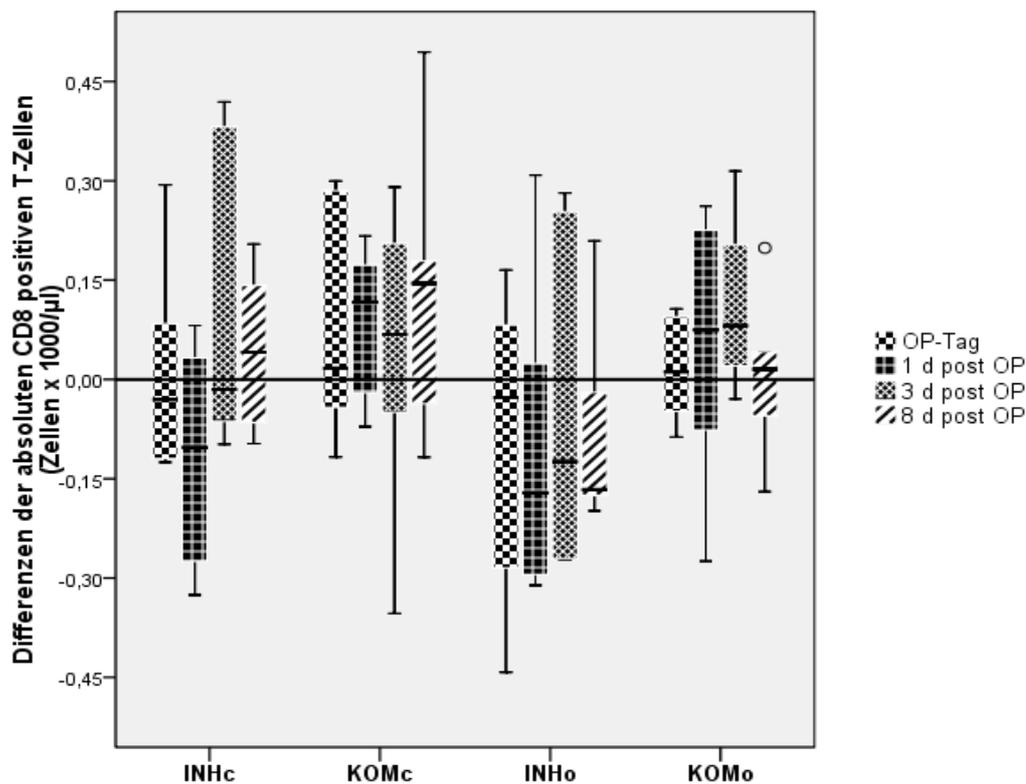


Abbildung 16 Differenzen der absoluten Konzentrationen CD8⁺ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen

Die CD8⁺ T-Zellkonzentration lieferte auch bei der Darstellung der prozentualen Schwankungen der absoluten Werte (Abbildung 17) einen Tag postoperativ zum Ausgangswert einen signifikanten Unterschied ($p = 0,025$) bei den Tieren mit chirurgischem Eingriff (Median INHc - 45,676; Median KOMc 21,676). Es kam wiederum zu absinkenden Konzentrationen bei INHc und geringen Anstiegen bei KOMc.

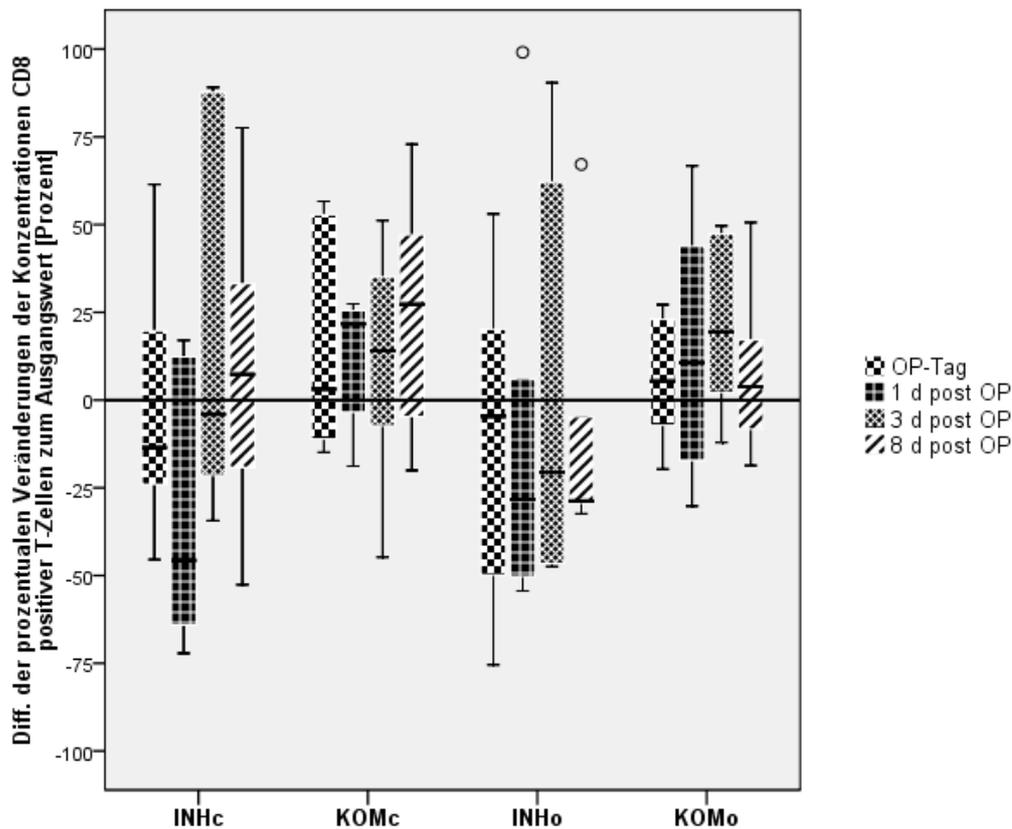


Abbildung 17 Differenzen (Diff.) der prozentualen Konzentrationen CD8⁺ T-Zellen am Morgen vor der Anästhesie/OP bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Tabelle 4 Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten CD8⁺ T-Zellkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff

CD8 ⁺ T-Zellen		INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
Absolute CD8 ⁺ T-Zell-Konzentration	1 d prä OP	p = 0,025	p = 0,055	p = 0,423	p = 0,873
	OP-Tag	p = 0,055	p = 0,631	p = 0,200	p = 0,337
	1 d post OP	p = 0,010	p = 0,078	p = 0,522	p = 0,262
	3 d post OP	p = 0,337	p = 0,631	p = 1,000	p = 0,423
	8 d post OP	p = 0,037	p = 0,522	p = 0,109	p = 0,109
Differenzen der absoluten CD8 ⁺ T-Zellkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,522	p = 0,631	p = 0,749	p = 0,522
	1 d post OP	p = 0,025	p = 0,873	p = 1,000	p = 0,262
	3 d post OP	p = 1,000	p = 0,262	p = 0,631	p = 0,200
	8 d post OP	p = 0,423	p = 0,150	p = 0,337	p = 0,150
Differenzen der prozentualen Änderungen der CD8 ⁺ T-Zell-Konzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,377	p = 0,749	p = 0,873	p = 0,522
	1 d post OP	p = 0,025	p = 0,423	p = 0,749	p = 0,200
	3 d post OP	p = 1,000	p = 0,522	p = 0,873	p = 0,423
	8 d post OP	p = 0,631	p = 0,337	p = 0,423	p = 0,109

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff. Signifikante p-Werte sind in fetter Schreibweise dargestellt.

4.3.5 CD4⁺/CD8⁺-Ratio

Die statistische Überprüfung der CD4⁺/CD8⁺-Ratio lieferte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (Tabelle 5). Median- und Quartilwerte sind der Tabelle 14 im Anhang zu entnehmen.

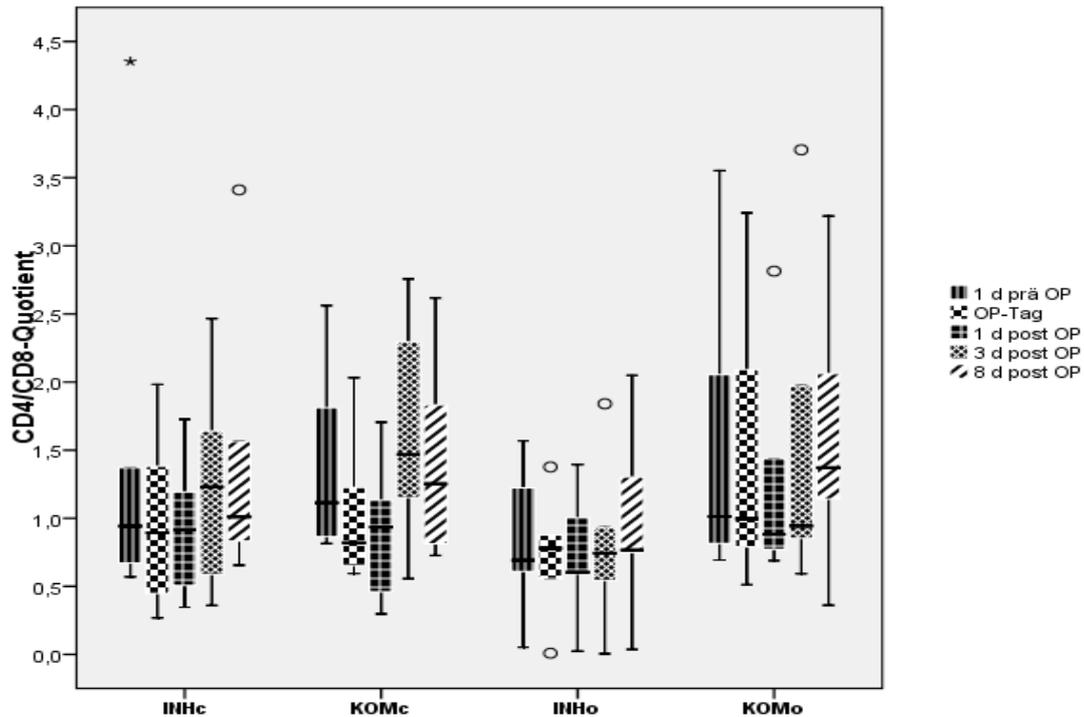


Abbildung 18 Quotient der CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen (CD4⁺/CD8⁺-Ratio) im Blut von Kälbern mit (c) und ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Tabelle 5 Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für den Vergleich der Mediane der CD4⁺/CD8⁺-Ratio im Blut von Kälbern zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff

CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Ratio	INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
1 d prä OP	p = 0,522	p = 0,522	p = 1,000	p = 0,150
OP-Tag	p = 0,631	p = 0,749	p = 0,423	p = 0,200
1 d post OP	p = 0,749	p = 0,522	p = 0,749	p = 0,109
3 d post OP	p = 0,423	p = 0,337	p = 0,522	p = 0,150
8 d post OP	p = 0,749	p = 0,337	p = 0,631	p = 0,150

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

4.3.6 Monozyten

Die absoluten Monozytenkonzentrationen verhielten sich bis zum Probenzeitpunkt einen Tag postoperativ nahezu identisch, wenn man davon absieht, dass die KOMc-Gruppe mit höheren Konzentrationen in den Versuch startete (Abbildung 19).

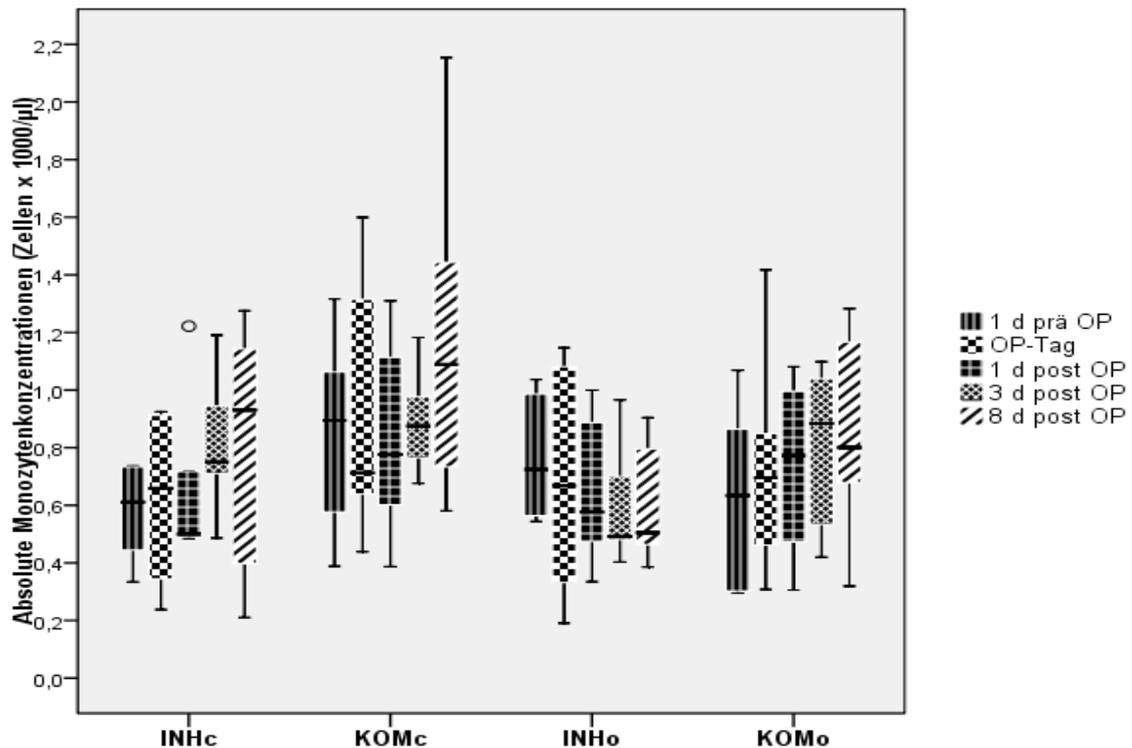


Abbildung 19 Absolute Monozytenkonzentrationen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Bei den operierten Tieren waren keine signifikanten Unterschiede bei den Monozytenkonzentrationen feststellbar. Die Zellzahlen verhielten sich bei den beiden Gruppen aber trotzdem recht unterschiedlich. Während sie bei INHc am OP-Tag nur geringstgradig anstiegen (Median 0,003), war dieser Anstieg bei KOMc ausgeprägter (Median 0,062). Einen Tag postoperativ drehte sich das Bild. Bei INHc war ein geringer Anstieg zu verzeichnen (Median 0,014), bei KOMc hingegen ein minimaler Abfall gegenüber dem Ausgangswert (Median - 0,004). Dieser Trend setzte sich am dritten postoperativen Tag fort (Median INHc 0,053; Median KOMc - 0,052). Acht Tage postoperativ lagen die Werte dann in beiden Gruppen deutlich über dem Ausgangswert. Bei Tieren, die mit einer Inhalationsanästhesie in Narkose versetzt wurden, konnte unabhängig davon, ob ein chirurgischer Eingriff erfolgte oder nicht (INHc; INHo), bei

der Differenz der absoluten Monozytenkonzentration drei Tage postoperativ zu einem Tag präoperativ ein signifikanter Unterschied ($p = 0,004$) festgestellt werden (Tabelle 6) (Median INHc 0,053; Median INHo – 0,155). Bei anschließender chirurgischer Intervention (INHc) kam es ab dem ersten postoperativen Tag zu einem Anstieg der Monozytenkonzentration im Vergleich zum Ausgangswert. Eine alleinige Inhalationsanästhesie führte hingegen zu einem stetigen Abfall der Konzentration, mit den niedrigsten Monozytenzahlen am achten postoperativen Tag. Die genauen Medianwerte sind aus Tabelle 15 im Anhang ersichtlich.

Bei einer kombinierten Anästhesie (KOMc, KOMo) waren die Konzentrationen nur geringen Schwankungen unterworfen. KOMc wies am achten postoperativen Tag höhere Werte als am präoperativen Tag auf (Median 0,160). Im Gegensatz dazu fielen die Konzentrationen bei KOMo nach vorherigen Zunahmen zu diesem Probenzeitpunkt geringfügig wieder ab.

Weitere Ergebnisse lieferten die beiden Kontrollgruppen (KOMo; INHo). Hier konnte an allen drei postoperativen Tagen (1 d post OP, 3 d post OP, 8 d post OP) bei Untersuchung der Differenz zum Ausgangswert (1 d präop) ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Kontrollgruppen nachgewiesen werden (1 d post OP: $p = 0,025$; 3 d post OP: $p = 0,016$; 8 d post OP: $p = 0,006$). Bei einer Kombinationsanästhesie lagen die Monozytenwerte dabei stets über dem Ausgangswert. Bei INHo kam es zu den oben bereits erwähnten Abfällen. Medianwerte sind in Tabelle 14 im Anhang aufgeführt.

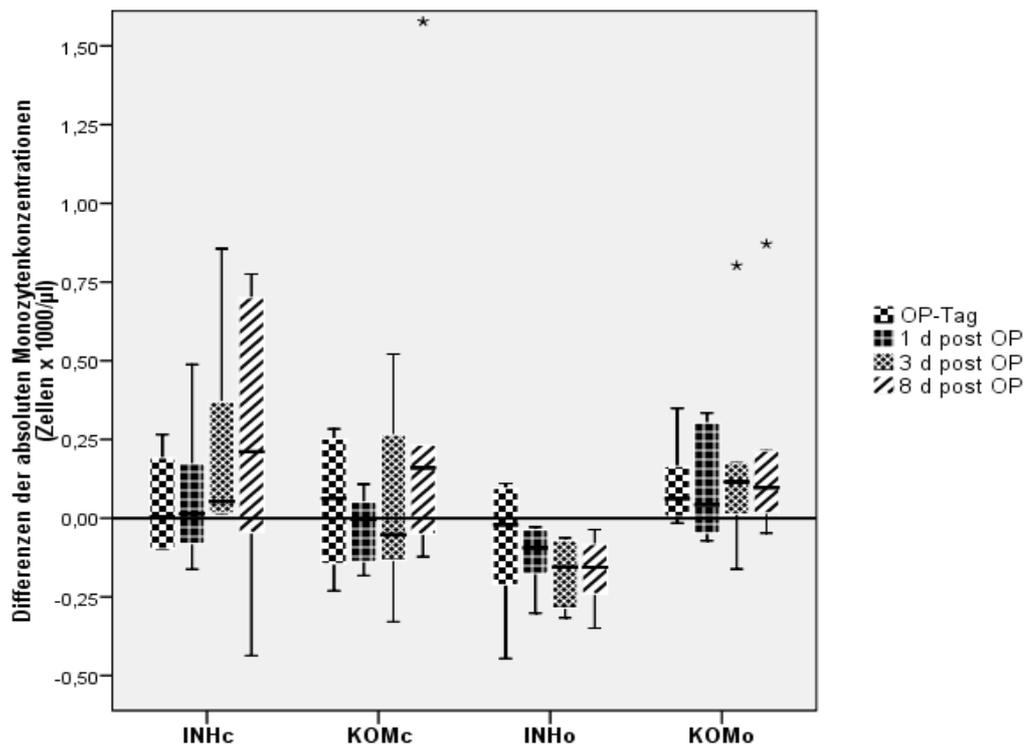


Abbildung 20 Differenzen der absoluten Monozytenkonzentrationen am Morgen vor der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Auch bei der statistischen Untersuchung der prozentualen Schwankungen der absoluten Monozytenzahlen zum Ausgangswert ergaben sich signifikante Unterschiede (Tabelle 6). Und zwar einerseits wieder unabhängig davon, ob ein chirurgischer Eingriff stattfand oder nicht, bei den Tieren, die eine Inhalationsanästhesie erhielten (INHc; INHo). Hier waren die Unterschiede am ersten postoperativen Tag ($p = 0,004$) und am dritten postoperativen Tag ($p = 0,004$) gegenüber dem Ausgangswert signifikant. Der Verlauf der Konzentrationen stellte sich gleich dar wie bei den Differenzen der absoluten Monozytenkonzentrationen, eine stetige Zunahme bei INHc und ein fortschreitender Abfall bei INHo (Abbildung 21).

Zum anderen ergaben sich wiederum bei den beiden Kontrollgruppen (KOMo; INHo) am ersten ($p = 0,016$), dritten ($p = 0,016$) und achten ($p = 0,004$) Tag postoperativ signifikante Unterschiede. Exakte Medianwerte sind Tabelle 14 im Anhang zu entnehmen.

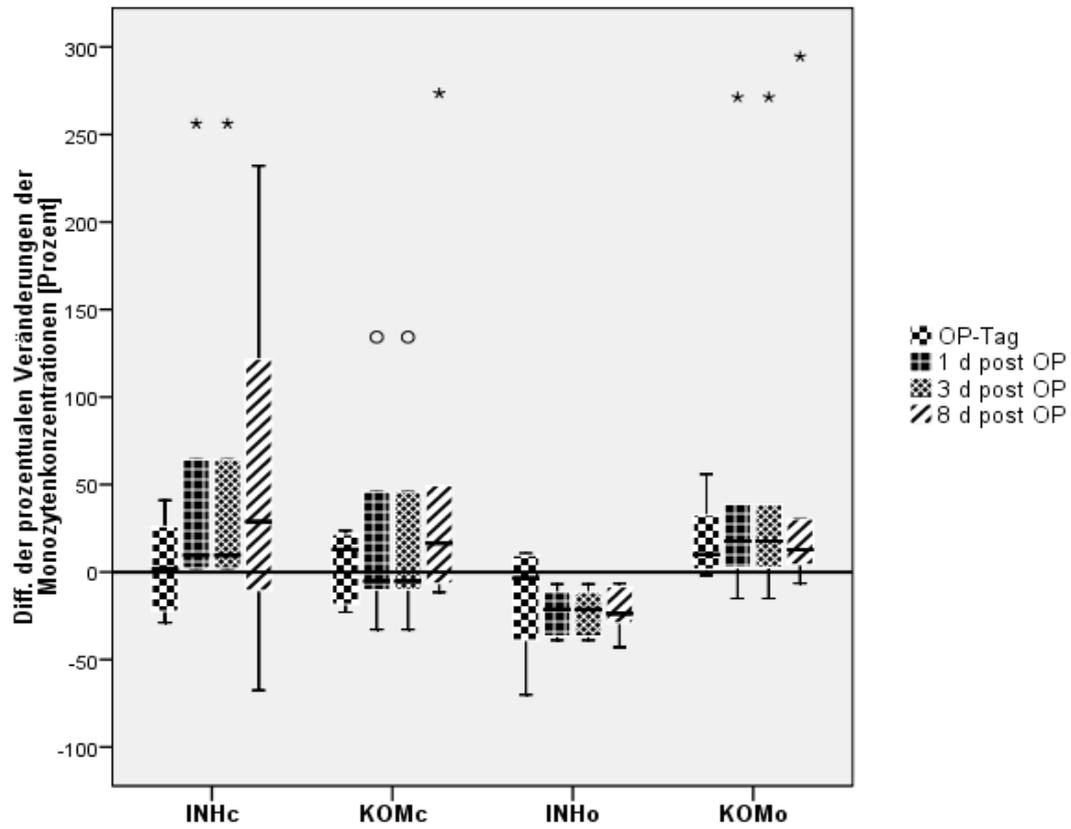


Abbildung 21 Differenzen (Diff.) der prozentualen Monozytenkonzentrationen am OP-Tag bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Tabelle 6 Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten Monozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren mit und ohne chirurgischen Eingriff

Monozyten		INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
Absolute Monozytenkonzentrationen	1 d prä OP	p = 0,109	p = 0,262	p = 0,262	p = 0,423
	OP-Tag	p = 0,337	p = 0,873	p = 0,631	p = 0,749
	1 d post OP	p = 0,337	p = 1,000	p = 0,522	p = 0,749
	3 d post OP	p = 0,423	p = 0,109	p = 0,749	p = 0,150
	8 d post OP	p = 0,337	p = 0,423	p = 0,262	p = 0,262
Differenzen der absoluten Monozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 1,000	p = 0,522	p = 0,749	p = 0,150
	1 d post OP	p = 0,150	p = 0,055	p = 0,423	p = 0,025
	3 d post OP	p = 0,150	p = 0,004	p = 0,423	p = 0,016
	8 d post OP	p = 0,873	p = 0,078	p = 1,000	p = 0,006
Differenzen der prozentualen Änderungen der Monozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,873	p = 0,423	p = 0,749	p = 0,078
	1 d post OP	p = 0,150	p = 0,004	p = 0,423	p = 0,016
	3 d post OP	p = 0,150	p = 0,004	p = 0,423	p = 0,016
	8 d post OP	p = 1,000	p = 0,109	p = 0,873	p = 0,004

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff. Signifikante p-Werte sind in fetter Schreibweise dargestellt.

Die Verlaufsuntersuchung der Monozytenkonzentrationen lieferte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es ergab sich im mixed-model ein p-Wert von 0,245.

4.3.7 Neutrophile Granulozyten

Bei Betrachtung der neutrophilen Granulozyten lieferte die statistische Untersuchung der absoluten Konzentrationen erste Anhaltspunkte für ein unterschiedliches Verhalten der Zellen abhängig vom verwendeten Anästhesieverfahren (Tabelle 7).

Am dritten Tag postoperativ war ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden operierten Gruppen (INHc; KOMc) feststellbar ($p = 0,025$). Die neutrophilen Granulozyten verhielten sich hier genau gegenläufig zu dem Bild, welches sich bei den Lymphozyten zeigte. Unter der Inhalationsnarkose stiegen die Zellzahlen signifikant stärker an als unter der kombinierten Anästhesie (Abbildung 22) (Median INHc 3,696; Median KOMc 2,951).

Zudem ergaben sich bei Tieren mit Inhalationsanästhesie unabhängig davon, ob ein chirurgischer Eingriff erfolgte oder nicht (INHc; INHo), sowohl am ersten Tag ($p = 0,004$) als auch am dritten Tag ($p = 0,025$) postoperativ signifikante Unterschiede; nach einem chirurgischen Eingriff stiegen die Werte an, nach einer alleinigen Inhalationsnarkose sanken die Granulozytenkonzentrationen (Median INHc erster postoperativer Tag 2,676, dritter postoperativer Tag 3,696; INHo erster postoperativer Tag 1,196; dritter postoperativer Tag 2,213, s. Abb. 22). Dieses Bild zeigte sich auch schon bei den Monozyten.

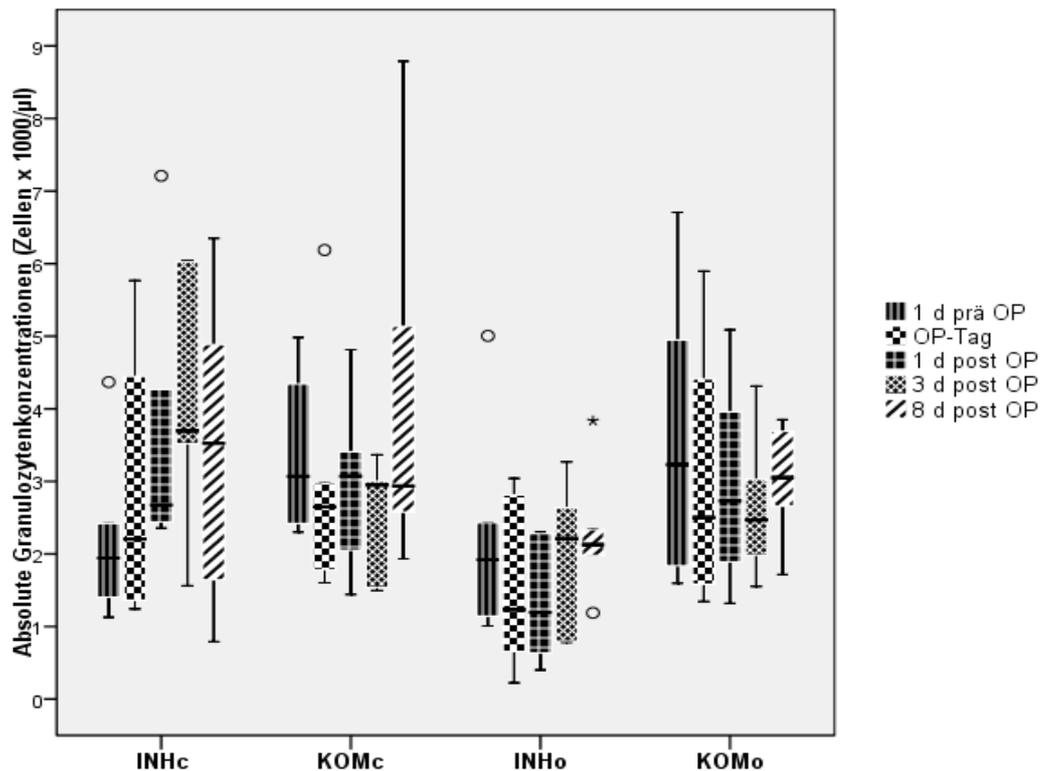


Abbildung 22 Absolute neutrophile Granulozytenkonzentrationen im Blut von Kälbern mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM) zu den einzelnen Probenzeitpunkten. Dargestellt sind die Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Bei den beiden chirurgisch versorgten Gruppen (INHc; KOMc) konnte am dritten postoperativen Tag ein signifikanter Unterschied ($p = 0,025$) der absoluten neutrophilen Granulozytenkonzentrationen zum Ausgangswert festgestellt werden. Im Vergleich zum Ausgangswert fielen sie bei der Kombinationsnarkose ab (Median - 1,253), stiegen jedoch bei der Isoflurannarkose an (Median 1,455) (Abbildung 23).

Bereits am OP-Tag unmittelbar vor dem Eingriff war bei den Tieren mit einer Inhalationsanästhesie (INHc; INHo) ein signifikanter Unterschied ($p = 0,037$) zum präoperativen Tag nachweisbar, mit steigenden Konzentrationen bei INHc (Median 0,097) und sinkenden bei INHo (Median - 0,809). Dieser Trend setzte sich an den folgenden Proben Tagen fort.

Unter einer kombinierten Anästhesie zeigten die neutrophilen Granulozyten bei den operierten Kälbern (KOMc) und den Kontrolltieren (KOMo) einen ähnlichen Verlauf. Ab dem OP-Tag kam es zu Abfällen im Vergleich zum Ausgangswert und die Konzentrationen lagen auch acht Tage postoperativ noch unter diesem. Die Medianwerte sind in Tabelle 15 im Anhang aufgeführt.

Bei Vergleich der beiden Kontrolltiergruppen (INH_o und KOM_o) verhielten sich die neutrophilen Granulozyten unabhängig vom Anästhesieregime ähnlich und ohne signifikante Unterschiede. Es kam bereits ab dem OP-Tag zu einem Abfall der Werte. Festzuhalten bleibt noch, dass der Abfall bei INH_o am ersten postoperativen Tag, bei KOM_o erst am achten postoperativen Tag am stärksten ausfiel.

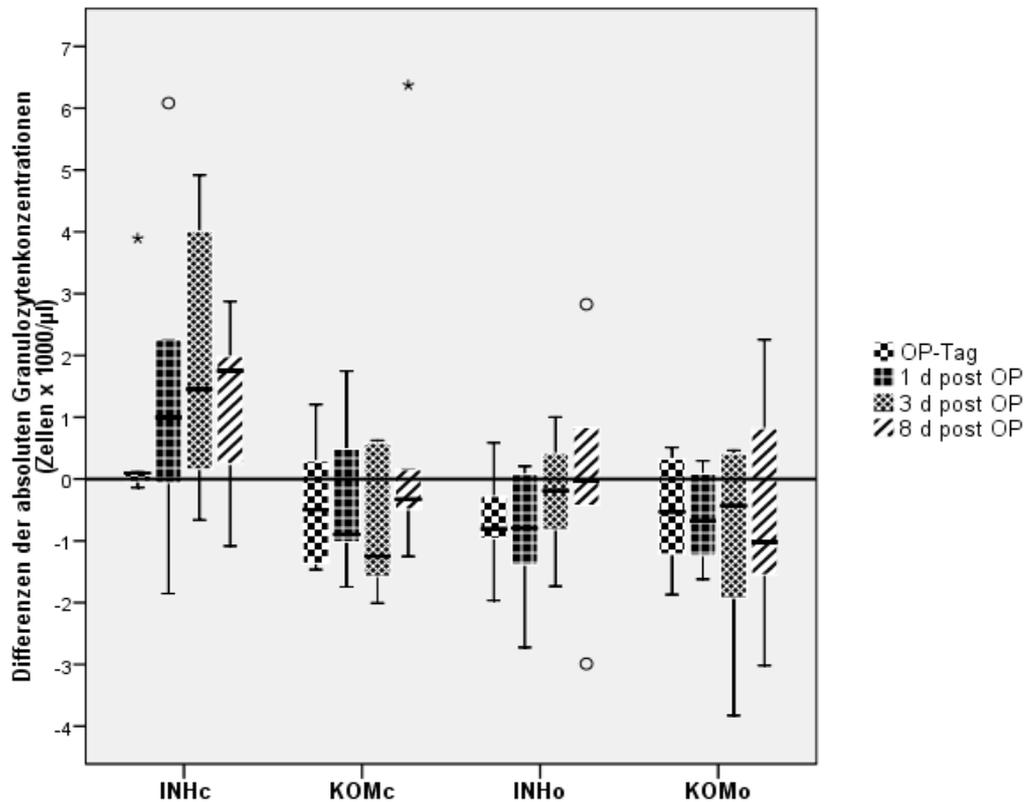


Abbildung 23 Differenzen der absoluten neutrophilen Granulozytenkonzentrationen am Morgen der Anästhesie/OP (OP-Tag) bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert (Wert einen Tag vor der Anästhesie/Operation) der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Zuletzt lieferten auch noch die prozentualen Schwankungen der absoluten neutrophilen Granulozytenkonzentrationen zum Ausgangswert signifikante Unterschiede (Abbildung 24). Sowohl bei der OP-Gruppe (Median INH_c 69,984; Median KOM_c - 31,390) am dritten postoperativen Tag ($p = 0,025$), als auch bei Betrachtung der Tiere, die einer Inhalationsanästhesie unterzogen wurden (INH_c, INH_o). Bei diesen Tieren ergaben sich signifikante Unterschiede bereits am OP-Tag ($p = 0,037$) (Median INH_c 3,799; Median INH_o - 36,791) und zudem am ersten postoperativen Tag ($p = 0,025$) (Median INH_c 62,454; Median INH_o - 55,824).

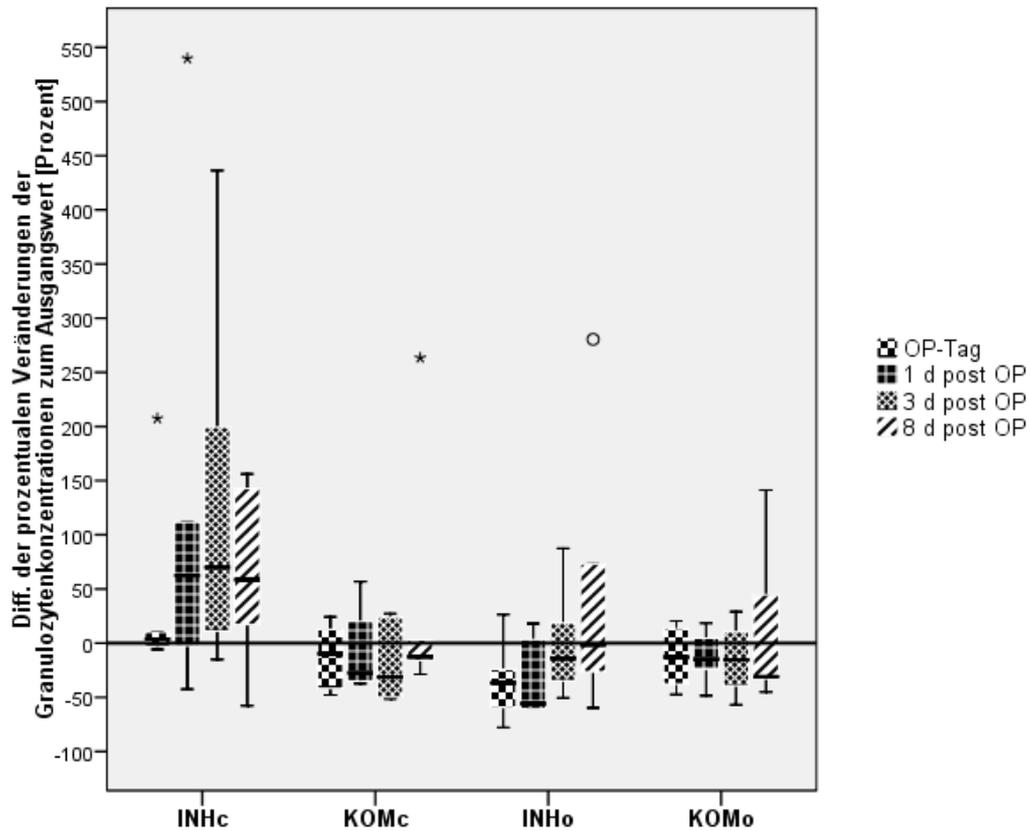


Abbildung 24 Differenzen (Diff.) der prozentualen neutrophilen Granulozytenkonzentrationen am OP-Tag bzw. den postoperativen Probenzeitpunkten zum Ausgangswert der Kälber mit (c) oder ohne (o) chirurgischen Eingriff unter Inhalationsanästhesie (INH) oder kombinierter Anästhesie (KOM). Dargestellt sind Boxplots mit Medianen und Quartilen.

Anzumerken bleibt noch, dass sich bei den neutrophilen Granulozyten ein ähnliches Bild wie bei den Gesamtleukozytenkonzentrationen zeigte. Auch hier kam es bei allen Gruppen bis auf die INHc-Gruppe zu einem Absinken der Werte im Vergleich zum Ausgangswert. Bei INHc war v.a. ab dem ersten postoperativen Tag ein deutlicher Anstieg festzustellen. Der Verlauf der Medianwerte ist Tabelle 15 im Anhang zu entnehmen.

Tabelle 7 Ergebnisse der statistischen Tests (paarweiser Gruppenvergleich mit Mann-Whitney-U-Test) für die absoluten neutrophilen Granulozytenkonzentrationen (Mediane) im Blut von Kälbern sowie der Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff

Granulozyten		INHc vs. KOMc	INHc vs. INHo	KOMc vs. KOMo	INHo vs. KOMo
Absolute Granulozytenkonzentrationen	1 d prä OP	p = 0,065	p = 1,000	p = 0,873	p = 0,200
	OP-Tag	p = 0,522	p = 0,200	p = 0,873	p = 0,109
	1 d post OP	p = 0,873	p = 0,004	p = 1,000	p = 0,078
	3 d post OP	p = 0,025	p = 0,025	p = 0,937	p = 0,522
	8 d post OP	p = 0,749	p = 0,337	p = 0,818	p = 0,150
Differenzen der absoluten Granulozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,631	p = 0,037	p = 0,873	p = 0,749
	1 d post OP	p = 0,200	p = 0,078	p = 0,749	p = 0,749
	3 d post OP	p = 0,025	p = 0,055	p = 0,749	p = 0,522
	8 d post OP	p = 0,200	p = 0,200	p = 0,337	p = 0,337
Differenzen der prozentualen Änderungen der Granulozytenkonzentrationen zum Ausgangswert (1 d prä OP)	OP-Tag	p = 0,631	p = 0,037	p = 0,873	p = 0,262
	1 d post OP	p = 0,150	p = 0,025	p = 0,873	p = 0,150
	3 d post OP	p = 0,025	p = 0,055	p = 0,749	p = 0,631
	8 d post OP	p = 0,262	p = 0,423	p = 0,200	p = 0,423

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff. Signifikante p-Werte sind in fetter Schreibweise dargestellt.

Bei Betrachtung der Verläufe der neutrophilen Granulozytenkonzentrationen über den gesamten Probenzeitraum ergaben sich im mixed-model keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ($p = 0,059$).

V. DISKUSSION

5.1 Studienziel

Die vorliegende Studie untersuchte den Einfluss von zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren auf das Immunsystem von Kälbern. Aus zahlreichen humanmedizinischen Studien ist bekannt, dass eine Anästhesie in Kombination mit einem chirurgischen Eingriff zu einer negativen Beeinflussung des Immunsystems mit Veränderungen der Immunzellen führt. Im bovinen Bereich gibt es hierzu nur sehr wenige Untersuchungen. Zwei Studien über die Kastration von Kälbern unter verschiedenen Narkose- und Analgesieregimes befassen sich mit den postoperativen Veränderungen von Kortisol, der Gesamtleukozytenzahl, den Akute-Phase-Proteinen Fibrinogen und Haptoglobin, sowie der $IFN\gamma$ -Produktion [EARLEY u. CROWE, 2002; TING et al., 2003]. Es werden jedoch keine Lymphozytensubpopulationen untersucht. Dies war der Ansatzpunkt unserer Studie.

Um eine Aussage darüber treffen zu können, ob eine Anästhesie alleine schon Veränderungen an den Immunzellkonzentrationen im Blut hervorruft, hatten wir in unserem Versuch eine Kontrollgruppe, in der wir die Kälber lediglich einer Anästhesie ohne chirurgische Intervention unterzogen. In der vorhandenen Literatur sind sich die Autoren nicht ganz einig, ob eine Anästhesie alleine ausreicht, um Veränderungen in der Zusammensetzung von Lymphozytensubpopulationen hervorzurufen. Dieser Fragestellung wollten wir mit unserer Studie ebenfalls nachgehen.

5.2 Material und Methode

Das Alter unserer Kälber lag zwischen knapp zwei Wochen und drei Monaten (12-111 Tage). Die Gesamtleukozytenzahl im Blut von Kälbern entspricht jedoch schon unmittelbar nach dem Abklingen der geburtsbedingten Leukozytose weitestgehend den Werten adulter Rinder ($4-12 \times 10^9$ Zellen/l) [BRUN-HANSEN et al., 2006]. Es ist allgemein bekannt, dass das spezifische Immunsystem nach der Geburt erst einer Art Adaptationsprozess unterworfen ist.

Eine Angleichung der Lymphozytensubpopulationen an die absoluten und relativen Zahlen derjenigen adulter Tiere mit einem Referenzbereich von $1,9 - 5,9 \times 10^9$ Zellen/l

erfolgt bei Kälbern nach den Untersuchungen von BRUN-HANSEN et al. (2006) und KAMPEN et al. (2006) erst mit einem Alter von 7 bis 8 Monaten. BRUN-HANSEN et al. (2006) stellen jedoch bereits bei bis zu 5 Wochen alten Kälbern höhere Lymphozytenkonzentrationen als bei adulten Tieren fest. Bis zur 12. Lebenswoche findet eine stete Zunahme der Lymphozytenzellzahl statt.

Eine weitere Unterteilung der Lymphozyten findet aufgrund Unterschieden in den Oberflächenmarkern, den sog. „Cluster of differentiation“ (CD), statt. Beim Rind sind ca. 30-40 % der T-Lymphozyten CD4-positiv [BALDWIN et al., 1986; BENSAID u. HADAM, 1991; PARK et al., 1992; WILSON et al., 1996; KAMPEN et al., 2006], mit altersabhängigen Schwankungen. AYOUB und YANG (1996) berichten von 20-35 % CD4-positiven Zellen bei Kälbern bis zum sechsten Lebensmonat – höchste Werte bei 2-4 Tage alten Kälbern [KAMPEN et al., 2006] - und ungefähr 15 % bei Adulten.

Aufgrund der doch recht großen Altersspanne der Tiere in der vorliegenden Studie kann es sich um eine unterschiedlich weit ausgereifte spezifische Immunabwehr gehandelt haben. Dies erklärt vielleicht auch die große Streuung - wenn auch selten mit signifikanten Unterschieden - unserer ermittelten Werte bei den einzelnen untersuchten Parametern. Somit hätte möglicherweise ein engeres Zeitfenster für das Alter der Kälber im Versuch gewählt werden sollen.

Zudem ist aus humanmedizinischen Studien bekannt, dass Neugeborene gegenüber chirurgischem Stress anfälliger sind, als adulte Individuen mit einem ausgereiften Immunsystem [SALO, 1992]. Dies könnte ein weiterer Grund für die große Streuung unserer Ergebnisse gewesen sein, war unser jüngstes Versuchstier doch erst 12 Tage alt und das älteste bereits 111 Tage und deren Immunsystem somit unterschiedlich weit entwickelt.

Zu berücksichtigen ist auch, dass die Stichprobenplanung auf einer Studie beruhte, welche die Lymphozytensubpopulationen, u.a. die CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, bei fünf bis sechs Jahre alten Wasserbüffeln [RAJ et al., 2007] untersucht. Hier ist die Streuung der Werte nicht so groß wie es letztlich bei unseren Probanden war. Es spielte hier möglicherweise erneut das Alter der untersuchten Tiere eine Rolle.

Zuletzt könnte an unserer Studie auch der Zukauf der Tiere problematisch gewesen sein. Ein Großteil der Tiere wurde auf einem Kälbermarkt zugekauft. Über die Vorgeschichte dieser Kälber, bspw. ob sie beim Vorbesitzer an Kälberdurchfall oder einer

Atemwegserkrankung litten, deren akute Phase zum Zeitpunkt des Verkaufes bereits überstanden war, war nichts bekannt. Selbst wenn eine mögliche Erkrankung einige Tage zurücklag, konnten wir einen noch bestehenden Einfluss auf das Immunsystem nicht ausschließen.

Leider konnten leichte Lungenproblematiken bei den Tieren unmittelbar vor der Anästhesie auch nicht immer vollständig ausgeschlossen werden. Selbst bei der von anderen Kliniktieren weitgehend isolierten Aufstallung der Versuchstiere kann es zu einer Keimverschleppung gekommen sein. Generell ist der Keimdruck in der Klinik verständlicherweise höher als im heimatlichen Stall, und auch das Erregerspektrum, mit dem sich die Tiere auseinander setzen müssen, ist ein anderes. Dies kann auch zu einer individuellen stärkeren oder schwächeren Aktivierung und Beeinflussung des Immunsystems geführt haben und damit die große Streuung unserer Ergebnisse erklären.

Welche Stressauswirkungen bereits die Verkaufsveranstaltung inkl. Transport und die neue Umgebung auf die Tiere und deren Immunsystem hatten, konnten wir auch nicht beurteilen. Die Auswirkungen eines Transports auf die Immunzellen untersuchten RIONDATO et al. (2008) und fanden bei den Lymphozyten eine Woche nach dem Transport noch erhöhte Werte. Da unsere Kälber im Schnitt fünf Tage nach dem Transport einer Anästhesie unterzogen wurden, könnte auch der Transportstress noch einen Einfluss auf die Immunzellen gehabt haben und somit unsere Ergebnisse beeinflusst haben.

Nicht zuletzt können auch methodische Probleme als Ursache für eine große Streuung der Werte nicht ausgeschlossen werden. Einerseits war die Erythrozytenlyse nicht bei jeder Probe gleich effektiv, hier gab es v.a. sehr tierindividuelle Unterschiede. Andererseits kann es während der Probenaufbereitung auch zum individuellen oder selektiven Verlust bestimmter Leukozytenfraktionen und damit zu Schwankungen bei der Zelldifferenzierung im Durchflusszytometer gekommen sein. Von altersabhängigen und auch individuellen Variationen in der Zusammensetzung der Lymphozyten berichten AYOUB u. YANG (1996), WILSON et al. (1996), MATTILA-VUORI et al. (2000) und BRUN-HANSEN et al. (2006).

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Allgemeine Ergebnisse

In der Literatur wird es als erwiesen angesehen, dass es eine direkte Korrelation zwischen der Invasivität - d.h. dem Ausmaß der Gewebszerstörung – der Anästhesielänge sowie der Dauer des chirurgischen Eingriffes und dem Ausmaß einer chirurgischen Stressreaktion des Körpers mit einer möglichen postoperativen Immunsuppression und nachfolgend schweren Komplikationen gibt.

Die Gesamtnarkosedauer war in unserer Studie mit im Mittel $51,0 \pm 13,7$ min relativ kurz. Der chirurgische Eingriff war bei den operierten Tieren mit durchschnittlich $28,8 \pm 7,7$ min ebenso von recht kurzer Dauer. Zudem stellt eine Nabelbruchoperation verglichen mit anderen Operationen einen verhältnismäßig gering invasiven Eingriff dar.

DIETZ et al. (2000) berichten in ihrer Studie, dass erst bei Operationen mit einer Anästhesiedauer von über vier Stunden eine Veränderung der Immunzellen bemerkbar ist. Mit schweren postoperativen Komplikationen aufgrund einer ausgeprägten Lymphozytendepression sei erst bei über 7-stündigen Operationen zu rechnen. Unsere Operationsdauer und somit die Anästhesiezeit lag stets unter einer Stunde. MATTILA-VUORI et al. (2000) stellten bei Kindern nach elektiven Eingriffen wie bspw. einer Inguinalhernienoperation, die auch einen verhältnismäßig gering invasiven Eingriff kurzer Dauer darstellt, 4 Stunden nach der Anästhesie erniedrigte T-Lymphozytenkonzentrationen fest, die sich jedoch 24 Stunden postoperativ bereits wieder erholt haben. Sie gehen davon aus, dass bereits ein kleiner inguinalchirurgischer Eingriff ausreicht, um eine systemische Immunantwort hervorzurufen und Veränderungen der Leukozyten sowie ihrer Untereinheiten auslösen kann.

Es ist durchaus vorstellbar, dass eine Nabelbruchoperation einen Eingriff von geringer Invasivität darstellt und gemeinsam mit der relativ kurzen Anästhesiedauer zu keiner ausgeprägten chirurgischen Stressreaktion führte. Möglicherweise käme es dadurch auch nur zu geringen Beeinflussungen der Immunzellen. Zudem könnte das Ausbleiben deutlicher Veränderungen ein Hinweis darauf sein, dass es durch die eingesetzten Anästhesieregimes gelang, eine effektive Unterdrückung der zweiten Komponente des chirurgischen Stresses, dem Schmerz, zu erreichen. Hiergegen sprechen jedoch HEFTIS (2010) Beobachtungen, dass es während des Eingriffes unter Inhalationsnarkose (INHc) bei einigen Tieren zu Abwehrbewegungen kommt, während diese in der KOMc-Gruppe

nicht auftreten. Zu den Unterschieden in den endexpiratorischen Isoflurankonzentrationen (ET_{Iso}) bei der Inhalationsgruppe (INHc, INHo) kam es deshalb aufgrund von Nachjustierungen bei der INHc-Gruppe im Falle von Abwehrbewegungen der Kälber während des Eingriffes. Unter der kombinierten Anästhesie (KOMc, KOMo) tauchten keine großen Unterschiede in der ET_{Iso} auf.

Die Unterschiede in den statistisch signifikanten Vorbereitungszeiten bis zum Eintritt der chirurgischen Toleranz in der Inhalationsgruppe ergaben sich dadurch, dass bei INHo keine OP-Feld-Vorbereitung wie bei INHc durchgeführt wurde.

5.3.2 Leukozyten

Wir konnten in keiner unserer vier untersuchten Gruppen die in der Literatur häufig beschriebene Leukozytose feststellen. Die absoluten Leukozytenkonzentrationen blieben in allen vier Gruppen über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg innerhalb des Referenzbereiches von $4-12 \times 10^9$ Zellen/l, wie ihn bspw. BRUNHANSEN et al. (2006) angeben. Dies deckt sich mit der Meinung von MATTILAVUORI et al. (2000) und KEHLET (2000), die davon ausgehen, dass kleine chirurgische Eingriffe die Leukozytenmigration nicht beeinflussen und es somit zu keinen großen Konzentrationsschwankungen kommt. Wie oben schon erwähnt, fällt unser Eingriff höchstwahrscheinlich in die Kategorie eines kleinen Eingriffes, der aufgrund der relativ geringen Invasivität und ausreichender Analgesie keine ausgeprägte chirurgische Stressreaktion auslöste, die in der Lage gewesen wäre, eine Leukozytose hervorzurufen.

ROMEO et al. (2002) vertreten die Meinung, dass elektive Eingriffe mit einer Operationsdauer von unter einer Stunde zu einer Stimulation der Immunabwehr mit einer effektiven Infektionsabwehr führen, bei denen es nur zu einer lokalen Entzündungsreaktion ohne signifikante Veränderungen der Gesamtleukozytenzahl kommt. Dies könnte auf unser Studienmodell zutreffen.

Wir stellten in unseren Untersuchungen bei INHc ab dem ersten postoperativen Tag eine Zunahme der Leukozytenwerte fest, jedoch blieben die Konzentrationen, wie oben schon erwähnt, innerhalb des Referenzbereiches. Bei KOMo kam es ab diesem Probenstag zu nur geringen Anstiegen. In den beiden anderen Gruppen - KOMc und INHo - kam es hingegen zu diesem Messzeitpunkt zu einem Abfall der Konzentrationen wie ihn auch OGAWA et al. (2003) in ihrer Studie unmittelbar postoperativ feststellen.

BRAND et al. (1998) stellen bei einem Eingriff unter einer kombinierten Anästhesie mit Fentanyl, Thiopental und Isofluran 20 Minuten nach Narkoseeinleitung ein Sinken der Leukozytenkonzentrationen fest. Vor der Einleitung ermitteln sie eine Konzentration von 7,05/nl, 20 min nach Einleitung liegt sie bei 6,20/nl. Bereits 50 Minuten nach Einleitung und erfolgtem Hautschnitt steigt die Konzentration jedoch bei ihnen bereits wieder an (6,60/nl).

Signifikante Unterschiede waren bei uns nur innerhalb der Inhalationsgruppe am OP-Tag und am dritten postoperativen Tag nachweisbar, mit steigenden Konzentrationen bei INHc und sinkenden bei INHo. Nicht erklärbar ist, warum in der INHc-Gruppe die Konzentrationen bereits vor jeglicher Manipulation deutlich anstiegen, waren die Vorgänge bis zu diesem Zeitpunkt doch in allen vier Gruppen standardisiert und vollkommen gleichartig. Auffällig ist auch, dass die INHc-Gruppe mit den geringsten Leukozytenkonzentrationen in den Versuch startete. Möglicherweise traf das Losverfahren hier sechs Tiere mit einem in irgendeiner Weise beeinträchtigten Immunsystem, auch wenn klinisch keinerlei Anzeichen für ein vermehrtes Auftreten von Lungenproblemen oder dergleichen bei Kälbern dieser Gruppe feststellbar waren. Das unterschiedliche Verhalten drei Tage postoperativ lässt sich mit den Beobachtungen von DELOGU et al. (2001) in Einklang bringen, die bei einem Eingriff unter einer Isoflurannarkose eine höhere Produktion proinflammatorischer Zytokine bemerken, die zu einer Leukozytenaktivierung führen sollen.

Auffällig war zudem, dass die Leukozytenkonzentrationen bei beiden Gruppen mit einem chirurgischen Eingriff (INHc, KOMc) am achten postoperativen Tag über den Ausgangswerten lagen. Bei der kombinierten Anästhesie (KOMc) ist der verspätete Anstieg der Leukozytenkonzentration möglicherweise mit dem Einsatz des Ketamins zu erklären. BAUER et al. (1998) erwähnen in ihrer Arbeit einen gerichteten antiinflammatorischen Effekt von Ketamin. Auch CHANG et al. (2005) berichten von diesem Phänomen und einer dadurch bedingten Hemmung der lokalen entzündlichen Immunantwort. Wie lange dieser antiinflammatorische Effekt des Ketamins andauert, ist nicht bekannt. Möglicherweise kam es bei KOMc also zu einer verspäteten Immunsystemaktivierung.

Ein weiteres zu beobachtendes Phänomen in unserer Studie war, dass die absoluten Leukozytenkonzentrationen der KOM-Gruppe stets höher waren als in der INH-Gruppe. Dies war auch der Grund für die Untersuchung der Differenzen sowohl der absoluten

als auch der prozentualen Konzentrationen zum Ausgangswert, um damit eine Aussage über die tatsächlichen Konzentrationsveränderungen treffen zu können. Bei INHc erreichten sie selbst am letzten Probenstag nicht annähernd die Konzentrationen von KOMc. Zu berücksichtigen ist aber, dass die Kälber der INHc-Gruppe, wie oben schon erwähnt, mit deutlich geringeren Leukozytenkonzentrationen in den Versuch starteten als die KOMc-Kälber. Zudem waren die Unterschiede zu keinem Probenzeitpunkt statistisch signifikant.

Das Absinken der Konzentrationen in beiden Kontrollgruppen (INHo, KOMo) lässt einen direkten Einfluss der eingesetzten Anästhetika auf die Leukozyten vermuten. Dieser ist v.a. für Inhalationsnarkotika in der Literatur mehrfach beschrieben. WILSON et al. (1996) kommen zu dem Ergebnis, dass der Einsatz von Halothan zumindest bei immunsupprimierten Individuen zu einer Beeinträchtigung der Immunzellfunktion führt.

Dadurch, dass die Konzentrationen auch nach acht Tagen noch unter den Ausgangswerten lagen, lässt sich vermuten, dass ein zusätzlicher chirurgischer Eingriff im weiteren postoperativen Verlauf zu einer Aktivierung des Immunsystems führte. Nur dadurch ist der oben erwähnte Anstieg bei INHc und KOMc, wenn auch zu unterschiedlichen Zeitpunkten, zu erklären. Ohne einen Eingriff sieht es nach einem alleinigen hemmenden Einfluss der Anästhetika auf die Leukozyten aus. Für Inhalationsnarkotika wie Halothan und Diethyläther beschreiben BRUCE (1973) und WALTON (1979) schon vor 30 Jahren hemmende Einflüsse auf die Leukozytenaktivität. Sie gehen dabei von einer reversiblen Störung der Zellmitose und einer zellulären Immobilisation aus. KUROSAWA und KATO (2008) machen ähnliche Beobachtungen bei Isofluran und Sevofluran.

ADAMS (2007) schreibt Ketamin eine sympathoadrenerge Stimulation mit einem Anstieg der Kortisolkonzentrationen zu. Dadurch könnten die bis zum dritten postoperativen Tag bei KOMc und gar bis zum achten postoperativen Tag (KOMo) Reduktionen der Leukozytenkonzentrationen erklärt werden, wirken erhöhte Kortisolkonzentrationen doch nachweislich zumindest negativ auf die Lymphozyten als eine Untereinheit der Leukozyten ein [REM et al., 1980; BRÖCKER u. MACHER, 1981; FELSBURG et al., 1986; MATTILA-VUORI et al., 2000; OGAWA et al., 2003; KAWASAKI et al., 2007]. Bei KOMc kam es, wie oben schon beschrieben, eventuell durch den Eingriff zu einer Verzögerung der Immunaktivierung.

Eine weitere mögliche Erklärung für die geringen Veränderungen der Leukozyten wäre der Einsatz des NSAIDs Meloxicam 24 Stunden vor dem Eingriff/der Anästhesie. Zahlreiche Studien halten fest, dass durch den Einsatz peri- und postoperativer Analgesie das Ausmaß einer chirurgisch bedingten Immunsuppression eingedämmt werden kann [bspw.; BEILIN et al., 2003; PAGE, 2005]. EARLEY und CROWE (2002) und TING et al. (2003) können eine deutlich reduzierte Kortisolantwort und geringere Leukozytenkonzentrationsschwankungen nach einer Kastration feststellen, wenn die Tiere 20 min vor der Prozedur Ketoprofen erhalten. Jedoch gibt es auch hier entgegengesetzte Meinungen: KEHLET (2000) glaubt nicht an den Nutzen eines präoperativ verabreichten NSAIDs.

5.3.3 Lymphozyten

Zu den in der Literatur mehrfach beschriebenen Veränderungen der Lymphozytenkonzentrationen kam es in unserer Studie nicht. In keiner unserer vier Gruppen, weder mit noch ohne chirurgischen Eingriff, war postoperativ eine transiente Lymphopenie zu erkennen. Es war zwar bei der INHc-Gruppe einen Tag postoperativ ein deutlicher Abfall der absoluten Lymphozytenkonzentration gegenüber dem Ausgangswert erkennbar, jedoch blieben sie immer noch innerhalb des Referenzbereiches, den BRUN-HANSEN et al. (2006) für Kälber mit $2-7 \times 10^9/l$ angeben. Der Abfall könnte als physiologische Immunreaktion auf den Eingriff und die Isoflurananästhesie gewertet werden. Drei Tage postoperativ kam es jedoch bereits zu einem Anstieg über den Ausgangswert bei der INHc-Gruppe.

Eine mögliche Erklärung wäre, dass sich, wie von SALO (1992) postuliert, bei kleinen oder moderaten Eingriffen die Lymphozytenverteilung nicht wesentlich verändert und die Lymphozytenaktivität innerhalb kürzester Zeit wieder hergestellt ist. KEHLET (1989 u. 2000) vertritt den Standpunkt, dass das Ausmaß der hormonellen Antwort auf eine Operation und die nachfolgende Entzündungsreaktion eine wichtige Rolle beim chirurgischen Stress und all seinen Auswirkungen auf das Immunsystem spielen. Je höher also die Kortisol- und Katecholaminkonzentrationen, desto ausgeprägter ist die Entzündungsreaktion und damit die Auswirkung auf die Immunzellen. TING et al. (2003) unterstützen dies und gehen davon aus, dass Kortisolanstiege für eine Einschränkung der Lymphozytenproliferation sorgen. HEFTI (2010) weist unter einem chirurgischen Eingriff Kortisolanstiege nach.

TOFT et al. (1993) halten fest, dass eine Lymphopenie den Tiefpunkt bereits sechs

Stunden nach dem Hautschnitt erreicht. Möglicherweise fielen die Konzentrationen in unserem Versuch unmittelbar nach der Operation auch stärker ab und erholten sich zu unserem Messzeitpunkt ein Tag postoperativ bereits wieder. Legt man diese Studien unseren Ergebnissen zugrunde, könnte man davon ausgehen, dass es bei einer Nabelbruchoperation, die einen verhältnismäßig kleinen und kurz andauernden chirurgischen Eingriff darstellt, unter den verwendeten Anästhesieformen zu keiner Aktivierung der chirurgischen Stressantwort und dadurch auch zu keiner vermehrten Ausschüttung von Stresshormonen kommt, die das Immunsystem der Tiere negativ beeinflussen könnten.

Einen indirekten Effekt von Inhalationsnarkotika auf Immunzellen sehen BRÖCKER und MACHER (1981) in einer von den Narkotika ausgehenden Modulation der Hormonantwort mit einer Erhöhung der Kortisol- und Katecholaminkonzentration. Eine hemmende Wirkung von Kortisol auf Lymphozyten innerhalb der ersten 24 Stunden postoperativ beschreiben auch DAHANUKAR et al. (1996). Anschließend soll es unter Kortisoleinfluss zu einer Lymphozytenumverteilung aus dem marginalen in den zentralen Pool kommen und damit evtl. zu einem Anstieg der Konzentrationen im Blut. Kortisol per se ist laut EARLEY und CROWE (2002) jedoch nicht für eine Reduktion der Immunfunktion verantwortlich. Es könnte also zusätzlich noch einen direkten hemmenden Einfluss des Isoflurans auf die Lymphozyten geben, der bei einer alleinigen Anästhesie deren Aktivität mindestens eine Woche lang einschränkt. Bei INHc kam es nach einem Abfall am ersten postoperativen Tag schließlich zum Anstieg der Konzentrationen, wohingegen bei INHo die Basalkonzentration selbst am achten postoperativen Tag noch nicht wieder erreicht war. Die chirurgische Intervention scheint bei INHc zu einer Immunaktivierung geführt zu haben.

Laut HASHIMOTO et al. (1995) sind v.a. die zirkulierenden Lymphozyten von den direkt von Inhalationsnarkotika ausgehenden Einflüssen betroffen. Auch TARPLEY et al. (1977) und SALO (1992) gehen von einer inhalationsnarkotikabedingten Hemmung der Lymphozytentransformation und -proliferation aus.

REM et al. (1980) sprechen sich gegen einen Einfluss einer Allgemeinanästhesie auf die Lymphozytenzellzahl aus. Ihrer Meinung nach ist erst der Hautschnitt der Auslöser. Dies widerspricht jedoch unseren Beobachtungen bei der Inhalationskontrollgruppe (INHo) und lässt sich auch nicht mit den festgestellten stetigen Anstiegen der Lymphozytenzellzahlen bei der kombinierten Anästhesie sowohl mit als auch ohne einen chirurgischen Eingriff vereinbaren.

Die Zunahme bei KOMc und KOMo kann evtl. mit dem hemmenden Effekt des Ketamins auf die proinflammatorische Zytokinproduktion erklärt werden, wodurch bei den operierten Tieren die lokale entzündliche Immunantwort eingeschränkt wird [CHANG et al., 2005]. Außerdem soll Ketamin selbst zu einer kurzfristigen Kortisolserhöhung führen [ADAM, 2007]. Nach 24 Stunden soll dies, wie oben bereits erwähnt, zu einer Lymphozytenaktivierung und -umverteilung führen und dadurch eine von TOFT et al. (1993) sowie SHIMAOKA et al. (1998) beschriebene Lymphozytensequestration im lymphatischen Gewebe unterbleiben. Unterstützt wird der Einfluss einerseits des Ketamins und andererseits eines chirurgischen Eingriffes auf die Kortisolproduktion von HEFTIs (2010) Ergebnissen. Sie weist in ihren Untersuchungen, zu denen auch die Kälber der vorliegenden Studie zählen, deutliche Zunahmen der Kortisolkonzentrationen in den Gruppen KOMc, KOMo (Ketamineinfluss) und INHc (chirurgischer Eingriff), nicht aber in der INHo-Gruppe nach.

Anzumerken bleibt noch, dass die absoluten Lymphozytenkonzentrationen der Inhalationsgruppen (INHc, INHo) zu allen Probenzeitpunkten, d.h. auch schon am Tag vor der Anästhesie, ähnlich wie die Leukozytenkonzentrationen, unterhalb der Werte lagen, die in den Gruppen KOMc und KOMo ermittelt wurden. Anscheinend war das Immunsystem der Tiere, die diesen Gruppen zugewiesen wurden, bereits vor jeglichen Manipulationen in irgendeiner Art und Weise unterschiedlich. Letztlich muss jedoch festgehalten werden, dass alle ermittelten Veränderungen der Lymphozytenkonzentrationen statistisch nicht signifikant waren. Dies könnte sowohl an den verhältnismäßig kleinen Gruppengrößen als auch an den insgesamt geringen chirurgischen Stresseinwirkungen aufgrund einer gut ausbalancierten Anästhesie gelegen haben.

5.3.4 CD4⁺ T-Zellen

Es konnten zwar in allen vier Gruppen bereits am OP-Tag, d.h. vor jeglicher tiefgreifenden Manipulation - sinkende CD4⁺-Konzentrationen festgestellt werden, jedoch waren die Veränderungen weder innerhalb noch zwischen den Versuchsgruppen statistisch signifikant. Wodurch die Zellen zu diesem frühen Probenzeitpunkt beeinflusst wurden, ist nicht ersichtlich. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden alle Tiere gleich behandelt. Dass die erste Blutprobenentnahme und die subkutane Injektion des NSAIDs Meloxicam und des Antibiotikums Cefquinom am präoperativen Tag einen

solchen Stress für die Tiere darstellte und es zu einer Aktivierung der neuroendokrinen HPA-Achse kam, in deren Folge Kortisol und Katecholamine eine Erniedrigung der CD4⁺ T-Zellzahl auslösten, ist eher unwahrscheinlich.

Mögliche Auswirkungen des Transportstresses auf die Lymphozytensubpopulation sind jedoch nicht auszuschließen, denn die erste Probe wurde in den meisten Fällen vier Tage nach dem Transport gezogen und untersucht. Bei RIONDATO et al. (2008) liegen die prozentualen, nicht aber die absoluten CD4⁺ T-Zellkonzentrationen sieben Tage nach dem Transport noch unter den Werten vor dem Transport.

Dass die präoperativ verabreichten Medikamente in der Lage waren, die CD4⁺ T-Zellkonzentrationen negativ zu beeinflussen, ist eher auszuschließen. MATTILA-VUORI et al. (2000) erwähnen zwar einen möglichen Einfluss einer Prämedikation auf die Immunantwort, sie gehen aber dabei auf keine bestimmten Wirkstoffgruppen ein. Dass Meloxicam zu keiner Immunsuppression führt, stellen BEDNAREK et al. (2005) fest.

Einen Hinweis darauf, dass Cefquinom zu einer Beeinträchtigung der CD4⁺ T-Zellen führt, ist in der gesichteten Literatur nicht zu finden.

Einen Tag postoperativ kam es zum weiteren Absinken der CD4⁺-Zellzahlen in allen Gruppen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien [bspw. COSTA et al., 1989; FAIST et al., 1992; AKBAS et al., 2002; OGAWA et al., 2003]. Jedoch fiel der Abfall bei den Tieren, die eine Inhalationsanästhesie erhielten, stärker aus und lieferte sowohl beim Vergleich der beiden Gruppen mit einem chirurgischen Eingriff (INHc, KOMc) als auch beim Vergleich der beiden Kontrollgruppen (INHo, KOMo) signifikante Unterschiede. Es zeigten sich auch bei Betrachtung des Verlaufes der CD4⁺ T-Zellkonzentrationen über alle Probenzeitpunkte hinweg im Anästhesievergleich stets geringere, statistisch signifikante Unterschiede in den Konzentrationen bei einer Inhalationsanästhesie (INc, INHo) im Vergleich zu einer kombinierten Anästhesie (KOMc, KOMo). Möglicherweise hatte Isofluran alleine einen hemmenden Einfluss auf die Immunzellen, der in Kombination mit Xylazin und Ketamin jedoch gemindert wurde. Eine Unterstützung dieser These ist bei HASHIMOTO et al. (1995) zu finden, die unter einer Enflurannarkose von einer starken Reduktion der absoluten T-Zellzahl berichten. Xylazin wird in der Literatur generell nur ein sehr geringer Einfluss auf die Immunzellen zugeschrieben [WALTON, 1979].

Ketamin hingegen wird, wie schon bei den Lymphozyten erwähnt, eine entzündungshemmende Wirkung nachgesagt [BAUER et al., 1998].

Ab dem dritten postoperativen Tag kam es mit Ausnahme von INHo zu einem Anstieg der CD4⁺ T-Zellzahlen. Möglicherweise ist diese Zellzunahme bei beiden OP-Gruppen auf eine Aktivierung des Immunsystems aufgrund des Gewebstraumas zurückzuführen. Unsere Ergebnisse decken sich mit denjenigen von VOIGT (2006), die ebenfalls ab dem dritten postoperativen Tag einen Anstieg der CD4⁺ T-Zellen beobachtet. Dass sich die Zellen rasch wieder erholen berichten auch OKA et al. (1996) und SHIMAOKA et al. (1998). Bei ihnen sind die T-Zellen bis zu vier Tage postoperativ supprimiert und die Ausgangswerte am siebten/achten postoperativen Tag wieder erreicht. Dass unsere Werte bereits am dritten postoperativen Tag über den Ausgangswerten lagen, lässt sich vielleicht erneut auf die Geringfügigkeit des Eingriffes und die Kürze der Anästhesie zurückführen. Handelte es sich im Vergleich dazu in den zitierten Studien doch um deutlich schwerwiegendere und zeitlich länger ausgedehnte Eingriffe in Form von Karzinomentfernungen aus dem Verdauungstrakt.

5.3.5 CD8⁺ T-Zellen

Die Konzentrationen der CD8⁺ T-Zellen zeigten deutliche Unterschiede zwischen den beiden Anästhesieformen, allerdings - wie schon bei den CD4⁺ T-Zellen - erneut bereits vor Beginn der Narkose. Am Tag vor der Anästhesie waren die absoluten CD8⁺ T-Zellkonzentrationen in der Gruppe INHc signifikant niedriger als in der KOMc-Gruppe. Dieser Trend setzte sich auch über die weiteren Proben tage hinweg fort. Wodurch diese Unterschiede zustande kamen, ist nicht bekannt, erfolgte die Zuteilung der Kälber zur Anästhesieform doch rein zufällig per Losverfahren und wurden alle Tiere bis zur Einleitung einer Anästhesie gleich behandelt. Durch Zufall befanden sich anscheinend in der INHc-Gruppe Tiere mit niedrigeren CD8⁺ T-Zell-Ausgangswerten als in den anderen Gruppen, auch wenn uns bei diesen Tieren bei der klinischen Untersuchung nicht mehr Lungen- oder andere Krankheitsproblematiken als bei den übrigen Kälbern auffielen.

Einen Tag postoperativ konnte ein signifikanter Unterschied bei den operierten Tieren (INHc, KOMc) zum Ausgangswert festgestellt werden, mit sinkenden Konzentrationen nach einem Eingriff unter der Inhalationsnarkose (INHc) und steigenden unter einer kombinierten Anästhesie (KOMc). Einen Anstieg der CD8⁺- Population stellen auch

BRAND et al. (1998) unmittelbar nach Narkoseeinleitung mit Fentanyl und Thiopental fest. Die Narkose wird mit Isofluran aufrecht erhalten. Mit Operationsbeginn fallen die Werte bei ihnen dann wieder auf das Ausgangsniveau ab.

Die geringsten Werte wurden bei INHo erst am achten postoperativen Tag erreicht, wohingegen sie bei INHc zu diesem Zeitpunkt über dem Ausgangswert lagen. Möglicherweise entfaltete hier Isofluran wiederum eine hemmende Wirkung auf die CD8⁺ T-Zellen, die jedoch bei einer Kombination mit Xylazin und Ketamin durch mögliche protektive, immumstimulierende Effekte des Ketamins abgemildert wurden. Unter einer operativen Knie-, Schulter- oder Sprunggelenksfrakturversorgung, bei der die Anästhesie mit Isofluran aufrecht erhalten wird, fallen bei BRAND et al. (1998) die Konzentrationen, wohingegen es nach der Einleitung mit Injektionsnarkotika zu einem Anstieg kommt. Diese These widerspricht jedoch den Ergebnissen von HASHIMOTO et al. (1995), die bei Gastrektomien unter einer Enflurananästhesie unmittelbar nach dem Hautschnitt einen starken Anstieg der CD8⁺-Zellzahlen beobachten. Sie weisen vor der Narkoseinduktion einen prozentualen Anteil von 8,7 % CD8⁺-Lymphozyten, eine Stunde nach dem Hautschnitt 16,8 % CD8⁺-Zellen und zwei Stunden nach Hautschnitt 16,7 % CD8⁺-Zellen nach.

LE CRAS et al. (1998) berichten nach Propofolgabe von geringen Serumkortisolkonzentrationen und dadurch bedingt einer geringeren T-Zell-Depression. Dies spricht für einen Vorteil einer Injektionsanästhesie gegenüber einer Inhalationsanästhesie hinsichtlich des Erhalts einer normalen Immunabwehr. Dieser These widersprechen hingegen NELSON u. LYSLE (1998), die der Meinung sind, dass zwar eine Anästhesie alleine schon Auswirkungen auf das Immunsystem hat, jedoch eine starke Beeinflussung bspw. der T-Zell-Proliferation erst durch einen zusätzlichen chirurgischen Eingriff stattfindet.

Die Konzentrationen über dem Ausgangswert am achten postoperativen Tag bei INHc sind vielleicht durch eine Aktivierung des Immunsystems durch die lokale Entzündungsreaktion am OP-Ort zu erklären. WANG et al. (1980), die bei Mäusen ein Hinterbein unter Äthernarkose amputierten, stellen eine eingeschränkte Aktivität zytotoxischer Zellen nur bis zum zweiten postoperativen Tag fest. Am achten postoperativen Tag berichten auch sie von erhöhten Werten.

Das recht unterschiedliche Verhalten der CD8⁺ T-Zellen deckt sich mit der vorhandenen Literatur. AKBAS et al. (2002) berichten, dass es bei einer kombinierten Anästhesie mit

Fentanyl, Morphinum und Halothan zu einem Absinken der Konzentrationen kommt. SALO (1992) sieht diese nur bei schweren Operationen mit einem ausgedehnten Gewebstrauma. OGAWA et al. (2003) stellen hingegen deutliche Zunahmen der CD8⁺-Zellzahl bei ausgedehnten Operationen fest. YOKOYAMA et al. (2001) beurteilen einen chirurgisch empfundenen Schmerz als förderlich für die CD8⁺ Zellen und stellen einen Anstieg fest. Dieser korreliert jedoch mit der Intensität des empfundenen Schmerzes und damit dem Ausmaß des chirurgischen Stresses. DELOGU et al (2001) beschreiben weitgehend unveränderte oder leicht erhöhte Konzentrationen unter einer Allgemeinanästhesie mit Thiopental und Isofluran.

5.3.6 CD4⁺/CD8⁺-Ratio

Da sich die einzelnen Lymphozyten-Subpopulationen innerhalb der einzelnen Gruppen immer in dieselbe Richtung bewegten, konnten wir keine signifikanten Veränderungen des CD4⁺/CD8⁺-Quotienten feststellen.

Über die Aussagekraft des Quotienten ist sich die Fachwelt nicht ganz einig. KÄBISCH et al. (1986) schreiben einer Erniedrigung oder Erhöhung des Quotienten ein Antikörper-Mangelsyndrom/ Immundefizienzsyndrom und Agammaglobulinämien oder eine überschießende Immunreaktionen zu. SALO (1992) vertritt die Meinung, dass der Quotient keinerlei klinische Relevanz hinsichtlich einer postoperativen Immunsuppression besitzt. KÖCHLING (2003) kommt in ihrer Dissertation zu dem Ergebnis, dass es keine Korrelation zwischen einer Erniedrigung des CD4⁺/CD8⁺-Quotienten bei HIV-Infizierten und postoperativen Komplikationen gibt.

Eine deutliche Aussagekraft wird dem Quotienten in der Beurteilung des Fortschreitens einer Viruserkrankung wie HIV und zur Überwachung der Effizienz einer antiretroviralen Therapie [HUHN et al., 1990; LULIC, 2006] zugesprochen. Im fortgeschrittenen Stadium einer HIV-Infektion kommt es durch Virusreplikation in den CD4-Molekül-tragenden Zellen (T-Helferzellen, Monozyten, Makrophagen) zu einem Absinken ihrer relativen und absoluten Zahl. Häufig wird dies von einem Anstieg der CD8-positiven Zellen begleitet. Daraus resultiert mit zunehmender Progression der Infektion eine Absenkung des CD4⁺/CD8⁺-Quotienten [KÖCHLING, 2003; LULIC, 2006]. Bei erfolgreicher antiretroviraler Therapie wird dem raschen Abfall der CD4⁺-Lymphozyten Einhalt geboten [LULIC, 2006].

Übertragen wurde dieses Modell auch auf die Prognoseabschätzung bei einer FIV- oder FeLV-Infektion bei Katzen [HOFFMANN-FEZER et al., 1992 u. 1996]. Deutlich

erniedrigte CD4⁺ Werte und eine erniedrigte CD4⁺/CD8⁺-Ratio weisen auf eine bereits fortgeschrittene Infektion hin und lassen eine Abschätzung der Überlebenszeit zu.

Für den CD4⁺/CD8⁺-Quotient erhielten wir in unserer Studie einen Minimalwert von 0,01 und einen Maximalwert von 4,35. Wir bewegten uns damit weit unter respektive über den in der Literatur zu findenden Angaben für die CD4⁺/CD8⁺-Quotienten bei Rindern mit einer Spanne zwischen 1,52 [PARK et al., 1992; TIZARD, 2000] und 2,38 [AYOUB u. YANG, 1996].

Wir hatten in manchen Gruppen Tiere mit extrem niedrigen CD4⁺ und CD8⁺-Konzentrationen. Ursächlich hierfür könnten durchaus auch methodische Probleme bei der Probenaufbereitung gewesen sein. Es kann einerseits ein selektiver Verlust bestimmter Leukozytenfraktionen während der Aufbereitung nicht ausgeschlossen werden. Andererseits war die Erythrozytenlyse nicht bei jeder Probe gleich effektiv. Hier gab es v.a. tierindividuelle Schwankungen. Dies könnte möglicherweise zu Problemen bei der Zelldifferenzierung im FACS geführt haben.

Zudem könnte auch ein hoher Anteil an $\gamma\delta$ T-Zellen zu den teilweise niedrigen CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellkonzentrationen geführt haben. Bei Kälbern wurde im Vergleich zu anderen Spezies ein hoher Prozentsatz an $\gamma\delta$ T-Zellen von bis zu 30 % festgestellt. Bis zum Alter von drei Wochen wird dieser T-Zell-Fraktion ein hoher Anteil von bis zu 60 % an der Gesamtlymphozytenpopulation zugesprochen [TIZARD, 2000]. Ab der dritten Lebenswoche sinken diese Werte jedoch stetig auf bis unter 10 % ab, bei gleichzeitiger Zunahme der absoluten Zahl CD4 und CD8 positiver T-Zellen sowie B-Lymphozyten [HEIN u. MACKAY, 1991; AYOUB u. YANG, 1996; MACHUGH et al., 1997; KAMPEN et al., 2006]. Der Großteil dieser $\gamma\delta$ T-Zellen exprimiert weder CD4 noch CD8. MACHUGH et al. (1997) berichten jedoch von einem kleinen Prozentsatz $\gamma\delta$ T-Zellen, die auch CD8 exprimieren.

5.3.7 Monozyten

Die in der Literatur oft beschriebene Monozytose [bspw. FAIST et al., 1992; SALO, 1992; DIETZ et al., 2000] zeigte sich bei beiden OP-Gruppen am dritten (INHc) und achten postoperativen Tag (INHc und KOMc). Bei den beiden Kontrollgruppen blieben die Mediane der absoluten Monozytenzahlen zu jedem Probenzeitpunkt innerhalb des Referenzbereiches, den BRUN-HANSEN et al. (2006) mit $0,2-0,8 \times 10^9$ Zellen/l angeben.

Bei nachfolgender kombinierter Anästhesie kam es jedoch zu einem Anstieg, während bei späterer Inhalationsnarkose nahezu unveränderte Werte zu erkennen waren. Dieses Phänomen ähnelte den Beobachtungen bei den CD8⁺ T-Zellen. Die Veränderungen waren allerdings lediglich beim Vergleich der beiden Kontrollgruppen (KOMo, INHo) statistisch signifikant. Bei INHo waren nach einem stetigen Abfall über alle Probenstage hinweg die niedrigsten Werte am achten postoperativen Tag festzustellen. Bei KOMo kam es hingegen zu einer Zunahme der Konzentrationen. Möglicherweise zeigte sich hier ein direkter Einfluss der Anästhesieform und der dabei verwendeten Anästhetika auf die Monozyten. KUROSAWA und KATO (2008) berichten von dosis- und zeitabhängigen immunsuppressiven Effekten von Inhalationsnarkotika auf Monozyten, Granulozyten und Lymphozyten. Sie kommen aufgrund ihrer Untersuchungen zu dem Ergebnis, dass eine Inhalationsnarkose generell immunsuppressiver ist als eine Injektionsanästhesie. Unterstützt werden sie von KITAMURA et al. (2008), die feststellen, dass eine Anästhesie mit Propofol schonender für das Immunsystem ist als eine Inhalationsanästhesie mit Sevofluran. BAUER et al. (1998) stellen beim Vergleich einer Injektionsanästhesie mit Propofol und Alfentanil im Vergleich zu einer Inhalationsanästhesie mit Isofluran und Lachgas signifikant verminderte Il-6 und Kortisolwerte fest.

Einen Tag postoperativ führte eine Nabelbruchoperation unter Inhalationsnarkose (INHc) bei den Kälbern zu einem nicht signifikanten Anstieg der Monozytenkonzentration, wohingegen es unter einer kombinierten Anästhesie (KOMc) nur zu minimalen Schwankungen kam. Möglicherweise ist dies auf den Einfluss des Ketamins zurückzuführen. CHANG et al. (2005) berichten von einer Einschränkung der phagozytären Aktivität der Makrophagen nach Ketamineinsatz. Somit wäre es möglich, dass bereits die Monozyten als Vorstufen der Makrophagen durch Ketamin in ihrer Funktion eingeschränkt wurden.

Die beobachteten Anstiege der Monozytenkonzentrationen bei INHc decken sich mit den Berichten von ROMEO et al. (2002), die bei kleinen chirurgischen Eingriffen an Kindern unter einer Isoflurannarkose eine Zunahme der Monozyten im Blut bemerken und dies auf eine Immunaktivierung zurückführen. AOSASA et al. (2000) sehen eine Aktivierung der Monozyten unter chirurgischem Stress. Inwiefern die Kälber der Gruppe INHc einen größeren chirurgischen Stress erfuhren als diejenigen aus der KOMc-Gruppe, konnten wir nicht abschließend klären.

HEFTI (2010) stellt in der INHc-Gruppe Abwehrbewegungen während des Eingriffes fest, während diese bei KOMc nicht auftreten.

Bei uns scheint eine Kombination von Isofluran mit Xylazin und Ketamin eine Aktivierung der Monozyten hervorgerufen zu haben. In der Literatur ist allerdings keine plausible Erklärung für dieses Verhalten der Monozyten zu finden.

5.3.8 Neutrophile Granulozyten

Zu einer wie in der Literatur beschriebenen Neutrophilie [bspw. REM et al., 1980; GREISEN et al., 1999] kam es in unseren Untersuchungen nicht.

Die medianen absoluten Granulozytenkonzentrationen lagen vielmehr - v.a bei INHo - dicht an der unteren Grenze des von BRUN-HANSEN et al. (2006) genannten Referenzbereiches von $1,3 - 5,3 \times 10^9$ Zellen/l und damit näher an einer Neutropenie als einer Neutrophilie. Am ersten postoperativen Tag war bei INHo sogar beinahe von einer Neutropenie zu sprechen.

Zu einem Absinken der Konzentrationen, und das bereits am OP-/Anästhesie-Tag, kam es bei allen Gruppen mit Ausnahme von INHc. Dies zeigte sich dann auch in statistisch signifikanten Unterschieden beim Vergleich der beiden Inhalationsgruppen (INHc, INHo) am OP-Tag, sowie am ersten und dritten postoperativen Tag. Beim Vergleich mit der kombinierten Anästhesie (KOMc) ergab sich am dritten postoperativen Tag ein signifikanter Unterschied.

Diese erniedrigten Werte am OP-Tag im Vergleich zum Ausgangswert einen Tag präoperativ zeigten sich ja bereits bei einigen anderen Zellpopulationen und geben nach wie vor Rätsel auf, da die Tiere bis zu diesem Zeitpunkt alle gleich behandelt wurden. Damit ist ein Einfluss der zur Prämedikation eingesetzten Wirkstoffe (NSAID, Antibiotikum) nahezu ausgeschlossen.

Die stetigen Anstiege der Neutrophilenkonzentration bei der INHc-Gruppe stimmen mit den Beobachtungen von REM et al. (1980) überein. Sie stellen nur bei einer Anästhesie mit einem anschließenden chirurgischen Eingriff eine Granulozytose fest, deren Höhepunkt sechs Stunden postoperativ erreicht ist. Bei Patienten ohne Eingriff kommt es zu keiner Granulozytose. Eine Rückkehr zu Normwerten findet bei REM et al. (1980) bereits innerhalb von 48 Stunden statt. Bei uns wiesen die INHc-Kälber auch acht Tage postoperativ noch Konzentrationen auf, die deutlich über dem Ausgangswert lagen.

BRÖCKER u. MACHER (1981) berichten vom Auftreten einer Granulozytose unter einer Inhalationsnarkose. Möglicherweise ist das Ausmaß des chirurgischen Stresses bei einem Eingriff unter einer Inhalationsnarkose höher und es kommt aufgrund einer Aktivierung der HPA-Achse zu erhöhten Kortisolkonzentrationen, denn laut GREISEN et al. (1999) ist eine postoperative Granulozytose das Ergebnis einer Steigerung der Kortisolproduktion. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von HEFTI (2010). Sie stellt bei beiden OP-Gruppen einen Kortisolanstieg fest. Die höchsten Kortisolkonzentrationen werden hierbei bei INHc am Operationsende gemessen.

Ein Absinken der Konzentrationen unter einer kombinierten Anästhesie ist möglicherweise einem Ketamineinfluss zuzuschreiben. CHANG et al. (2005) weisen in ihrer Arbeit neben den negativen Effekten des Ketamins auf die Makrophagenphagozytät auch auf eine Einschränkung der Neutrophilenchemotaxis hin. Zudem erwähnt SALO (1992), dass durch eine Anästhesie v.a. die Neutrophilen negativ beeinflusst werden. KAWASAKI et al. (2007) berichten bei großen chirurgischen Eingriffen von einer eingeschränkten Phagozytoseleistung der Neutrophilen, die jedoch nur zwei Stunden anhält und vier Stunden postoperativ sollen die Ausgangswerte bereits wieder erreicht sein. Dies traf auf unsere drei Gruppen KOMc, INHo, KOMo keinesfalls zu, waren bei ihnen doch auch acht Tage nach der Operation/Anästhesie die Ausgangswerte noch nicht wieder erreicht.

Die tiefen Konzentrationen bei INHo könnten erneut das Ergebnis eines direkten Isofluraneinflusses auf die Zellen gewesen sein, der jedoch bei INHc durch den Eingriff und eine mögliche chirurgische Stressreaktion aufgehoben wurde.

BRUCE (1972) und WALTON (1979) führen ein Neutrophilendefizit auf die Interaktion von Anästhetika mit Knochenmarkpräcursorzellen zurück.

5.4 Fazit und Ausblick

Bei einer Kombinationsanästhesie wies keine der untersuchten Zellpopulationen signifikante Unterschiede zwischen den operierten Tieren (KOMc) und den Kontrolltieren (KOMo) auf. Es kam zu nahezu identischen Verläufen.

Bei INHc und INHo hingegen zeigten sich beim Vergleich der Leukozyten-, sowie Monozyten- und neutrophilen Granulozytenkonzentrationen an einzelnen Tagen v.a. bei den Differenzen zu den Ausgangswerten entgegengesetzte Verläufe, teilweise mit signifikanten Unterschieden. Häufig kam es unter INHc zum Anstieg der

Konzentrationen, bei INHo hingegen zu Absenkungen. Möglicherweise wirkte Isofluran alleine direkt hemmend auf die untersuchten Immunzellpopulationen ein. Unter einem chirurgischen Eingriff kam es anscheinend zu einer Immunaktivierung und somit zu einer Aufhebung der negativen Inhalationsnarkotikawirkung.

Auffällig war, dass die Tiere, die eine kombinierte Anästhesie (KOMc, KOMo) erhielten, weitestgehend höhere Konzentrationen der Immunzellpopulationen aufwiesen als diejenigen mit einer Inhalationsnarkose. KOMc wies bei nahezu allen untersuchten Zellpopulationen zu allen Messzeitpunkten die höchsten absoluten Zellzahlkonzentrationen auf. Ausnahme bildeten hier die Granulozyten am dritten und achten postoperativen Tag. Ketamin scheint durch einen hervorgerufenen Kortisolanstieg einen verspätet eintretend indirekt aktivierenden Effekt auf die Immunzellen zu haben [ADAM, 2007].

Zwischen den OP-Gruppen INHc und KOMc kam es nur bei den CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen zu signifikanten Unterschieden.

Aufgrund der wenigen signifikanten Unterschiede in den OP-Gruppen und der Tatsache, dass wir keinerlei postoperative Komplikationen feststellten, gehen wir davon aus, dass die verwendeten Anästhesieformen bei einer Nabelbruchoperation das Immunsystem von Kälbern nicht negativ beeinflussen.

DAHANUKAR et al. (1996) erwähnen, dass ernsthafte Probleme in Form von postoperativen Infektionen generell nur bei bereits vor der OP/Anästhesie Immunsupprimierten zu erwarten sind. Im Großen und Ganzen gingen wir davon aus, dass unsere Tiere vor und während unseres Versuches ein intaktes Immunsystem aufwiesen.

Einen Einfluss der Anästhesie selbst auf die Immunzellen unterstützt unsere Studie. Isofluran senkte die Konzentrationen in den meisten Fällen. Ketamin wird einerseits ein direkt antiinflammatorischer Effekt zugeschrieben, andererseits ein indirekter Einfluss auf die Immunzellen über eine Kortisolerhöhung, die dann letztlich immunaktiverend wirkt.

Eine Einschränkung der Aussagekraft unserer Ergebnisse ergibt sich durch den in der Literatur als bewiesen angesehenen Zusammenhang einer postoperativen Immunsuppression mit dem Ausmaß und der Intensität sowie der Dauer eines chirurgischen Eingriffes. Die Immunsuppression fällt umso stärker aus, je

schwerwiegender und längerdauernd die chirurgische Intervention ist.

Aufgrund der Beschreibung postoperativer Immunzellveränderungen in der Literatur rechneten wir auch nicht mit solch großen Schwankungen, wie es letztlich der Fall war. Diese könnten einerseits durch das juvenile Alter der Tiere mit einem unterschiedlich weit ausgereiften Immunsystem, andererseits durch die Zukaufsproblematik oder methodische Probleme zustande gekommen sein.

Zu Bedenken ist noch, dass die Bestimmung der Zellzahlen im Blut nur eine Momentaufnahme darstellt, die nur den verhältnismäßig geringen Anteil der Immunzellen in der Blutzirkulation erfasst. Der weitaus größere Anteil ist in den lymphatischen Geweben (Lymphknoten, Milz, lymphatische Gewebe der Mukosa) zu finden [BAUER et al., 1998; BENSAID u. HADAM, 1991; TIZARD, 2000]. Ein Absinken der Werte kann somit auch nur ein Hinweis auf eine Reduktion der Reservekapazitäten sein und muss nicht eine entstehende Immuninkompetenz bedeuten. Veränderungen zum Ausgangswert können auch durch eine Zellredistribution und – rezirkulation beeinflusst sein.

Um den Einfluss einer Anästhesie und eines chirurgischen Eingriffs auf das bovine Immunsystem näher zu erforschen, sollte in nachfolgenden Studien vielleicht die Funktionsfähigkeit der Immunzellen mit Hilfe der Bestimmung ihrer mitogenen Ansprechbarkeit oder Zytokinproduktion/-konzentration untersucht werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Aus zahlreichen humanmedizinischen Studien ist bekannt, dass eine Anästhesie und ein chirurgischer Eingriff zur Beeinträchtigung des Immunsystems mit Komplikationen wie Wundheilungsstörungen, schweren Allgemeininfektionen oder gar zum Tod des Patienten führen können.

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde untersucht, inwiefern zwei unterschiedliche Anästhesieverfahren einerseits alleine durch eine direkte Anästhetikaeinwirkung (Gruppen ohne chirurgischen Eingriff) und andererseits in Kombination mit einem chirurgischen Eingriff (Gruppen mit einer Nabelexstirpation) ausgewählte Immunzellkonzentrationen bei Kälbern beeinflussen. Verglichen wurde eine reine Inhalationsanästhesie mit Isofluran (INH) mit einer kombinierten Anästhesie mit einer Xylazin-Ketamin-Einleitung und Aufrechterhaltung mit Isofluran (KOM).

Insgesamt wurden 24 Anästhesien durchgeführt, jeweils sechs in den Gruppen mit (INHc, KOMc) und ohne chirurgischen Eingriff (INHo, KOMo). Die Zuordnung zu einer Anästhesieform wurde per Losverfahren entschieden.

Die Anästhesien wurden an insgesamt 20 Kälbern der Rasse Deutsches Fleckvieh durchgeführt. Es handelte sich um 16 männliche und 4 weibliche Tiere, mit einem durchschnittlichen Gewicht von $81,0 \pm 19,6$ kg. Im Schnitt waren die Kälber $51,9 \pm 22,8$ Tage alt. 24 Stunden vor der OP/Anästhesie erhielten alle Kälber Meloxicam (0,5 mg/kg KGW s.c.) und zusätzlich ab diesem Zeitpunkt für fünf Tage das Antiinfektivum Cefquinomsulfat (1 mg/kg KGW s.c.) verabreicht.

Einen Tag vor der Anästhesie, am Morgen vor der Anästhesie (OP-Tag), sowie ein, drei und acht Tage postoperativ wurde den Kälbern eine Blutprobe entnommen, daraus die Gesamtleukozytenzahl (WBC), der Absolutwert und die Prozentwerte der Granulozyten bestimmt und die Leukozyten isoliert. Die Lymphozytensubpopulationen CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen sowie die Monozyten wurden mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern markiert und im Durchflusszytometer gemessen.

Bei den Leukozytenkonzentrationen war ein Anstieg der Konzentrationen bei INHc auffällig, wohingegen es bei INHo zum Absinken der Konzentrationen kam. Diese Unterschiede waren bereits am Morgen des OP-Tages vor der Anästhesie und dann am

dritten postoperativen Tag statistisch signifikant. In den beiden chirurgisch versorgten Gruppen lagen die Leukozytenkonzentrationen acht Tage postoperativ über den Ausgangswerten, wohingegen sie bei den Kontrollgruppen unterhalb der Ausgangskonzentrationen blieben, jedoch ohne statistisch signifikante Unterschiede. INHo wies auch bei den Lymphozyten geringere Konzentrationen als in den anderen drei Gruppen auf. Es kam aber bei der Untersuchung der Lymphozytenkonzentrationen zwischen den Gruppen zu keinen statistisch signifikanten Unterschieden.

Der Vergleich der CD4⁺ T-Zellkonzentrationen lieferte sowohl beim Vergleich INHc und KOMc als auch bei Untersuchung von INHo und KOMo einen Tag postoperativ statistisch signifikante Unterschiede mit deutlich geringeren Werten bei Einsatz einer reinen Inhalationsanästhesie. Bei den beiden OP-Gruppen war dieser signifikante Unterschied auch am achten postoperativen Tag feststellbar und zeigte sich auch bei den CD8⁺ T-Zellkonzentrationen.

Zwischen den beiden Kontrollgruppen bestand bereits am Morgen des OP-Tages vor der Anästhesie ein statistisch signifikanter Unterschied bei den CD4⁺ T-Zellen. Ein ähnliches Bild zeigte sich im Vergleich der beiden OP-Gruppen bei den CD8⁺ T-Zellen. Bei den CD8⁺ T-Zellen kam es auch am achten postoperativen Tag bei INHc und KOMc zu einem statistisch signifikanten Unterschied.

Auch der Vergleich des Verlaufs der CD4⁺ T-Zellkonzentrationen über alle Probenzeitpunkte hinweg erbrachte einen signifikanten Unterschied zwischen Inhalationsanästhesie und kombinierter Anästhesie mit deutlich höheren Konzentrationen nach einer kombinierten Anästhesie. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass die beiden Gruppen mit einer Isoflurananästhesie bereits am ersten Probenstag vor jeglicher Manipulation geringere Werte aufwiesen als die Gruppen mit einer kombinierten Anästhesie.

Die Monozyten zeigten Anstiege der Konzentrationen bei INHc und KOMc sowie bei KOMo. Bei INHo hingegen kam es zum stetigen Absinken der Konzentrationen. Hier ergab sich an allen postoperativen Proben Tagen ein signifikanter Unterschied zu KOMo und am dritten postoperativen Tag auch im Vergleich zur INHc-Gruppe.

Bei den neutrophilen Granulozyten kam es ab dem OP-/Narkose-Tag in der INHc-Gruppe zum Anstieg der Konzentrationen. In den anderen drei Gruppen hingegen verhielten sie sich genau umgekehrt und sanken ab. Daraus ergaben sich innerhalb der

Inhalationsgruppe am OP-Tag, sowie am ersten und dritten postoperativen Tag und beim Vergleich der chirurgisch versorgten Gruppen am dritten postoperativen Tag statistisch signifikante Unterschiede.

Hinsichtlich des Einflusses der Anästhetika auf die Immunzellen (Leukozyten, Lymphozyten, CD4⁺ T-Zellen, CD8⁺ T-Zellen, Monozyten) nehmen wir an, dass unsere Ergebnisse dafür sprechen, dass Isofluran alleine einen direkten hemmenden Effekt auf die Immunzellen besitzt, wohingegen es unter einem chirurgischen Eingriff zu einer Aktivierung der Immunabwehr und Aufhebung der negativen Isofluranwirkung kommt. Ketamin scheint einen, mitunter erst verspätet eintretenden, indirekt aktivierenden Effekt auf die Immunzellen zu haben, indem es zu einem Kortisolanstieg führt, der wiederum, nach anfänglicher Suppression, ca. 24 Stunden später eine Immunsystemaktivierung nach sich zieht. Lediglich auf die Neutrophilenchemotaxis wird Ketamin eine negative Wirkung zugeschrieben und erklärt möglicherweise das Absinken der Granulozytenkonzentrationen bei KOMc und KOMo.

Aufgrund des Ergebnisses, dass nur wenige signifikante Unterschiede in den OP-Gruppen INHc und KOMc gefunden wurden, sowie der Tatsache, dass wir keine postoperativen Komplikationen in Form von Wundheilungsstörungen beobachteten, gehen wir davon aus, dass die beiden getesteten Anästhesieverfahren das Immunsystem von Kälbern bei einer Nabelbruchoperation nicht in klinisch relevanter Weise nachteilig beeinflussen.

VII. SUMMARY

Numerous studies in humans have shown that anesthesia and surgery can lead to suppression of the immune system, causing complications like wound healing complications, systemic infections or even death of the patient.

The present study investigated two different forms of anesthesia in the combination with and without surgical intervention (navel extirpation) on the effect on specific immune cell concentration in calves. The first form of anesthesia was inhalation of isoflurane (INH) and the second form of anesthesia was the combined application of xylazine and ketamine for a start and isoflurane for further anesthesia (KOM).

Anesthesia was conducted in total 24 times; six in each of the groups with (INHc, KOMc) and without surgery (INHo, KOMo). The allocation to the anesthesia groups was by random selection.

A total of 20 calves of the breed German Fleckvieh were used, 16 male and 4 female calves with an average body mass of $81,0 \pm 19,6$ kg. On average the calves were $51,9 \pm 22,8$ days old. 24 hours prior to the surgery/anesthesia, all calves received meloxicam (0,5 mg/kg body mass subcutaneously) and additionally the antibiotic cefquinome sulfate (1 mg/kg body mass s.q.) for a total of five days.

One day prior to the anesthesia, the morning before the anesthesia (day zero), as well as on days one, three, and eight post surgery a blood sample was taken from the calves to determine the white blood count (WBC) and the absolute and relative count of granulocytes. Furthermore, leucocytes were isolated. Subpopulations of leucocytes, CD4⁺ and CD8⁺ T-cells, as well as monocytes were marked with fluorescent antibodies and measured in a flow cytometer.

In the group of INHc, total leucocyte counts increase, while it decreased in the group of INHo. These differences were already observed on day zero and were statistically significant on day three. In both surgical groups, the concentration of leucocytes on day eight was higher than the baseline values, while it was below the baseline values in the control groups; however, these differences were not statistically significant. Calves in the group INHo also had lower lymphocyte counts than animals in the other three

groups. However, no statistically significant differences were found between any of the groups in the concentration of lymphocytes.

The comparison in CD4⁺ T-cell concentration showed statistically significant differences between anesthesia groups (INHc and KOMc as well as INHo and KOMo) on day one, whereby the inhalation group had significantly lower values than the combined anesthesia groups. In the two groups with surgery this difference was also statistically significant on day eight and was also observed in the CD8⁺ T-cell concentration. There was already a statistically significant difference in the CD4⁺ T-cell concentration between the two control groups on day zero. Similarly, the comparison between both surgical groups revealed a significant difference in the CD8⁺ T-cell concentration. On day eight there was also a statistically significant difference in this cell concentration between the two surgical groups. Comparing the course of CD4⁺ T-cell concentration over time revealed a significant difference between inhalation and combined anesthesia, whereby higher concentrations were observed in the combined anesthesia form. However, one has to consider, that the animals in the combined anesthesia had already higher values before any manipulation.

Monocytes showed an increasing concentration in groups INHc and KOMc, as well as in KOMo. Animals in group INHo showed a constant decrease in concentration. Significant differences between INHo and KOMo were seen in all days examined post surgery and also on day three between group INHo and group INHc.

In group INHc, neutrophil counts steadily increased, starting on the day of anesthesia/surgery, whereas they decreased in the calves of the other three groups. Thus, within the inhalation groups there were significant differences on day zero, one and three and between the two surgical groups on day three.

We therefore conclude that pure inhalation anesthesia (without surgery) has a direct inhibitory effect on immune cells (leucocytes, lymphocytes, CD4⁺ T-cells, CD8⁺ T-cells, monocytes), while the surgical intervention causes an activation of the immune system and thus counteracts the negative effect of isoflurane. Ketamine seems to have an indirect activating effect on the immune cells, albeit delayed in some animals, by causing an increase in cortisol levels, which in turn results in a temporary suppression, but then, about 24 hours later, causes an activation of the immune system. Ketamine is known to have a negative effect on the chemotaxis of neutrophils and this might

possibly explain the decrease in the concentration of granulocytes in animals of groups KOMc and KOMo.

On the basis of the results indicating only few significant differences between the surgical and control groups and the fact that we did not observe any postoperative complications, such as wound healing complications, we conclude that the two investigated forms of anesthesia have no clinically relevant negative effect on the immune system in calves undergoing umbilical surgery.

LITERATURVERZEICHNIS

ADAMS HA

Endokrine Reaktionen nach S-(+)-Ketamin.

Anaesthesist 1997; 46 (Suppl 1), 30-37

AKBAS H, ERDAL AC, DAMIRALP E, ALP M:

Effects of coronary artery bypass grafting on cellular immunity with or without cardiopulmonary bypass: changes in lymphocyte subsets.

Cardiovasc Surg 2002; 10(6): 586-9

AOSASA S, ONO S, MACHIZUKI H, TSUJIMOTO H, OSADA S, TAKAYAMA E, SEKI S, HIRAIDE H:

Activation of monocytes and endothelial cells depends on the severity of surgical stress.

World J Surg 2000; 24(1): 10-6

AYOUB IA, YANG TJ:

Age-dependent changes in peripheral blood lymphocyte subpopulations in cattle: a longitudinal study.

Dev Comp Immunol 1996; 20(5): 353-63

BALDWIN CL, TEALE AJ, NAESSENS JG, GODDEERIS BM, MACHUGH ND, MORRISON WI:

Characterization of a subset of bovine T lymphocytes that express BoT4 by monoclonal antibodies and function: similarity to lymphocytes defined by human T4 and murine L3T4.

J Immunol 1986; 136(12): 4385-91

BAR-YOSEF S, MELAMED R, PAGE GG, SHAKHAR G, SHAKHAR K, BEN-ELIYAHU S:

Attenuation of the tumor-promoting effect of surgery by spinal blockade in rats.

Anesthesiology 2001; 94(6): 1066-73

BAUER M, RENSING H, ZIEGENFUß T:

Anästhesie und perioperative Immundefunktion.

Anaesthesist 1998; 47(7): 538-556.

BEDNAREK D, KONDRACKI M, FRITON GM, TRELA T, NIEMCZUK K:

Effect of steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs on inflammatory markers in calves with experimentally-induced bronchopneumonia.

Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2005; 118(7-8): 305-8

BEILIN B, SHAVIT Y, TRABEKIN E, MORDASHEV B, MAYBURD E, ZEIDEL A, BESSLER H:

The effects of postoperative pain management on immune response to surgery.

Anesth Analg 2003; 97(3): 822-7

BENSAID A, HADAM M:

Individual antigens of cattle. Bovine CD4 (BoCD4).

Vet Immunol Immunopathol 1991; 27(1-3): 51-4

BRAND JM, KIRCHNER H, POPPE C, SCHMUCKER P:

Zytokinfreisetzung und Verteilung mononukleärer Zellen im peripheren Blut unter dem Einfluss der Allgemeinnarkose.

Anaesthesist 1998; 47(5): 379-86

BREIDTHARDT T:

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

Med. Diss. Lübeck 2003

BRÖCKER EB, MACHER E:

Der Einfluss von Narkose und Operation auf das Immunsystem.

Klin Wochenschr. 1981; 59(23): 1297-30

BRUCE DL:

Acute and chronic anesthetic actions on leukocytes.

Can Anaesth Soc J 1973; 20(1): 55-63

BRUN-HANSEN HC, KAMPEN AH, LUND A:

Hematologic values in calves during the first 6 months of life.

Vet Clin Pathol 2006; 35(2): 182-7

CALVELLI T, DENNY TN, PAXTON H, GELMAN R, KAGAN J:

Guideline for flow cytometric immunophenotyping: a report from the National Institute for Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS.

Cytometry 1993; 14(7): 702-15

CHANG Y, CHEN TL, SHEU JR, CHEN RM:

Suppressive effects of ketamine on macrophage functions.

Toxicol Appl Pharmacol 2005; 204(1): 27-35

COLLEN T, DOUGLAS AJ, PARTON DJ, ZHANG G, MORRISON WI:

Single amino acid differences are sufficient for CD4⁺ T-cell recognition of a heterologous virus by cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus.

Virology 2000; 276(1): 70-82.

COSTA A, BENEDETTO V, RICCI C, MERLIN P, BORELLI P, FADDA E, FRAGAPANE P, VARVELLO G, VOGLINO M, DE FILIPPIS V:

Endocrine, hematological and immunological changes in surgical patients undergoing general anaesthesia.

Ital J Surg Sci 1989; 19(1): 41-9

DAHANUKAR SA, THATTE UM, DESHMUKH UD, KULKARNI MK, BAPAT RD:

The influence of surgical stress on the psychoneuro-endocrine-immune axis.

J Postgrad Med 1996; 42(1): 12-4

DEAN GA, QUACKENBUSH SL, ACKLEY CD, COOPER MD, HOOVER EA:

Flow cytometric analysis of T-lymphocyte subsets in cats.

Vet Immunol Immunopathol 1991; 28(3-4): 327-35

DELOGU G, FAMULARO G, MORETTI S, DE LUCA A, TELLAN G, ANTONUCCI A, MARANDOLA M, SIGNORE L:

Interleukin-10 and apoptotic death of circulating lymphocytes in surgical/anesthesia trauma.

J Trauma 2001; 51(1): 92-7

DELOGU G, MORETTI S, ANTONUCCI A, MARCELLINI S, MASCIANGELO R, FAMULARO G, SIGNORE L, DE SIMONE C:

Apoptosis and surgical trauma: dysregulated expression of death and survival factors on peripheral lymphocytes.

Arch Surg 2000; 135(10): 1141-7

DIETZ A, HEIMLICH F, DANIEL V, POLARZ H, WEIDAUER H, MAIER H:

Immunomodulating effects of surgical intervention in tumors of the head and neck.

Otolaryngol Head Neck Surg 2000; 123(1): 132-9

DUCHENE DA, GALLAGHER BL, RATLIFF TL, WINFIELD HN:

Systemic and cell-specific immune response to laparoscopic and open nephrectomy in porcine model.

J Endourol 2008; 22(1): 113-20

EARLEY B, CROWE MA:

Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological and inflammatory responses.

J Anim Sci 2002; 80(4): 1044-1052

FAIST E, SCHINKEL C, ZIMMER S:

Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation.

World J Surg 1996; 20(4): 454-9

FAIST E, MARKEWITZ A, STORCK M, ERTEL W, SCHILDBERG FW:

Der Einfluss der ausgedehnten operativen Intervention auf die zellvermittelte Immunantwort.

Internist 1992; 33(6): 370-8

FALDYNA M, LEVÁ L, KNÖTIGOVÁ P, TOMAN M:

Lymphocyte subsets in peripheral blood of dogs – a flow cytometric study.

Vet Immunol Immunopathol 2001; 82(1-2): 23-37

FELSBURG PJ, KEYES LL, KRAWIEC DR, RUBIN SI:

The effect of general anesthesia on canine lymphocyte function.

Vet Immunol Immunopathol 1986; 13(1-2): 63-70

FOËX BA:

Systemic responses to trauma.

Br Med Bull 1999; 55(4): 726-43

GEIST A:

Durchflusszytometrische Untersuchungen der Leukozytenphänotypen aus dem Blut von Schweinen unter besonderer Berücksichtigung postoperativer Veränderungen.

Vet. med. Diss. Gießen 2006

GODDEERIS BM, MORRISON WI, TEALE AJ, BENSAID A, BALDWIN CL:

Bovine cytotoxic T-cell clones specific for cells infected with the protozoan parasite *Theileria parva*: parasite strain specificity and class I major histocompatibility complex restriction.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1986; 83(14): 5238-42

GRÄFE B:

Immunsuppression nach radikaler Zystektomie: Allgemeinanästhesie im Vergleich zur kombinierten thorakalen Periduralanästhesie.

Med. Diss. Münster 2004

GREISEN J, HOKLAND M, GRØFTE T, HANSEN PO, JENSEN TS, VILSTRUP H, TØNNESEN E:

Acute pain induces an instant increase in natural killer cell cytotoxicity in humans and this response is abolished by local anesthesia.

Br J Anaesth 1999; 83(2): 235-40

HARMS V:

Biomathematik, Statistik und Dokumentation.

7. Auflage (1998), Harms – Verlag, Kiel.

HASHIMOTO T, HASHIMOTO S, HORI Y, NAKAGAWA H, HOSOKAWA T:

Epidural anaesthesia blocks changes in peripheral lymphocytes subpopulation during gastrectomy for stomach cancer.

Acta Anaesthesiol Scand 1995; 39(3): 294-8

HAUPT W, RIESE J, MEHLER C, WEBER K, ZOWE M, HOHENBERGER W:

Monocyte function before and after surgical trauma.

Dig Surg 1998; 15(2): 102-4

HEFTI A:

Vergleich verschiedener Narkoseformen bei Kälbern im Hinblick auf Herzfrequenz, Blutdruck und Kortisol als Indikatoren für "chirurgischen Stress". Vet. Med. Diss. München 2010

HILDEBRAND F, PAPE HC, KRETTEK C:

Die Bedeutung der Zytokine in der posttraumatischen Entzündungsreaktion.

Unfallchirurg 2005; 108(10): 793-803

HOFFMANN-FEZER G, THUM J, ACKLEY C, HERBOLD M, MYSLIWIETZ J, THEFELD S, HARTMANN K, KRAFT W:

Decline in CD4⁺ cell numbers in cats with naturally acquired feline immunodeficiency virus infection.

J Virol 1992; 66(3): 1484-1488

HOFFMANN-FEZER G, MORTELBAUER W, HARTMANN K, MYSLIWIETZ J, THEFELD S, BEER B, THUM J, KRAFT W:

Comparison of T-cell subpopulations in cats naturally infected with feline leukaemia virus or feline immunodeficiency virus.

Res Vet Sci 1996; 61(3): 222-226

HØGEVOLD HE, LYBERG T, KÄHLER H, HAUG E, REIKERAS O:

Changes in plasma IL-1 β , TNF- α and IL-6 after total hip replacement surgery in general or regional anaesthesia.

Cytokine 2000; 12(7): 1156-59

HUHN C, NERL C, SIEBERT A, HÖGL L, DOERING W, KABOTH W, EICHENLAUB D:

Die prognostische Bedeutung von Lymphozytensubpopulationen und Makrophagen im peripheren Blut und in der bronchoalveolären Lavage bei AIDS-Patienten mit Verdacht auf Pneumocystis-carinii-Pneumonie.

Klin Wochenschr 1990; 68(17): 853-836

KÄBISCH S, ZITNIK B, KRUMHOLZ W, LOHMEYER J, PRALLE H, BISCOPING J, HEMPELMANN G:

Veränderungen von Lymphozytensubpopulationen in Abhängigkeit vom Narkoseverfahren.

Anasth Intensivther Notfallmed 1986; 21(6): 327-32

KAMPEN AH, OLSEN I, TOLLERSRUD T, STORSET AK, LUND A:

Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life.

Vet Immunol Immunopathol 2006; 113(1-2): 53-63

KAWASAKI T, OGATA M, KAWASAKI C, OKAMOTO K, SATA T:

Effects of epidural anesthesia on surgical stress-induced immunosuppression during upper abdominal surgery.

Br J Anesth 2007; 98(2): 196-203

KEHLET H:

The stress response to surgery: release mechanisms and the modifying effect of pain relief.

Acta Chir Scand Suppl 1989; 550: 22-8

KEHLET H:

Manipulation of the metabolic response in clinical practice.

World J Surg 2000; 24(6): 690-5

KITAMURA T, OHNO N, BOUGAKI M, OGAWA M, YAMADA Y:

Comparison of the effects of sevoflurane and propofol on changes in leukocyte-count induced by surgical stress.

Masui 2008; 57(8): 968-72

KÖCHLING A:

Postoperative Komplikationen bei HIV-Patienten unter besonderer Berücksichtigung des CD4/CD8-Quotienten.

Med. Diss. Bochum, 2003

KOETS A, RUTTEN V, HOEK A, VAN MIL F, MÜLLER K, BAKKER D, GRUYS E, VAN EDEN W:

Progressive bovine paratuberculosis is associated with local loss of CD4⁺ T cells, increased frequency of $\gamma\delta$ T cells, and related changes in T-cell function.

Infect Immun 2002; 70(7): 3856-64

KOLTUN WA, BLOOMER MM, TILBERG AF, SEATON JF, ILAHI O, RUNG G, GIFFORD RM, KAUFFMAN GL JR:

Awake epidural anesthesia is associated with improved natural killer cell cytotoxicity and a reduced stress response.

Am J Surg 1996; 171(1): 68-73

KRESS HG, EBERLEIN T:

Effect of anesthesia and operation on essential immune functions.

Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 1992; 27(7): 393-402

KUROSAWA S, KATO M:

Anesthetics, immune cells, and the immune response.

J Anesth 2008; 22(3): 263-77

LE CRAS AE, GALLEY HF, WEBSTER NR :

Spinal but not general anesthesia increases the ratio of T helper 1 to T helper 2 cell subsets in patients undergoing transurethral resection of the prostate.

Anesth Analg 1998; 87(6): 1421-5

LEE SW, FEINGOLD DL, CARTER JJ, ZHAI C, STAPLETON G, GLEASON N, WHELAN RL:

Peritoneal macrophage and blood monocyte functions after open and laparoscopic-assisted cecectomy in rats.

Surg Endosc 2003; 17(12): 1996-2002

LENTH, R. (2006).

Java Applets for Power and Sample Size [Computer software].

www.stat.uiowa.edu/~rlenth/Power. Retrieved 02.10.07

LIU S, CARPENTER RL, NEAL JM:

Epidural anesthesia and analgesia. Their role in postoperative outcome.

Anesthesiology 1995; 82(6): 1474-506

LULIC N:

Durchflußzytometrische Zählungen von CD3-, CD4- und CD8-positiven Lymphozyten nach einer Aufbereitung ohne Erythrozytenlyse – Vergleich der Ergebnisse eines mobilen und Standard-Labors.

Med. Diss. Münster, 2006

MACHUGH ND, MBURU JK, CAROL MJ, WYATT CR, ORDEN JA, DAVIS WC:

Identification of two distinct subsets of bovine $\gamma\delta$ T cells with unique cell surface phenotype and tissue distribution.

Immunology 1997; 92(3): 340-45

MARKOVIC SN, MURASKO DM:

Anesthesia inhibits interferon-induced natural killer cell cytotoxicity via induction of CD8⁺ suppressor cells.

Cell Immunol 1997; 151(2): 474-80

MARKOVIC SN, KNIGHT PR, MURASKO DM:

Inhibition of interferon stimulation of natural killer cell activity in mice anesthetized with halothane or isoflurane.

Anesthesiology 1993; 78(4): 700-6

MATTILA-VUORI A, SALO M, IISALO E, PAJULO O, VILJANTO J:

Local and systemic immune response to surgery under balanced anesthesia in children.

Paediatr Anaesth 2000; 10(4): 381-8

MELAMED R, BAR-YOSEF S, SHAKHAR G, SHAKHAR K, BEN-ELIYAHU S:

Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumor metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures.

Anesth Analg 2003; 97(5): 1331-9

MILNES AS, BAILEY M, KNOWLES TG, COLES GC, GREEN LE, DAY MJ:

An immunohistochemical assessment of the cutaneous immune response to louse infestation in cattle.

J Comp Pathol. 2007; 136(4): 240-9

MUNFORD R, PUGIN J:

Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive.

Am J Respir Crit Care Med 2001; 163(2): 316-21

NELSON CJ, LYSLE DT:

Severity, time, and β -adrenergic receptor involvement in surgery-induced immune alterations.

J Surg Res 1998; 80(2): 115-22

OGAWA K, HIRAI M, KATSUBE T, MURAYAMA M, HAMAGUCHI K, SHIMAKAWA T, NARRITAKE Y, HOSOKAWA T, KAJIWARA T:

Suppression of cellular immunity by surgical stress.

Surgery 2003; 127(3): 329-36

OKA M, HIRAZAWA K, YAMAMOTO K, IIZUKA N, HAZAMA S, SUZUKI T, KOBAYASHI N:

Induction of Fas-mediated apoptosis on circulating lymphocytes by surgical stress.

Ann Surg 1996; 223(4): 434-40

OLDHAM G, BRIDGER JC, HOWARD CJ, PARSONS KR:

In vivo role of lymphocyte subpopulations in the control of virus excretion and mucosal antibody responses of cattle infected with rotavirus.

J Virol 1993; 67(8): 5012-19

PAGE GG:

Surgery-induced immunosuppression and postoperative pain management.

AACN Clin Issues 2005; 16(3): 302-9

PARK YH, FOX LK, HAMILTON MJ, DAVIS WC:

Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation.

J Dairy Sci 1992; 75(4): 998-1006

RAJ GD, MATHIVANAN B, MATHESWARAN K, NACHIMUTHU K, DAVIS WC:

Lymphocyte subset distribution in apparently normal and single intradermal test-positive water buffaloes analyzed by flow cytometry.

Res Vet Sci 2007; 82 (1): 34-8

REM J, BRANDT MR, KEHLET H:

Prevention of postoperative lymphopenia and granulocytosis by epidural analgesia.

Lancet 1980; 1(8163): 283-4

RIONDATO F, D'ANGELO A, MINISCALCO B, BELLINO C, GUGLIELMINO R:

Effects of road transportation on lymphocyte subsets in calves.

Vet J 2008; 175(3): 364-8

ROMEO C, CRUCETTI A, TURIACO P, IMPELLIZZERI P, TURIACO N, DI BELLA C, MERLINO MV, CIFALÀ S, BASILE M, GENTILE C, SALPIETRO DC:

Monocyte and neutrophil activity after minor surgical stress.

J Pediatr Surg 2002; 37(5): 741-4

SALO M:

Effects of anaesthesia and surgery on the immune response.

Acta Anaesthesiol Scand 1992; 36(3): 201-20

SANCHEZ PALACIOS A, ORTIZ PONCE M, RODRIGUEZ PÉREZ A, SCHAMANN MEDINA F, GARCÍA MARRERO JA :

Modification of mediators of immune reaction after general anaesthesia.

Allergol Immunopathol (Madr) 2004; 32(6): 352-60

SCHWARTZ I, BENSAID A, POLACK B, PERRIN B, BERTHELEMY M, LEVY D:

In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle.

J Virol 1994; 68(7): 4589-96

SHIMAOKA M, HOSOTSUBO K, SUGIMOTO M, SAKAUE G, TAENAKA N, YOSHIYA I, KIYONO H:

The influence of surgical stress on T cells: Enhancement of early phase lymphocyte activation.

Anesth Analg 1998; 87(6): 1431-5

SHORT JA, VAN DER WALT JH, ZOANETTI DC:

Immunization and anesthesia – an international survey.

Paediatr Anaesth 2006; 16(5): 514-22

TANAKA S, ASO H, MIYAZAWA K, NAGAI Y, WATANABE K, OHWADA S, KOBAYASHI J, YAMAGUCHI T:

Differential cytokine gene expression in CD4⁺ and CD8⁺ T cell subsets of calves.

Vet Immunol Immunopathol 2007; 118(1-2): 84-91

TARPLEY JL, TWOMEY PL, CATALONA WJ, CHRETIEN PB:

Suppression of cellular immunity by anesthesia and operation.

J Surg Res 1977; 22(3): 195-201

TING STL, EARLEY B, HUGHES JML, CROWE MA:

Effect of ketoprofen, lidocaine local anesthesia, and combined xylazine and lidocaine caudal epidural anesthesia during castration of beef cattle on stress responses, immunity, growth, and behavior.

J Anim Sci 2003; 81(5): 1281-93

TIZARD IR.

Lymphocytes; in: Veterinary immunology – an introduction.

W.B. Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 2000; 6.Auflage, S. 84-97

TIZARD IR:

Cytokines and the immune system; in: Veterinary immunology – an introduction.

W.B. Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania 2000; 6.Auflage, S. 127-138

TOFT P, SVENDSEN P, TØNNESEN E, RASMUSEN JW, CHRISTENSEN NJ:

Redistribution of lymphocytes after major surgical stress.

Acta Anaesthesiol Scand 1993; 37(3): 245-9

TØNNESEN E, WAHLGREEN C:

Influence of extradural and general anaesthesia on natural killer cell activity and lymphocyte subpopulations in patients undergoing hysterectomy.

Br J Anaesth 1988; 60(5): 500-7

VALLEJO R, HORD ED, BARNA SA, SANTIAGO-PALMA J, AHMED S:

Perioperative immunosuppression in cancer patients.

J Environ Pathol Toxicol Oncol. 2003; 22(2): 139-46

VOIGT K:

Einfluss der patientenkontrollierten epiduralen Analgesie versus der patientenkontrollierten intravenösen Analgesie auf immunologische Parameter nach großen Wirbelsäulenoperationen.

Med. Diss. Berlin 2006

VOSE BM, MOUDGIL GC:

Post-operative depression of antibody-dependent lymphocyte cytotoxicity following minor surgery and anaesthesia.

Immunology 1976; 30(1): 123-8

WADA H, SEKI S, TAKAHASHI T, KAWARABAYASHI N, HIGUCHI H, HABU Y, SUGAHARA S, KAZAMA T:

Combined spinal and general anesthesia attenuates liver metastasis by preserving Th1/Th2 cytokine balance.

Anesthesiology 2007; 106(3): 499-506

WAKEFIELD CH, CAREY PD, FOULDS S, MONSON JR, GUILLOU PJ.

Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery.

Br J Surg 1993; 80(2): 205-9

WALTON B:

Effects of anaesthesia and surgery on immune status.

Br J Anaesth 1979; 51(1): 37-43

WANG BS, HEACOCK EH, WU AV, MANNICK JA:

Generation of suppressor cells in mice after surgical trauma.

J Clin Invest 1980; 66(2): 200-9

WILSON RA, ZOLNAI A, RUDAS P, FRENYO LV:

T-cell subsets in blood and lymphoid tissues obtained from fetal calves, maturing calves, and adult bovine.

Vet Immunol Immunopathol 1996; 53(1-2): 49-60

YOKOYAMA M, ITANO Y, MIZOBUCHI S, NAKATSUKA H, KAKU R,
TAKASHIMA T, HIRAKAWA M:

The effects of epidural block on the distribution of lymphocyte subsets and natural-killer cell activity in patients with and without pain.

Anesth Analg 2001; 92(2): 463-9

ZHANG S, WOOD C, XUE W, KRUKENBERG SM, CHEN Q, MINOCHA HC:

Immune suppression in calves with bovine immunodeficiency virus.

Clin Diagn Lab Immunol. 1997; 4(2): 232-5.

IX. ANHANG

Tabelle 8 Übersicht aller Anästhesien der Kälber im Versuch

Kliniknummer	Nabelbruchoperation	Kontrollanästhesie
650/08	kombinierte Anästhesie	-
670/08	kombinierte Anästhesie	1x kombinierte; 1x Injektion
672/08	kombinierte Anästhesie	1x kombinierte
673/08	kombinierte Anästhesie	1x kombinierte
711/08	kombinierte Anästhesie	-
752/08	kombinierte Anästhesie	-
866/08	Injektionsanästhesie	1x Injektion; 1x kombinierte
867/08	Injektionsanästhesie	1x Injektion; 1x Inhalation
868/08	Injektionsanästhesie	1x Injektion; 1x Inhalation
869/08	Injektionsanästhesie	1x Inhalation
865/08	Injektionsanästhesie	1x Injektion; 1x Inhalation
779/08	Inhalationsanästhesie	-
883/08	Inhalationsanästhesie	-
910/08	Inhalationsanästhesie	-
1015/08	Inhalationsanästhesie	1x kombinierte
1066/08	Inhalationsanästhesie	-
1080/08	Inhalationsanästhesie	-
664/08	-	1x kombinierte; 1x Injektion
1210/08	-	1x Inhalation
1212/08	-	1x Inhalation

Tabelle 9 Median- und Quartilwerte der absoluten Leukozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne

Absolute Leukozytenkonzentrationen		1 d prä OP	OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	6,000	6,550	6,550	8,650	7,800
	KOMc	9,350	8,700	8,250	8,000	10,300
	INHo	6,650	6,350	5,600	6,550	6,100
	KOMo	7,200	7,200	7,700	8,300	8,100
1. Quartil	INHc	5,375	5,025	6,225	7,025	5,875
	KOMc	6,750	6,850	7,000	7,700	10,300
	INHo	4,975	4,350	4,975	4,900	5,600
	KOMo	6,575	6,700	6,350	6,575	6,925
3. Quartil	INHc	6,550	9,500	7,850	10,500	9,050
	KOMc	9,775	9,425	10,325	8,450	10,600
	INHo	8,700	7,600	6,375	7,600	7,050
	KOMo	9,475	7,625	8,900	8,975	8,825
Differenzen der absoluten Leukozytenkonzentrationen zum Ausgangswert						
			OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc		0,550	0,600	1,550	2,400
	KOMc		-0,100	-0,050	-0,400	0,700
	INHo		-0,650	-0,800	-0,350	-0,250
	KOMo		-0,200	-0,750	-0,550	-0,100
1. Quartil	INHc		-0,200	-0,225	0,925	0,600
	KOMc		-0,475	-1,025	-1,425	0,250
	INHo		-1,325	-1,675	-1,250	-0,875
	KOMo		-0,800	-1,050	-1,050	-1,725
3. Quartil	INHc		2,200	1,800	3,750	3,150
	KOMc		0,350	0,850	1,375	1,225
	INHo		-0,200	0,000	-0,125	0,450
	KOMo		0,325	0,075	0,775	1,150
Differenzen prozentualer Änderungen der Leukozytenkonz. zum Ausgangswert						
			OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc		9,044	11,196	19,592	37,577
	KOMc		0,023	-1,396	-4,292	7,397
	INHo		-11,250	-9,877	-5,127	-2,054
	KOMo		-2,786	-9,857	-10,352	-2,802
1. Quartil	INHc		-4,168	-3,206	16,389	10,341
	KOMc		-4,788	-11,796	-14,515	2,495
	INHo		-16,444	-30,488	-13,906	-10,053
	KOMo		-18,557	-16,095	-11,899	-18,122
3. Quartil	INHc		25,527	30,147	72,292	50,464
	KOMc		6,172	11,126	23,129	13,061
	INHo		-2,986	0,000	-1,863	9,095
	KOMo		2,249	1,256	11,640	16,929

chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Tabelle 10 Median- und Quartilwerte der absoluten Lymphozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.

absolute Lymphozytenkonzentrationen		1 d prä OP	OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	3,833	3,642	3,094	3,890	3,560
	KOMc	4,611	5,715	5,361	5,519	6,408
	INHo	3,627	4,054	3,751	3,994	4,005
	KOMo	4,822	4,593	4,327	4,610	4,738
1. Quartil	INHc	3,593	3,157	3,001	3,386	3,146
	KOMc	3,527	3,707	3,501	4,588	5,064
	INHo	3,217	3,529	3,436	3,262	3,575
	KOMo	2,991	2,791	3,283	3,360	3,809
3. Quartil	INHc	4,146	4,572	3,678	5,428	4,189
	KOMc	5,992	6,517	5,884	6,381	7,159
	INHo	4,959	5,466	5,002	4,750	4,585
	KOMo	5,191	5,178	5,180	5,633	5,329
Differenzen der absoluten Lymphozytenkonz. zum Ausgangswert			OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	0,018	-0,447	0,057	0,161	
	KOMc	0,436	-0,031	0,992	1,111	
	INHo	0,281	-0,027	-0,561	-0,466	
	KOMo	-0,020	0,302	0,537	0,569	
1. Quartil	INHc	-0,432	-0,914	-0,248	-0,491	
	KOMc	-0,068	-0,392	0,170	1,010	
	INHo	0,239	-0,244	-0,958	-0,690	
	KOMo	-0,408	-0,156	0,479	0,006	
3. Quartil	INHc	0,635	-0,190	1,444	0,713	
	KOMc	0,889	0,966	1,408	1,374	
	INHo	0,498	0,018	0,402	0,253	
	KOMo	0,167	0,562	0,707	0,803	
Differenzen der prozentualen Änderungen der Lymphozytenkonz. zum Ausgangswert			OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	1,910	-11,833	1,454	7,250	
	KOMc	7,129	2,248	22,718	21,775	
	INHo	7,344	-0,699	-12,018	-9,981	
	KOMo	-1,424	6,950	15,596	12,427	
1. Quartil	INHc	-10,060	-25,480	-6,986	-13,314	
	KOMc	-1,067	-10,101	3,979	15,549	
	INHo	5,089	-6,439	-18,257	-11,344	
	KOMo	-8,652	-3,349	9,333	0,293	
3. Quartil	INHc	16,746	-4,649	35,947	21,153	
	KOMc	15,478	19,157	37,597	30,028	
	INHo	10,035	0,269	13,761	7,537	
	KOMo	10,990	21,228	28,595	37,226	

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Tabelle 11 Median- und Quartilwerte der absoluten CD4⁺ T-Zellkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.

Absolute CD4 ⁺ T-Zellkonzentrationen		1 d prä OP	OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	0,372	0,270	0,137	0,441	0,386
	KOMc	0,720	0,600	0,483	0,959	0,840
	INHo	0,346	0,287	0,278	0,342	0,359
	KOMo	0,781	0,691	0,563	0,687	0,871
1. Quartil	INHc	0,240	0,196	0,089	0,331	0,309
	KOMc	0,600	0,513	0,378	0,772	0,633
	INHo	0,211	0,114	0,182	0,178	0,296
	KOMo	0,414	0,511	0,525	0,538	0,594
3. Quartil	INHc	0,603	0,318	0,225	0,470	0,470
	KOMc	0,883	0,691	0,732	1,069	1,310
	INHo	0,629	0,426	0,351	0,578	0,502
	KOMo	0,883	0,736	0,608	0,917	0,914
Differenzen der absoluten CD4⁺ T-Zellkonzentrationen zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	-0,151	-0,155	0,081	0,057	
	KOMc	-0,143	-0,084	0,128	0,069	
	INHo	-0,146	-0,073	-0,113	-0,045	
	KOMo	-0,046	-0,175	0,076	0,070	
1. Quartil	INHc	-0,192	-0,255	-0,103	-0,021	
	KOMc	-0,204	-0,513	0,033	-0,051	
	INHo	-0,305	-0,348	-0,207	-0,096	
	KOMo	-0,140	-0,338	-0,036	0,007	
3. Quartil	INHc	0,059	-0,078	0,247	0,132	
	KOMc	-0,043	0,170	0,303	0,386	
	INHo	0,110	-0,013	0,198	0,008	
	KOMo	0,004	0,108	0,119	0,191	
Differenzen der prozentualen Änderungen der CD4⁺ T-Zell-Konz. zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	-41,871	-52,718	25,678	22,438	
	KOMc	-22,210	-12,701	17,765	11,730	
	INHo	-52,198	-37,361	-34,750	-15,586	
	KOMo	-11,054	-21,334	11,114	7,903	
1. Quartil	INHc	-55,186	-72,599	-45,515	-2,642	
	KOMc	-25,937	-55,101	3,428	-5,384	
	INHo	-76,962	-58,215	-69,260	-24,718	
	KOMo	-19,288	-38,259	-4,260	0,842	
3. Quartil	INHc	29,330	-20,844	84,468	50,129	
	KOMc	-6,412	29,029	39,959	41,634	
	INHo	35,564	-10,248	88,355	2,570	
	KOMo	0,228	42,110	23,037	61,854	

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Tabelle 12 Median- und Quartilwerte der absoluten CD8⁺ T-Zellkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.

Absolute CD8 ⁺ T-Zellkonzentrationen		1 d prä OP	OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	0,346	0,302	0,186	0,350	0,462
	KOMc	0,576	0,666	0,661	0,626	0,680
	INHo	0,579	0,483	0,402	0,482	0,414
	KOMo	0,426	0,502	0,613	0,571	0,519
1. Quartil	INHc	0,253	0,176	0,160	0,224	0,265
	KOMc	0,519	0,643	0,568	0,483	0,584
	INHo	0,449	0,334	0,312	0,334	0,411
	KOMo	0,397	0,391	0,422	0,484	0,439
3. Quartil	INHc	0,466	0,484	0,271	0,713	0,545
	KOMc	0,655	0,759	0,811	0,749	0,740
	INHo	0,597	0,492	0,481	0,586	0,422
	KOMo	0,608	0,588	0,649	0,851	0,604
Differenzen der absoluten CD8⁺ T-Zellkonzentrationen zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	-0,030	-0,103	-0,015	0,041	
	KOMc	0,017	0,117	0,068	0,145	
	INHo	-0,027	-0,171	-0,124	-0,167	
	KOMo	0,012	0,075	0,081	0,016	
1. Quartil	INHc	-0,100	-0,239	-0,062	-0,061	
	KOMc	-0,036	0,012	-0,033	0,006	
	INHo	-0,241	-0,278	-0,254	-0,175	
	KOMo	-0,037	-0,065	0,035	-0,043	
3. Quartil	INHc	0,059	0,006	0,293	0,139	
	KOMc	0,227	0,161	0,184	0,173	
	INHo	0,075	-0,011	0,179	-0,055	
	KOMo	0,078	0,214	0,174	0,041	
Differenzen der prozentualen Änderungen der CD8⁺ T-Zell-konz. zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	-13,535	-45,676	-4,060	7,363	
	KOMc	3,130	21,676	14,048	27,322	
	INHo	-4,656	-28,351	-20,615	-28,729	
	KOMo	5,419	10,684	19,459	3,829	
1. Quartil	INHc	-22,257	-63,707	-20,780	-17,591	
	KOMc	-9,038	2,023	-4,461	2,373	
	INHo	-41,864	-47,162	-43,368	-29,263	
	KOMo	-5,553	-16,087	6,428	-6,562	
3. Quartil	INHc	12,265	2,010	68,428	31,698	
	KOMc	41,853	25,286	32,307	43,105	
	INHo	17,305	-0,290	44,751	-10,703	
	KOMo	20,088	41,347	40,500	15,090	

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Tabelle 13 Median- und Quartilwerte der CD4⁺/CD8⁺-Ratio zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff

CD4⁺/CD8⁺-Ratio		CD4⁺/CD8⁺- Ratio1	CD4⁺/CD8⁺- Ratio2	CD4⁺/CD8⁺- Ratio3	CD4⁺/CD8⁺- Ratio4	CD4⁺/CD8⁺- Ratio5
Median	INHc	0,942	0,894	0,917	1,229	1,009
	KOMc	1,113	0,820	0,935	1,468	1,253
	INHo	0,692	0,779	0,604	0,743	0,766
	KOMo	1,012	0,996	0,882	0,943	1,371
1. Quartil	INHc	0,713	0,459	0,581	0,695	0,875
	KOMc	0,865	0,681	0,575	1,230	0,921
	INHo	0,625	0,589	0,592	0,584	0,750
	KOMo	0,855	0,819	0,786	0,854	1,184
3. Quartil	INHc	1,289	1,360	1,152	1,591	1,427
	KOMc	1,700	1,139	1,087	2,090	1,689
	INHo	1,096	0,875	0,905	0,895	1,172
	KOMo	1,802	1,840	1,310	1,739	1,903

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Tabelle 14 Median- und Quartilwerte der absoluten Monozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.

Absolute Monozytenkonzentrationen		1 d prä OP	OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	0,611	0,659	0,500	0,751	0,930
	KOMc	0,895	0,713	0,776	0,875	1,089
	INHo	0,725	0,667	0,576	0,492	0,505
	KOMo	0,634	0,696	0,773	0,884	0,800
1. Quartil	INHc	0,477	0,417	0,491	0,720	0,485
	KOMc	0,629	0,642	0,622	0,784	0,785
	INHo	0,582	0,381	0,485	0,483	0,468
	KOMo	0,357	0,491	0,504	0,615	0,684
3. Quartil	INHc	0,712	0,855	0,665	0,897	1,135
	KOMc	1,049	1,180	1,052	0,960	1,392
	INHo	0,943	1,012	0,825	0,649	0,729
	KOMo	0,835	0,839	0,984	1,007	1,100
Differenzen der absoluten Monozytenkonz. zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	0,003	0,014	0,053	0,211	
	KOMc	0,062	-0,004	-0,052	0,160	
	INHo	-0,021	-0,094	-0,155	-0,156	
	KOMo	0,062	0,043	0,115	0,097	
1. Quartil	INHc	-0,086	-0,066	0,023	-0,032	
	KOMc	-0,096	-0,105	-0,122	-0,006	
	INHo	-0,167	-0,156	-0,273	-0,220	
	KOMo	0,019	-0,035	0,038	0,021	
3. Quartil	INHc	0,159	0,141	0,293	0,628	
	KOMc	0,208	0,038	0,194	0,222	
	INHo	0,069	-0,050	-0,072	-0,101	
	KOMo	0,140	0,248	0,161	0,200	
Differenzen der prozentualen Änderungen der Monozytenkonz. zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	1,499	3,913	9,645	28,814	
	KOMc	12,960	-0,438	-5,233	16,393	
	INHo	-3,511	-12,935	-21,299	-23,757	
	KOMo	10,061	5,285	17,733	12,752	
1. Quartil	INHc	-18,685	-11,224	4,022	-7,478	
	KOMc	-10,660	-10,412	-9,621	-2,455	
	INHo	-30,743	-20,154	-34,743	-27,906	
	KOMo	3,365	-4,795	5,661	4,501	
3. Quartil	INHc	22,194	41,275	50,717	105,281	
	KOMc	19,405	3,510	33,812	42,899	
	INHo	6,987	-6,417	-12,021	-12,079	
	KOMo	27,401	35,892	34,138	27,774	

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

Tabelle 15 Median- und Quartilwerte der absoluten Granulozytenkonzentrationen sowie ihrer Differenzen (absolut und prozentual) zum Ausgangswert zu den einzelnen Probenzeitpunkten bei zwei unterschiedlichen Anästhesieverfahren der Gruppen mit und ohne chirurgischen Eingriff.

Absolute Granulozytenkonzentrationen		1 d prä OP	OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP
Median	INHc	1,945	2,205	2,676	3,696	3,524
	KOMc	3,069	2,651	3,071	2,951	2,936
	INHo	1,921	1,232	1,196	2,213	2,128
	KOMo	3,231	2,502	2,729	2,469	3,052
1. Quartil	INHc	1,522	1,555	2,459	3,561	1,954
	KOMc	2,582	1,987	2,264	1,887	2,627
	INHo	1,262	0,709	0,738	1,136	1,989
	KOMo	2,018	1,669	1,900	2,003	2,669
3. Quartil	INHc	2,318	3,905	3,907	5,447	4,706
	KOMc	4,025	2,909	3,367	2,996	4,625
	INHo	2,379	2,509	2,048	2,550	2,312
	KOMo	4,687	4,078	3,854	2,990	3,617
Differenzen der absoluten Granulozytenkonzentrationen zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	0,097	0,998	1,455	1,751	
	KOMc	-0,497	-0,895	-1,253	-0,328	
	INHo	-0,809	-0,794	-0,188	-0,040	
	KOMo	-0,532	-0,677	-0,430	-1,020	
1. Quartil	INHc	-0,011	0,193	0,434	0,615	
	KOMc	-1,346	-0,998	-1,564	-0,463	
	INHo	-0,929	-1,288	-0,670	-0,345	
	KOMo	-1,117	-1,179	-1,694	-1,463	
3. Quartil	INHc	0,117	1,947	3,422	1,927	
	KOMc	0,292	0,150	0,194	0,043	
	INHo	-0,404	-0,096	0,274	0,631	
	KOMo	0,183	-0,026	0,346	0,404	
Differenzen der prozentualen Änderungen der Granulozytenkonzentrationen zum Ausgangswert						
		OP-Tag	1 d post OP	3 d post OP	8 d post OP	
Median	INHc	3,799	62,454	69,984	58,674	
	KOMc	-9,744	-27,343	-31,390	-12,692	
	INHo	-36,791	-55,824	-14,247	-1,597	
	KOMo	-12,915	-14,659	-15,398	-30,988	
1. Quartil	INHc	-1,744	10,827	21,417	24,111	
	KOMc	-39,247	-34,570	-47,437	-16,072	
	INHo	-54,388	-59,539	-31,609	-20,865	
	KOMo	-31,755	-23,109	-39,222	-32,606	
3. Quartil	INHc	9,106	102,315	171,461	125,109	
	KOMc	12,519	9,666	12,483	-0,028	
	INHo	-26,740	-11,083	12,446	54,976	
	KOMo	6,781	1,180	9,938	25,843	

INHc = Inhalationsanästhesie mit chirurgischem Eingriff; INHo = Inhalationsanästhesie ohne chirurgischen Eingriff; KOMc = kombinierte Anästhesie mit chirurgischem Eingriff; KOMo = kombinierte Anästhesie ohne chirurgischen Eingriff.

X. DANKSAGUNG

Eine Vielzahl von Menschen hat zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen, mein herzlicher Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Klee für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit zur Anfertigung dieser Dissertation an der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim.

Frau Dr. Inka Schlemmer für die Idee zu dieser Arbeit und ihr großes Engagement bei der Realisierung. Ganz lieben Dank an meine Mitdotorandin Frau Dr. Angela Hefti für die Anästhesien der Kälber, ihre Unterstützung und ihre aufmunternden Worte.

Den Tierpflegern an der Klinik für Wiederkäuer für die Betreuung der Versuchskälber.

Herrn Dr. Metzner für seine konstruktive Kritik während der schriftlichen Abfassung der Arbeit.

Frau Heidi Mayrhofer und Herrn Dr. Frank Weber für ihre Geduld mich in alle Labormethoden einzuweisen und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite zu stehen.

Frau Hartmann und Frau Beyer für die Auszählung der Differentialblutbilder.

Meinen Mitdotoranden Dr. Eva Kalivoda und Dr. Thomas Pfister für die kurzweilige Überbrückung von Wartezeiten im Labor und für die Hilfe bei jeglichen labortechnischen Problemen.

Herrn Dr. Wolfram Petzl und Herrn Dr. Daniel Mehne für die Hilfe bei der Auswertung der FACS-Daten.

Tausend Dank an Frau Dr. Carola Sauter-Louis für ihre Hilfe bei der Verarbeitung der Unmengen an Zahlen, der statistischen Auswertung und graphischen Darstellung der Ergebnisse. Sie war oft genug mein Retter in der Not!

Zu guter letzt gilt mein tiefster Dank meiner Familie ohne deren Unterstützung und ihren Glauben in mich weder das Studium noch diese Arbeit möglich gewesen wären.

Thomas danke ich für sein Verständnis, die Hilfe bei so manchem PC-Problem und seine Liebe.