

9 Zusammenfassung

Opioidpeptide werden in der Literatur als immunmodulatorisch wirksam beschrieben. Sie sind an der Steuerung humoraler (JOHNSON et al. 1982; PUPPO et al. 1985; WILLIAMSON et al. 1988) und zell-vermittelter (MANDLER et al. 1986; CHAO et al. 1994) Immunantworten beteiligt. Die Wirkung von β -Endorphin auf die Granulozytenfunktion in vivo wurde in dieser Studie im klinisch gesunden und im geschädigten Organismus studiert.

Dazu wurde in der Pilotstudie dieser Arbeit erstmalig durch Dauerinfusion von β -Endorphin in klinisch gesunde Schafe der β -Endorphin-Plasmaspiegel über mehrere Tage erhöht. Stufenweise Erhöhungen der infundierten Menge an β -Endorphin ließen sich in den adäquaten Anstiegen der β -Endorphin-Plasmakonzentrationen wiederfinden. Akute, klinisch relevante Nebenwirkungen traten dabei nicht auf. Zudem beeinflusste der in vivo erzeugte erhöhte β -Endorphin-Plasmaspiegel bei gesunden Schafen die in vitro im Respiratory Burst Assay ermittelte spontane (MEM) und stimulierte (Zymosan, FMLP, PMA) Granulozytenaktivität sowie die Aktivität in vitro zusätzlich opioid-inkubierter Granulozyten. Bereits bei klinisch gesunden Tieren ist demnach durch infundiertes β -Endorphin in vivo eine Modulation der Granulozytenfunktion möglich. Die Überprüfung der Einsetzbarkeit von β -Endorphin im polytraumatisierten Organismus als immunregulatorische Komponente ist demnach realisierbar.

Die hierbei gewonnenen Ergebnisse wurden in einer Therapiestudie genutzt. In der Versuchsgruppe, die dem Modell zum experimentell induzierten Schockgeschehen unterzogen wurde, wurde ein β -Endorphin-Plasmaspiegel von 10^{-10} mol/l über 7 Tage aufrechterhalten. Im Verlauf der Studie wurden Blutproben zur Analyse verschiedener biochemischer Parameter gewonnen. Zudem wurden aus dem Vollblut Granulozyten isoliert, die im Respiratory Burst Assay auf ihre Aktivität untersucht wurden. Die Messung verschiedener hämodynamischer Parameter wurde ebenfalls dokumentiert. Die erhaltenen Ergebnisse wurden mit einer Kontrollgruppe in Zusammenhang gebracht, in der identische Schädigungsmechanismen erzeugt wurden, ohne eine therapeutische Intervention durchzuführen.

Die Ergebnisse der Therapiestudie dokumentieren, daß Schafe, die dem Modell zum experimentell induzierten Schockgeschehen unterzogen wurden und in dessen Verlauf eine β -Endorphin Dauerinfusion erhielten (Versuchsgruppe), posttraumatisch eine günstigere Entwicklung gegenüber nicht β -Endorphin-infundierten Tieren (Kontrollgruppe) zeigten.

Die ASAT- und die SDH-Plasma-Konzentrationen stiegen post operationem in der Versuchsgruppe geringer an und fielen statistisch signifikant schneller wieder auf die Ausgangswerte ab. Die Bilirubin-Konzentration im Plasma der Versuchsgruppe stieg statistisch signifikant langsamer an als in der Kontrollgruppe. In den ermittelten hämodynamischen Parametern zeigte sich die Versuchsgruppe stabil, während die Kontrollgruppe ab dem 4. postoperativen Tag die Entwicklung einer hyperdynamen Kreislaufsituation andeutete.

Die zusammenfassende Beurteilung der Grundaktivität der Granulozyten in vitro bei künstlich erhöhter β -Endorphin-Plasmakonzentration in vivo ergibt in der Versuchsgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe eine statistisch signifikante Vorverlegung des maximalen

Aktivitätsniveaus der Granulozyten unter Stimulation mit Zymosan, FMI.P, PMA und auch in Pufferlösung (MEM) vom 3.-5. posttraumatischen Tag auf die ersten drei postoperativen Tage. An den darauffolgenden Tagen zeigte die Versuchsgruppe der Kontrollgruppe entsprechende Granulozytenaktivitäten oder statistisch signifikante Suppressionen der Granulozytenaktivitäten unter die entsprechenden Werte der Kontrollgruppe.

Aus den Ergebnissen dieser Studie lassen sich einige Hypothesen aufstellen: Durch die beschriebene Modulation der Granulozytenaktivität könnte die in der Literatur beschriebene stark verminderte Migrations- und Phagozytoseaktivität der Granulozyten vom 1.-3. postoperativen Tag und die folgende Überstimulation der Granulozyten positiv beeinflusst werden. T-Lymphozyten zeigen posttraumatisch eine Paralyse ihrer Funktionen. Durch Beeinflussungen des Zytokinnetzwerkes (insbesondere IFN_{gamma} , PGE_2 , $IL-2$) könnte β -Endorphin in vivo zudem die posttraumatisch beeinträchtigte Makrophagen/T-Lymphozyten-Interaktion wiederherstellen.

Auf dieser Studie basierend stellt sich die Frage nach der Wirkung höherer oder niedrigerer β -Endorphin-Plasmakonzentrationen in vivo auf die Granulozytenaktivität. Insbesondere im Hinblick auf die immunologischen Dysbalancen in der Entwicklung des SIRS/MOV ist das therapeutische Potential des β -Endorphins zu studieren. Zukünftig sollte diesbezüglich besonderes Augenmerk auf die Wirkung von β -Endorphin im posttraumatischen Verlauf und dem Auftreten relevanter Zytokine gelegt werden. Die gewonnenen Ergebnisse dieser Studie deuten die hohe Potenz des β -Endorphins an in vivo modulierend auf die Funktionen immunologischer Systeme zu wirken. Der Mechanismus und die Konsequenzen sind noch nicht geklärt. Weiterer Forschungsbedarf auf diesem äußerst interessanten Gebiet ist daher dringend gegeben.

10 Summary

Angela Witt (1998):

Modulation of PMNL functions by infused β -endorphin in an ovine trauma model

Opioidpeptides are effective to modulate immunologic functions. They are involved in controlling humoral and cell-mediated immune responses.

In this study, we examined the effect of β -endorphin on PMNL activity in vivo in clinically healthy and in traumatized sheep.

In a pilot study we increased the β -endorphin plasma levels by permanent infusion of β -endorphin in clinically healthy sheep for a period of three days. Increasing the infused quantity of β -endorphin step by step lead to adequate increments in plasma β -endorphin levels. During these studies, no acute clinical relevant side effects were observed. The in vivo raised β -endorphin plasma levels influenced the PMNL chemiluminescence in the respiratory burst assay in vitro. Chemiluminescence of unstimulated (MEM) and stimulated (Zymosan, FMLP, PMA) PMNL was measured with and without the additional incubation of different concentrations of β -endorphin and met-enkephalin. These results indicate that it is possible to raise the β -endorphin plasma level in vivo for several days. PMNL functions are influenced by this increase in β -endorphin plasma levels.

In the second part of this study, we increased the β -endorphin plasma levels of traumatized sheep (established model) to 10^{-10} mol/l for the period of seven days (therapy-group). Several biochemical and hemodynamic parameters were analysed in the course of the experiment. PMNL chemiluminescence was measured analogous to the pilot study. The results were compared to another group of sheep undergoing the same experimental procedures with the exception of the therapeutic intervention (control-group).

The results of the therapy study document that the therapy-group shows a better posttraumatic development of the biochemical and hemodynamic parameters than the control-group. ASAT and SDH plasma levels increased less post operationem and decreased earlier in the therapy-group in comparison to the control-group ($p < 0,05$). Bilirubin plasma concentrations increased slower in the therapy-group ($p < 0,05$). The therapy-group was hemodynamically stable whereas the control-group developed a hyperdynamic circulatory situation from the fourth day post operationem on.

The analysis of the results of the PMNL chemiluminescence demonstrates a shift in the maximal PMNL activity levels (in MEM, and during stimulation with Zymosan, FMLP, PMA) from the 3rd -5th day post operationem (control-group) to the 1st -3rd day post operationem (therapy-group) ($p < 0,05$). From the fourth day post operationem on, the PMNL activity of the therapy-group either corresponds with the results obtained in the control-group or show a significant decrease.

These results lead to the hypothesis, that the above described modulation could exert a positive effect on posttraumatic PMNL activity. In the literature, a reduced migration and phagocytosis activity of PMNL is described from the first until the third day post trauma. Subsequently, a hyperactivity of PMNL is observed. In addition, T-lymphocytes are posttraumatically paralysed in their functions. Another advantageous function of β -endorphin may lie in the modulation of the posttraumatic paralytic interaction between macrophages and T-lymphocytes. This effect may be obtained by influencing the cytokine network, especially IFN_{γ} , PGE_2 , and IL-2.

Based on this study, questions are raised regarding the effects of increased or decreased β -endorphin plasma levels on PMNL activity. Especially concerning the immunological disbalance in the development of SIRS/MOF, the therapeutic potential of β -endorphin needs to be studied. In future experiments, the attention should be directed to the effects of β -endorphin in the posttraumatic course including the modulation of relevant cytokin patterns. The results of this study indicate the high potency of β -endorphin to exert beneficial effects on the functions of the immun system. The mechanisms and consequences of the interactions of β -endorphin and the immunsystem are not cleared yet. Further detailed research is urgently necessary in this extremely interesting field.