

**Der Einfluss verschiedener
nichtdepolarisierender Muskelrelaxanzien
auf die Chemotaxis menschlicher Monozyten
*in vitro***

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung des Grades des Doktors der Medizin

im Fachbereich Medizin der Justus – Liebig – Universität Gießen

Vorgelegt von : Gernot Keller

Aus : Köln

Giessen 2007

Aus dem Medizinischen Zentrum für Chirurgie, Anästhesiologie und Urologie
Abteilung für Anästhesiologie, operative Intensivmedizin und Schmerztherapie
Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Standort Gießen
Direktor : Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h.c. G. Hempelmann

Gutachter : Prof. Dr. W. Krumholz

Gutachter : PD Dr. J. Hänze

Disputationsdatum : 10-04-2008

Words

What does a Word achieve on it's own ?
What does a Word pretend to be ?
May there be Words to make people frown ;
May there be Words to make people see !

Gan Konymo'

...

Gewidmet meinem ehemaligen Chef

Herrn Dr. med. Peter Forner (†)

...

Inhaltsverzeichnis

<u>Kapitel</u>	<u>Thema</u>	<u>Seite</u>
1.	Einleitung	7
1.1.	Die Muskelrelaxanzen	7
1.2.	Das Immunsystem	9
1.3.	Chemotaxis und Chemokinese	13
1.4.	Fragestellung	14
2.	Methodik	15
2.1.	Die Checkerboard – Analyse	16
2.2.	Die Neuroprobe – Chamber	17
2.3.	Die Neubauer – Zählkammer	19
2.4.	Die Versuchsanordnung	20
2.5.	Die Verdünnung der Medikamente	21
2.6.	Die Zubereitung der Lösungen	21
2.7.	Die Probanden	22
2.8.	Die Blutabnahme	22
2.9.	Die Zellisolation	23
2.10.	Die Zellreinheit	24
2.11.	Die Zellvitalität	25
2.12.	Die Verdünnung der Zellsuspension	26
2.13.	Die Befüllung der Neuroprobe – Chamber	26
2.14.	Die Inkubation der Neuroprobe – Chamber	26
2.15.	Die Fixierung und Färbung der Filter	27
2.16.	Die Auswertung der Filter	27
2.17.	Die getesteten Medikamente	28
2.17.1.	Atracurium	28
2.17.2.	Cisatracurium	29
2.17.3.	Mivacurium	30
2.17.4.	Pancuronium	31
2.17.5.	Vecuronium	32
2.17.6	Rocuronium	33

<u>Kapitel</u>	<u>Thema</u>	<u>Seite</u>
2.18.	Die statistische Auswertung	34
3.	Die Ergebnisse der Testserien	35
3.1.	Atracurium	36
3.2.	Cisatracurium	37
3.3.	Mivacurium	38
3.4.	Pancuronium	39
3.5.	Vecuronium	40
3.6.	Rocuronium	41
4.	Die Diskussion und Interpretation der Ergebnisse	42
4.1.	Die Funktion der Monozyten	43
4.2.	Die Methodik	45
4.3.	Der chemotaktische Lockstoff	46
4.4.	Die Checkerboard – Analyse	47
4.5.	Die Muskelrelaxanzen	49
4.5.1.	Atracurim	51
4.5.2.	Cisatracurium	53
4.5.3.	Mivacurium	54
4.5.4.	Pancuronium	55
4.5.5.	Vecuronium	56
4.5.6.	Rocuronium	57
5.	Zusammenfassung	59
5.1.	Zusammenfassung	59
5.2.	Abstract	61
6.	Verzeichnisse	63
6.1.	Das Literaturverzeichnis	63
6.2.	Das Lösungen- und Medikamentenverzeichnis	77
6.3.	Das Materialverzeichnis	79
6.4.	Das Abkürzungsverzeichnis	81
7.	Anhang	84
7.1.	Die Berechnungen	84
7.1.1	Die Berechnung der avitalen Zellen	84

<u>Kapitel</u>	<u>Thema</u>	<u>Seite</u>
7.1.2.	Die Berechnung der vitalen Zellen	84
7.1.3.	Die Berechnung des prozentualen Anteils der avitalen Zellen	84
7.1.4.	Die Berechnung der Verdünnungsmenge des DMEM-BSA – Gemischs	85
7.1.5.	Die Berechnung des Verdünnungsfaktors	85
7.2.	Die Tabellen	86
7.2.1.	Die Probandendaten	86
7.2.2.	Die Checkerboard – Analyse	87
7.2.2.1.	Die Vorversuchsreihen 01 und 02	87
7.2.2.2.	Die Mittelwerte	88
7.2.3.	Die Ergebnisse der Zellzählung	89
7.2.3.1.	Die Vorversuchsreihe 01	89
7.2.3.2.	Die Vorversuchsreihe 02	90
7.2.3.3.	Die Mittelwerte	91
7.2.4.	Die Ergebnisse für NaCl 0,9% und fMLP	92
7.2.4.1.	Die Vorversuchsreihe 01	92
7.2.4.2.	Die Vorversuchsreihe 02	93
7.2.4.3.	Die Mittelwerte	94
7.2.5.	Die Ergebnisse der Suspension der Zellen in Trypan – Blau Lösung und in Türck'scher Lösung	95
7.2.5.1.	Die Vorversuchsreihe 01	95
7.2.5.2.	Die Vorversuchsreihe 02	96
7.2.6.	Darstellung der Auszählung der vitalen und avitalen mononukleären Zellen und der Verdünnung der Zellsuspension	97
7.2.6.1.	Die Vorversuchsreihe 01	97
7.2.6.2.	Die Vorversuchsreihe 02	98
7.2.7.	Darstellung der Zellzählung für Atracurium	99
7.2.7.1.	Die Versuchsreihe 01	99
7.2.7.2.	Die Versuchsreihe 02	100
7.2.7.3.	Die Mittelwerte	101
7.2.8.	Darstellung der Zellzählung für Cisatracurium	102
7.2.8.1.	Die Versuchsreihe 01	102

<u>Kapitel</u>	<u>Thema</u>	<u>Seite</u>
7.2.8.2.	Die Versuchsreihe 02	103
7.2.8.3.	Die Mittelwerte	104
7.2.9.	Darstellung der Zellzählung für Mivacurium	105
7.2.9.1.	Die Versuchsreihe 01	105
7.2.9.2.	Die Versuchsreihe 02	106
7.2.9.3.	Die Mittelwerte	107
7.2.10.	Darstellung der Zellzählung für Pancuronium	108
7.2.10.1.	Die Versuchsreihe 01	108
7.2.10.2.	Die Versuchsreihe 02	109
7.2.10.3.	Die Mittelwerte	110
7.2.11.	Darstellung der Zellzählung für Vecuronium	111
7.2.11.1.	Die Versuchsreihe 01	111
7.2.11.2.	Die Versuchsreihe 02	112
7.2.11.3.	Die Mittelwerte	113
7.2.12.	Darstellung der Zellzählung für Rocuronium	114
7.2.12.1.	Die Versuchsreihe 01	114
7.2.12.2.	Die Versuchsreihe 02	115
7.2.12.3.	Die Mittelwerte	116
7.3.	Erklärung	117
7.4.	Aufklärungsbogen und Einverständniserklärung der Probanden	118
7.5.	Danksagung	119
7.6.	Tabellarischer Lebenslauf	120

1. Einleitung

1.1. Die Muskelrelaxanzien

Muskelrelaxanzien bilden eine Stoffklasse von Medikamenten, die aus der modernen Medizin, vor allem der Anästhesie, nicht mehr wegzudenken ist. Als neuromuskulär blockierende Substanzen verursachen sie eine reversible schlaffe Lähmung der Skelettmuskulatur durch eine kompetitive Hemmung der elektrischen Impulsübertragung an der motorischen Endplatte des Muskels, indem sie reversibel die Bindungsstelle des Transmitters Acetylcholin am sog. Acetylcholinrezeptor besetzen und so den für ein Aktionspotential notwendigen Ionenstrom durch die Muskelzellmembran und damit deren Depolarisation verhindern [72, 88].

Mit der Einführung der Muskelrelaxanzien in den klinischen Alltag war das Prinzip der Komponentennarkose entdeckt, woraus für die Anästhesie ein hohes Maß an Sicherheit und für die operativen Disziplinen ein hohes Maß an Bequemlichkeit resultierte [64]. Aus heutiger Sicht gibt es vor allem drei Indikationen für den Einsatz von Muskelrelaxanzien :

- Die atraumatische endotracheale Intubation
- Die Verbesserung der Operationsbedingungen in der Chirurgie
- Die Ermöglichung einer kontrollierten Überdruckbeatmung während eines operativen Eingriffs.

Ein Einsatz in der postoperativen Phase oder beim Intensivpatienten sollte heute eher Einzelfällen in speziellen Situationen vorbehalten bleiben [88].

Muskelrelaxanzien können auf verschiedene Weise eingeteilt werden. Nach pharmakologischer Wirkung unterscheidet man depolarisierende und nichtdepolarisierende Muskelrelaxanzien, nach klinischer Wirkung unterscheidet man ultrakurz, kurz, mittellang und lang wirksame Substanzen [88]. Chemisch lässt sich eine Zuordnung zu zwei Gruppen vornehmen, die Aminosteroide und die Bisbenzylisochinoline [38, 88, 101].

In dieser Arbeit haben wir nichtdepolarisierende Muskelrelaxanzien – aus jeder chemischen Gruppe drei Substanzen – untersucht. Der Steroidgruppe sind die

mittellang wirksamen Substanzen Vecuronium und Rocuronium sowie das lang wirksame Pancuronium zuzuordnen ; der Benzylisochinolingruppe gehören das kurz wirksame Mivacurium sowie die mittellang wirksamen Substanzen Atracurium und Cisatracurium an (s.a. Kapitel 3.) [38, 88].

Trotz der grundsätzlich gleichen Wirkweise der untersuchten Substanzen gibt es zwischen diesen Muskelrelaxanzien auch innerhalb der chemischen Gruppen sowohl in pharmakokinetischer als auch in pharmakodynamischer Hinsicht einige Unterschiede [38, 88, 101]. Diese Unterschiede ergeben sich etwa bei Alter und Geschlecht [75, 76, 84, 95], beim Ausmaß an Vorerkrankungen und Allgemeinzustand [8, 20, 28, 29, 33, 50, 87, 105], aber auch beim Einfluss auf das sympathische und parasympathische Nervensystem und das Kreislaufverhalten [38, 78, 88, 105], bei der Elimination, beim Verteilungsvolumen, bei den Abbauwegen und Abbauprodukten, bei der Metabolisierung und bei der Liberation von Histamin [38, 72, 88, 101].

1.2. Das Immunsystem

Der Sinn der Immunantwort unseres Körpers besteht darin, uns vor dem Eindringen von Mikroorganismen zu schützen [32, 55, 116]. Grundsätzlich unterscheidet man zwischen der sogenannten angeborenen unspezifischen Immunität, welche mit einer Resistenz gegenüber bestimmten Infektionen ohne vorherigen Kontakt mit dem Erreger einhergeht, und der erworbenen spezifischen Immunität, bei der sich nach einem ersten prägenden Kontakt mit dem Antigen ein spezifischer Antikörper entwickelt [107]. Beide Abwehrsysteme lassen sich in humorale und zelluläre Immunmechanismen unterteilen [107].

Die erworbene spezifische Immunität wird von B- und T- Lymphozyten sowie von Plasmazellen vermittelt. In der Folge einer koordinierten Immunantwort kommt es durch adaptive Prozesse zur Entwicklung einer Spezifität gegen Makromoleküle und zu einem immunologischen Gedächtnis bei wiederkehrender Infektion mit dem gleichen Erreger [76].

B- Lymphozyten entwickeln bei Antigenkontakt mit membrangebundenen Immunglobulin (Ig)- Rezeptoren einen B- Lymphozyten- Antigen- Rezeptorkomplex, der über verschiedene Signalkaskaden die Aktivierung von Transskriptionsfaktoren, wie z.B. Nuclear factor kappa B (NF- κ B), Nuclear factor of activated T- cells (NF-AT) und Activator protein 1 (AP-1), induziert. Hieraus folgt eine Genexpression mit resultierender funktioneller Aktivierung der B- Lymphozyten. Diese aktivierten B- Lymphozyten haben Antikörpermoleküle als spezifische Adaptoren zur Bindung von Mikroorganismen. Sie sind jeweils auf die Produktion von nur einer Antikörperspezifität programmiert und entwickeln nach Antigenbindung durch klonale Proliferation sowohl die Antikörper produzierenden Plasmazellen als auch Gedächtniszellen, die die Immunität bei Zweitexposition gewährleisten. Diese spezifischen Antikörper vermitteln die humorale Immunität [76, 107].

T- Lymphozyten werden ebensodurch Kontakt mit einem Antigen programmiert, aktiviert und durch klonale Proliferation vermehrt. Sie sind allerdings in der Lage, ausschließlich Antigene mit Peptidcharakter als Oberflächenmoleküle des sogenannten Major histocompatibility complex (MHC) zu erkennen und so eine

spezifische zellvermittelte Immunantwort auszulösen. T- Lymphozyten haben Oberflächenrezeptoren, die sowohl das entsprechende Antigen als auch die körpereigene Antigen- präsentierende Zelle (Makrophagen) über die MHC- Proteine erkennen (s. a. Kapitel 4.1.). In der Folge kommt es zur Vermehrung des T- Zellklons und zur Bildung von T- Effektorzellen und Gedächtniszellen. Die T- Effektorzellen bewirken die Elimination des Antigens. Durch weitere Proliferation kommt es zur Bildung weiterer Subtypen ; diese sind die T- Killerzellen oder zytotoxischen T- Lymphozyten, die die Zerstörung von virusinfizierten Zellen oder auch die Tumorabwehr vermitteln. Die Bildung von T- Helferzellen fördert die Reifung von antigenstimulierten B- und T- Lymphozyten. Die antigenspezifischen langlebigen T- Suppressorzellen hemmen T- Helferzellen und Gedächtniszellen. T- Lymphozyten sind auf die Abwehr intrazellulärer Infektionen spezialisiert [76, 107]. Die antigenstimulierten aktivierten B- und T- Lymphozyten vermitteln die zelluläre Immunität [76, 107].

Die angeborene unspezifische Immunität beinhaltet eine Reihe unspezifischer antimikrobieller Systeme, die als Schutzmechanismen gegen Infektionen agieren und interagieren.

Die hauptsächliche Verteidigungslinie ist die Haut, die in unverletztem Zustand für die meisten Erreger undurchlässig ist. Hierzu zählen im weiteren Sinne auch die Schleimhäute der inneren Oberflächen des Körpers, deren Sekrete als Schutzschicht wirken [55, 107].

Als weiteres Prinzip gilt der sog. mikrobielle Antagonismus der normalen Bakterienflora des Körpers [55, 107].

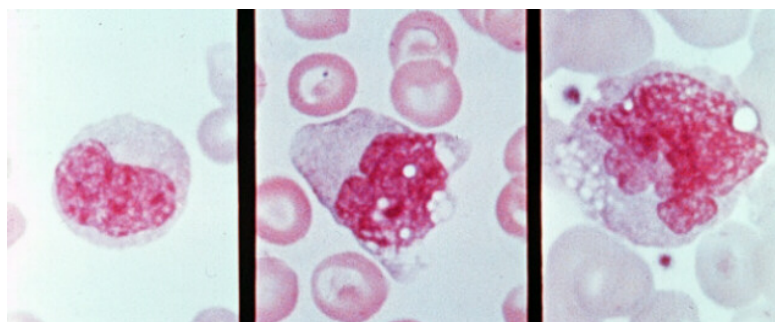
Nach dem Eindringen von Mikroorganismen existieren zwei Abwehrstrategien, zum einen die zerstörerische Wirkung löslicher chemischer Substanzen nach Aktivierung des Komplementsystems als humorale Komponente, zum anderen die Phagozytose durch polymorphkernige neutrophile Granulozyten und mononukleäre Makrophagen als zelluläre Komponente [55, 71, 107].

Phagozytose ist eine der wichtigsten Funktionen von Monozyten und Makrophagen und ist definiert als Vorgang der Vereinnahmung und Ingestion korpuskulärer Partikel

[71, 116]. Der Vorgang der Monozytenaktivierung zur Elimination von Bakterien am Entzündungsort kann in sieben Schritte unterteilt werden [107, 116] :

- Chemotaxis (gerichtete Bewegung der Phagozyten entlang eines Konzentrationsgradienten von Mediatoren)
- Adhärenz (Anhaften des Mikroorganismus an die Oberfläche des Phagozyten)
- Membranaktivierung (Beginn der Aufnahmephase)
- Phagozytose (Einschließen und Umschließen des Mikroorganismus durch Zytoplasmaausläufer, sog. Pseudopodien, des Phagozyten)
- Phagosombbildung (Vereinnahmung des Mikroorganismus in einer Vakuole)
- Fusion (Verschmelzung der Vakuole mit Lysosomen im Zytoplasma des Phagozyten)
- Abtötung und Verdauung
- Freisetzung der Abbauprodukte

Monozyten und Makrophagen wurden vor über 100 Jahren von dem russischen Zoologen Eli Metchnikoff entdeckt. Er beschrieb auch erstmals den Vorgang der Phagozytose, prägte den entsprechenden Terminus und demonstrierte die Zelltypen, welche zur Phagozytose und zur Chemotaxis befähigt waren, nämlich polymorphkernige neutrophile Granulozyten, Monozyten und Makrophagen [32, 107, 116].



Bildnachweis : <http://image.bloodline.net/ImageID4303-060>

Abbildung 01 :

Die Abbildung zeigt menschliche Monozyten im peripheren Blutstrom. Nach ihrer Reifung im Knochenmark treten sie für acht bis zehn Stunden ins Blut über und repräsentieren drei bis fünf Prozent der zirkulierenden weißen Blutzellen. Ihre typische Form mit den großen, ovalen, nieren- bis hufeisenförmigen Zellkernen ist gut erkennbar. Die fein granulierte Textur des Zytoplasmas ist Ausdruck des hohen Anteil an lysosomalem Material und der Mitochondrien. Auch einzelne Pino- und Phagozytosevesikel sind sichtbar [107, 116].

Während einer Entzündung steigt die Monozytenproduktion, stimuliert durch verschiedene humorale Mediatoren, wie dem Factor increasing monocytopoiesis (FIM), und es kommt zur Migration der Monozyten aus dem Blutstrom an den Ort der Entzündung, wo sie zu Makrophagen differenzieren und ihre Phagozytoseaktivität aufnehmen [107, 116]. Die Abwehrreaktion beginnt mit der Adhäsion an der Gefäßwand, gefolgt von der Diapedese durch die Gefäßwand aufgrund einer unter anderem durch Komplement vermittelten gesteigerten Gefäßpermeabilität. Angezogen von chemotaktischen Substanzen bewegen sich die Monozyten amöboid auf den Infektionsherd zu [55, 107, 116]. Die Migration der Monozyten wird von verschiedenen inflammatorischen Mediatoren beeinflusst [57, 71]. Monozyten und Makrophagen verfügen auch selbst auf ihrer Oberfläche über eine Anzahl von Rezeptoren und sind zur Antigenpräsentation befähigt. In der Folge werden eine Reihe von immunologischen Prozessen in Gang gesetzt, die eine wichtige Rolle bei der Antikörperproduktion spielen (s.a. Kapitel 4.1.) [68, 107, 116].

Das Komplementsystem, eine Gruppe von Proteinen, die eine der Enzymkaskaden des Blutplasmas bilden, wird im Verlauf einer Entzündungsreaktion unter anderem durch Bakterien aktiviert. Hierdurch kommt es zu einer Gefäßerweiterung und gesteigerten Gefäßpermeabilität, zur Exsudation von Komplementfragmenten und zur Bindung von C3b an das Bakterium, zur Freisetzung von Mediatoren aus Makrophagen und Mastzellen durch C3a und C5a mit entsprechender Wirkung auf Kapillardilatation und Exsudation von Plasmaproteinen sowie chemotaktischer Anziehungskraft auf polymorphkernige Granulozyten und Monozyten [71, 107]. Durch die sogenannte Opsonierung, an der auch die Immunglobuline IgG und IgM beteiligt sind, kommt es zu einer gesteigerten Phagozytoseaktivität [71, 107, 116].

Bei operativen Eingriffen wird meist die Haut als erste Verteidigungslinie unseres Immunsystems verletzt, oder es ist bereits im Vorfeld zu einer Traumatisierung gekommen, die einen korrigierenden oder therapeutischen operativen Eingriff notwendig macht. Auf diese Weise und auch perioperativ kann es zum Eindringen von Fremdkörpern und Mikroorganismen kommen, denen sich dann unser Phagozytosesystem als primär unspezifische Abwehr entgegenstellt [107].

Gleichzeitig kommt es durch chirurgischen Stress und Trauma zu einer Immunsuppression und zu einer Verminderung der Monozytenfunktion in der frühen postoperativen Phase, die mit dem vermehrten Auftreten infektiöser Komplikationen einhergehen kann [113a, 118a].

1.3. Chemotaxis und Chemokinese

Chemotaxis bezeichnet die gezielte, in der Richtung determinierte Bewegung von Zellen durch chemische Reize entlang eines Konzentrationsgradienten [58, 112, 116].

Im Blut zirkulierende Monozyten werden durch chemotaktische Lockstoffe, sog. Zytotaxine oder Chemotaxine, direkt angelockt und wandern durch amöboide Migration in das Gewebe ein [89, 112]. Eine chemotaktische Wirkung ist sowohl für endogene als auch für exogene Stoffe nachgewiesen, u.a. für Sekretionsprodukte von Lymphozyten und Mastzellen, für Lymphokine, für verschiedene Komponenten des Komplementsystems, zum Beispiel C3a und C5a, für Interleukin-8 (IL-8), Leukotrien B-4 (LTB-4), Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), Transforming growth factor beta (TGF- β), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), 12-hydroxyeicosatetranoic acid (12-HETE) und Human chorionic gonadotropin (β -hCG), für Produkte geschädigter Zellen, für Formylpeptide von Bakterien, zum Beispiel Formyl-Methionyl-Phenylalanin (fMP) und Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (fMLP), für Bakterientoxine und Tuberkuloproteine [67, 79, 89, 106, 107, 112, 116].

Auch zahlreiche Mediatoren beeinflussen die Motilität sowohl von Monozyten als auch von Granulozyten und Lymphozyten, lösen aber lediglich eine gesteigerte Aktivität mit ungezielter Bewegung aus. Dieser Vorgang wird Chemokinese genannt [58, 107, 116].

Die Tatsache, dass die Chemotaxis für die Funktionalität der Monozyten von großer Bedeutung ist, berechtigt zu der Annahme, dass perioperativ eingesetzte Medikamente, wie die nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien, das perioperative Infektionsrisiko beeinflussen, sofern sie den Vorgang der Chemotaxis modulieren.

1.4. Fragestellung

Monozyten sind von großer immunologischer Bedeutung. In dieser Arbeit wird der Einfluss von nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien auf das chemotaktische Verhalten dieser Zellen *in vitro* untersucht und dargestellt.

Die folgenden Substanzen wurden in unseren Testreihen verwendet :

- Atracurium (Tracrium)
- Cisatracurium (Nimbex)
- Mivacurium (Mivacron)

- Pancuronium (Pancuronium)
- Vecuronium (Norcuron)
- Rocuronium (Esmeron)

Das Ziel war die Identifizierung solcher Substanzen, die eine Suppression bzw. Steigerung der Chemotaxis von menschlichen Monozyten *in vitro* zur Folge haben und dadurch eine mögliche Beeinflussung der körpereigenen Immunabwehr verursachen.

2. Methodik

Zur Quantifizierung der Monozytenchemotaxis bedienen wir uns der von Boyden entwickelten Methode [11]. Dabei wird die zielgerichtete Bewegung von Monozyten unter dem Einfluss der in Kapitel 2.17. genannten Medikamente durch die Stimulation eines Lockstoffs augmentiert.

Wir verwendeten eine 48-Well – Chemotaxis – Chamber (Neuroprobe Chamber, s. Kapitel 2.2.), die aus einem unteren und einem oberen Kammerteil mit zwischengelagerter Silikondichtung besteht [B13].

Der untere Teil der Kammer wird mit dem chemotaktischen Lockstoff, in unserem Fall N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (fMLP) [A13], gefüllt ; im oberen Teil befinden sich das zu testende Medikament (Muskelrelaxantien) [A07, A12, A14, A15, A16, A17] und die zu untersuchenden Zellen (Blutmonozyten). Dazwischen wird ein Polyvinylpyrrolidone (PVP)-freier Polycarbonfilter gelagert [B09], der eine Dicke von 10 µm und eine Porengröße von 5 µm hat (s. Kapitel 4.2.). Die durch den Reiz des Chemotaxins angelockten Monozyten wandern in den Filter ein und werden nach Fixierung und Färbung (s. Kapitel 2.15.) unter dem Lichtmikroskop [B14] quantifiziert [79, 95, 107, 129].

In jedem Versuch wird eine Leerwertmessung mit NaCl 0,9% [A10] und eine Kontrollmessung mit fMLP 10^{-8} molar [A13] durchgeführt (s. Kapitel 2.4.). Falls die Monozytenchemotaxis durch das untersuchte Medikament beeinflusst wird, verändert sich die Menge der in den Filter eingewanderten Zellen in Relation zum Leerwert und zur Kontrolle.

Als chemotaktischer Lockstoff wird fMLP verwendet, das vom Hersteller in einer 10^{-3} molaren Lösung geliefert wird [A13]. Diese wird aufsteigend auf eine Konzentration von 10^{-8} molar verdünnt, also auf die Konzentration des Lockstoffs, bei der das Wirkmaximum liegt (s. Kapitel 2.6.) [67, 68, 79, 81, 95, 119, 120].

2.1. Die Checkerboard – Analyse

Die Bewegung von Monozyten kann sowohl unwillkürlich als auch gerichtet erfolgen (s.a. Kapitel 1.3.) [58].

Die Checkerboard – Analyse dient dem Nachweis der Chemotaxis, also der gezielten Bewegung der Monozyten entlang eines Konzentrationsgradienten in Richtung eines chemotaktischen Lockstoffs [A13], (s.a. Kapitel 4.4.), [119, 120].

Entsprechend der Angaben von Zigmond und Hirsch erfolgte die Befüllung erst des unteren Anteils und, nach Auflegen des PVP- freien Polycarbonfilters [B09], auch des oberen Anteils der Neuroprobe Chamber [B13] mit dem von uns verwendeten Lockstoff fMLP [A13] in einer 10^{-8} molaren Lösung nach einem festgelegten Verdünnungsschema (s.u. Tab. 01, s.a. Anhang, Tabs. 02, 03) [132, 133]. Anschließend wurden in den oberen Anteil der Kammer (Neuroprobe Chamber [B13]) die Monozyten zugegeben (s.a. Kapitel 2.13.). Die Analyse wurde in doppelter Testung durchgeführt (s.a. Anhang, Tab. 2).

Nach Inkubation der Kammer (s.a. Kapitel 2.14.) und anschließender Fixierung und Färbung der Filter (s.a. Kapitel 2.15.) konnten die Monozyten im Strahlengang eines Lichtmikroskops ausgezählt werden (s.a. Kapitel 2.16.).

Checkerboard - Analyse (Mittelwerte)

Konzentration des Lockstoffs oberhalb des Filters	Konzentration des Lockstoffs unterhalb des Filters									
	VVR 01					VVR 02				
	0	0,25	0,5	1		0	0,25	0,5	1	
0	36,20	99,50	166,50	192,50		34,25	100,75	159,75	196,75	
0,25	30,50	34,00	84,50	123,00		29,75	36,25	89,25	125,75	
0,5	31,50	34,50	31,00	78,00		37,50	39,75	35,50	82,50	
1	30,50	29,50	32,00	32,00		31,75	33,25	35,75	32,50	

Tabelle 01 :

Die Tabelle zeigt die Mittelwerte der Checkerboard – Analyse bei doppelter Testung. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF ; bei den **blau** markierten Werten handelt es sich um eine Migration mit positivem Gradienten (s.a. Kapitel 7.2.2.)

HPF = High Power Field

VVR = Vorversuchsreihe

2.2. Die Neuroprobe – Chamber

Zur Bestimmung der *In- vitro*- Chemotaxis und auch der *In- vitro*- Chemokinese kommt eine Plexiglaskammer, die sog. Neuroprobe Chamber [B13], auch Modified Boyden Chamber oder 48-Well-Chemotaxis Chamber genannt, zur Anwendung [79]. Sie wird am häufigsten eingesetzt und ermöglicht eine quantitative Messung von Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten [79]. Die Kammer besteht im unteren Teil aus 48 Vertiefungen mit je 25 µl Volumen und im oberen Teil aus 48 Vertiefungen mit je 50 µl Volumen, dazwischen befindet sich eine Silikondichtung [79].

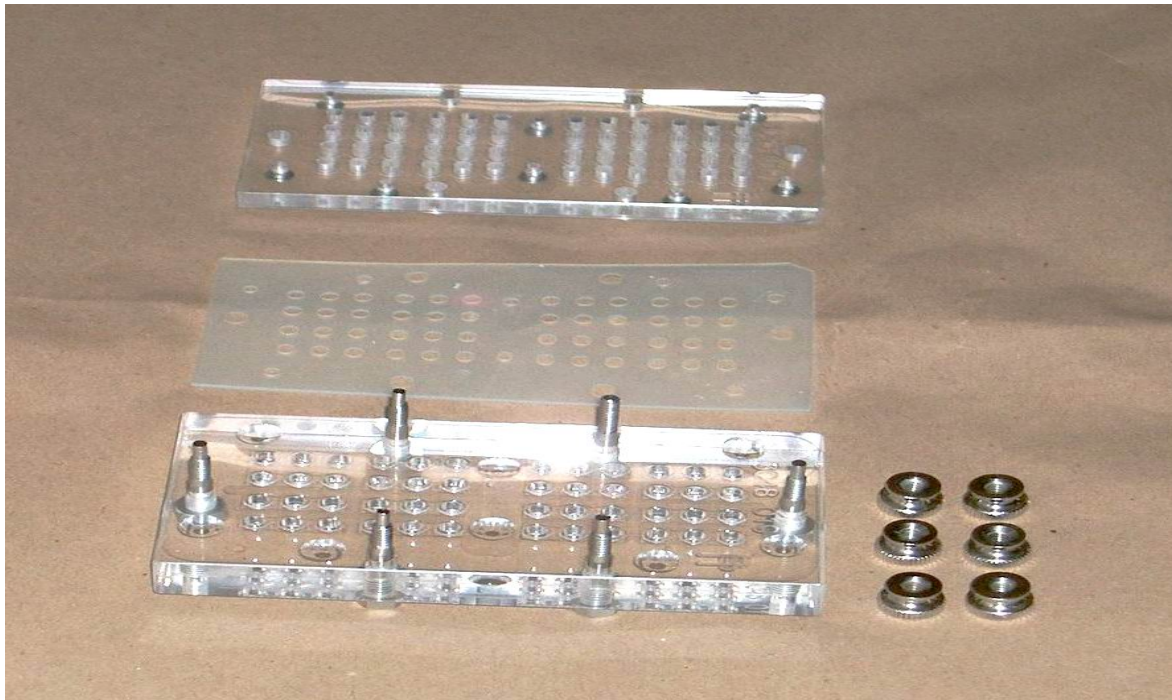


Abbildung 02 :

Die Abbildung zeigt die zerlegte 48-Well-Chemotaxis Chamber (syn.: Neuroprobe Chamber oder Modyfied Boyden Chamber) mit ihrem oberen und unteren Anteil, der Silikondichtung und dem Mechanismus zur Verschraubung [B13].

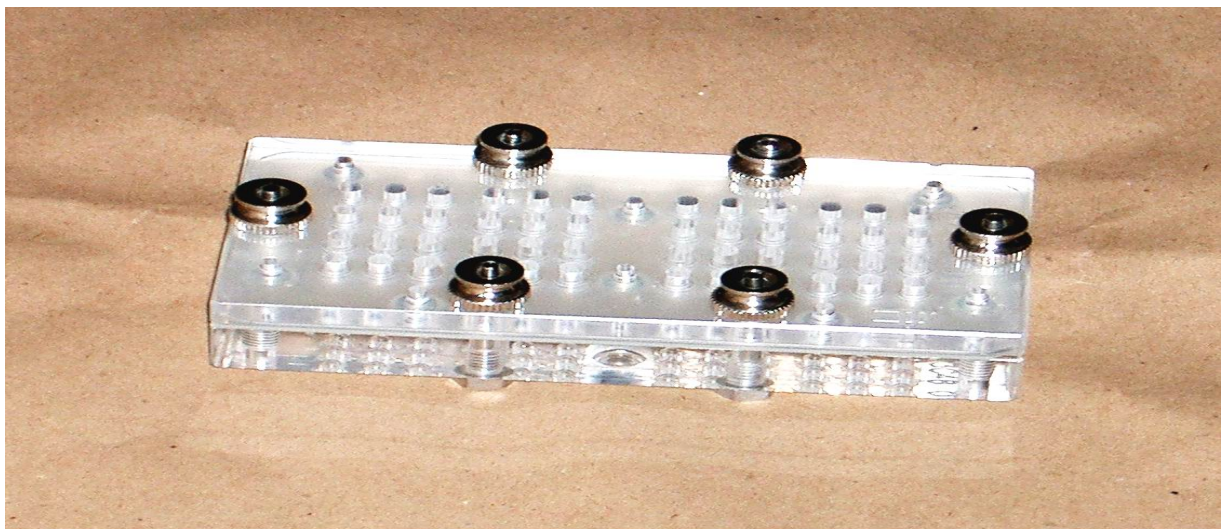


Abbildung 03 :

Die Abbildung zeigt die verschraubte 48-Well-Chemotaxis Chamber (syn.: Neuroprobe Chamber oder Modyfied Boyden Chamber) mit ihrem oberen und unteren Anteil und dem Mechanismus zur Verschraubung [B13].

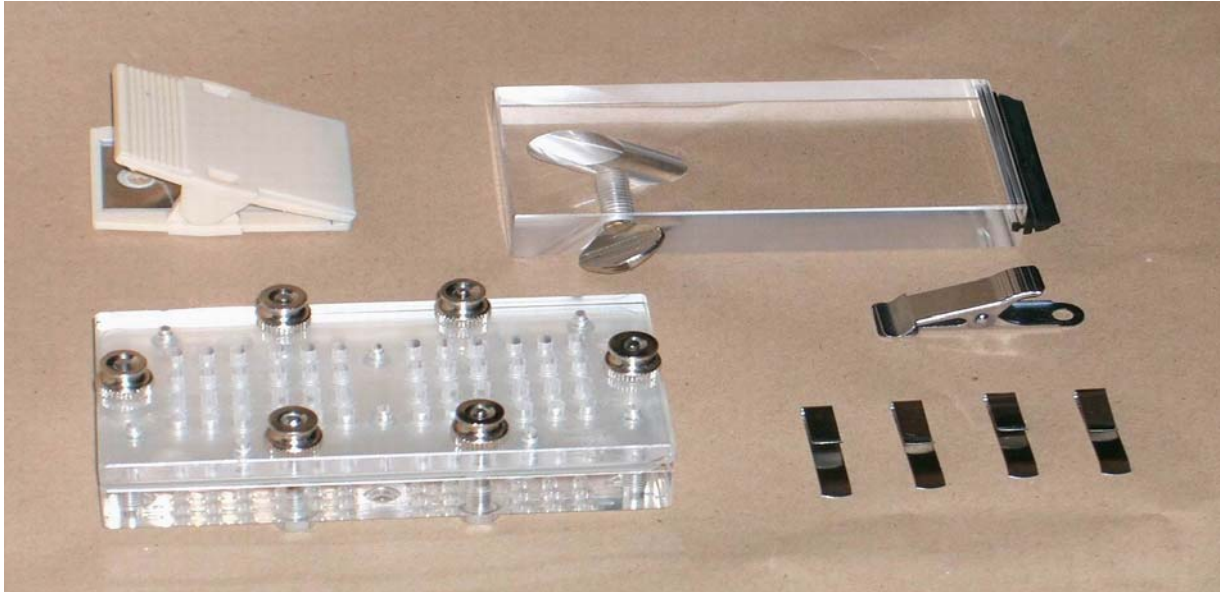


Abbildung 04 :

Die Abbildung zeigt die verschraubte 48-Well-Chemotaxis Chamber (syn.: Neuroprobe Chamber oder Modified Boyden Chamber) mit ihrem Zubehör, dem „Wiper“, der großen und der kleinen „Filter clamp“ und den vier „Filter clips“ [B13].

2.3. Die Neubauer – Zählkammer

Zur Bestimmung der Zellreinheit (s. Kapitel 2.10.) und zur Auszählung der in den Filter eingewanderten Monozyten (s. Kapitel 2.16.) wurde eine Neubauer Zählkammer [B15] verwendet. Legt man die Neubauer Zählkammer [B15] unter ein Lichtmikroskop [B14], so erkennt man im Strahlengang vier gleiche Quadranten, die wiederum in sechzehn gleichgroße Quadrate unterteilt sind. Von diesen werden pro Quadrant fünf Quadrate (sog. High Power Fields, HPF) bei einer vierzigfachen Vergrößerung standardisiert ausgezählt. Um die mehrfache Zählung einzelner Zellen auf den Begrenzungslinien zu vermeiden, werden pro HPF jeweils die Zellen auf der oberen horizontalen und auf der rechten vertikalen Linie gezählt.

2.4. Die Versuchsanordnung

In der folgenden Abbildung wird die Anordnung der einzelnen Medikamente im oberen Teil der Neuroprobe Chamber [B13] gezeigt. Die Medikamente gehören alle zur Stoffklasse der nichtdepolarisierenden Muskelrelaxantien [39 – 44], in der zwei Gruppen unterschieden werden :

- Atracurium [A17]
- Cisatracurium [A14]
- Mivacurium [A12]

gehören zur Gruppe der Benzylisochinoline [40, 41, 44, 88].

- Pancuronium [A16]
- Vecuronium [A15]
- Rocuronium [A07]

gehören zur Gruppe der Aminosteroide [39, 42, 43, 88].

Atracurium Hoch 80,0 µg/ml	Cisatracurium Hoch 15,0 µg/ml	Mivacurium Hoch 12,0 µg/ml	Pancuronium Hoch 22,0 µg/ml	Vecuronium Hoch 14,0 µg/ml	Rocuronium Hoch 110 µg/ml
Atracurium Mittel 8,00 µg/ml	Cisatracurium Mittel 1,50 µg/ml	Mivacurium Mittel 1,20 µg/ml	Pancuronium Mittel 2,20 µg/ml	Vecuronium Mittel 1,40 µg/ml	Rocuronium Mittel 11,0 µg/ml
Atracurium Niedrig 0,80 µg/ml	Cisatracurium Niedrig 0,15 mg/ml	Mivacurium Niedrig 0,12 µg/ml	Pancuronium Niedrig 0,22 µg/ml	Vecuronium Niedrig 0,14 µg/ml	Rocuronium Niedrig 1,10 µg/ml
NaCl 0,9%	Leer	Leer	fMLP 10 ⁻⁸	Leer	Leer

Tabelle 02 :

In der Tabelle wird die Verteilung der Medikamente in der Neuroprobe – Chamber jeweils in ihren hohen, mittleren und niedrigen Konzentrationen (s. Kapitel 2.17.), des Natriumchlorids als Leerwert und des Lockstoffs als Kontrolle dargestellt. Alle Medikamente wurden in den jeweiligen Konzentrationen doppelt getestet.

2.5. Die Verdünnung der Medikamente

Die Blutplasmaspiegel der einzelnen Muskelrelaxantien, welche einer therapeutisch wirksamen Dosis entsprechen, wurden den in Kapitel 2.17. angegebenen Publikationen entnommen ; sie wurden, soweit erforderlich, in Mikrogramm (μg) umgerechnet. Die Konzentration der Medikamente in Milligramm pro Milliliter (mg/ml) wurde den jeweiligen Herstellerangaben [39 – 44] entnommen und entsprechend umgerechnet (s. Anhang: Formel 05), um in unserer *In- vitro*- Versuchsanordnung realistische Wirkstoffspiegel testen zu können.

Die in unseren Versuchen verwendete mittlere Konzentration entspricht dabei den gemessenen Blutplasmaspiegeln des jeweiligen Medikaments. Die hohe Konzentration unserer Testung wurde eine Zehnerpotenz über der mittleren Konzentration gewählt, die niedrige Konzentration eine Zehnerpotenz unter der mittleren Konzentration [67, 68]. Auf diese Weise werden Situationen berücksichtigt, die im Organismus durch eine beschleunigte oder verzögerte Metabolisierung auftreten können.

2.6. Die Zubereitung der Lösungen

Die meisten der für unsere Zwecke benötigten Lösungen konnten gebrauchsfertig von den jeweiligen Herstellern bezogen werden (s. Kapitel 6.2.). Die anderen wurden wie folgend beschrieben selbst hergestellt.

<u>DMEM – BSA Gemisch :</u>	50 ml DMEM (Dulbecco's modified eagles medium) [A05] wird 10 mg BSA (bovines Serumalbumin) [A01] beigemischt, so dass eine Lösung mit 0,2 mg BSA pro ml DMEM entsteht [79, 95].
<u>fMLP :</u>	10 mg fMLP [A13] werden mit 22,85 ml DMEM [A05] vermischt, so dass eine 10^{-3} molare Lösung entsteht. Diese wird durch Zugabe von DMEM [A05] schrittweise auf eine 10^{-8} molare Lösung verdünnt [79].
<u>Heparin :</u>	0,2 ml Heparin (1.000 I.E.) [A09], mit einer Omnifix – Spritze [B17] entnommen, werden mit 9,8 ml isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) [A10] vermischt, so dass eine Konzentration von 100 I.E. Heparin [A09] pro Milliliter Lösung entsteht [12, 81].

Die Zubereitung der einzelnen Lösungen erfolgte in einer Laminar – Flow Anlage [B10] unter sterilen Bedingungen. Die Gewichtsangaben wurden mit einer Präzisionswaage [B20] ermittelt.

2.7. Die Probanden

Die Ethik – Kommission der Justus – Liebig – Universität Giessen hat erklärt, dass die zur Durchführung dieser Studie erforderlichen Untersuchungen nicht in ihren Zuständigkeitsbereich fallen und eine Zustimmung insofern nicht erforderlich ist.

Alle Probanden wurden am Nachmittag vor der geplanten Blutabnahme über deren Zweck als Untersuchungsmaterial einer Studie und über deren mögliche Risiken anhand eines hierfür erstellten Aufklärungsbogens ausführlich informiert und erklärten ihr schriftliches Einverständnis (s. Anhang : 7.4. Aufklärungsbogen und Einverständniserklärung der Probanden).

Um möglichst uniforme Versuchsbedingungen zu schaffen, wurden die einzelnen Versuche mit dem gleichen Probandenkollektiv durchgeführt. Die Blutentnahmen erfolgten an 20 männlichen Freiwilligen, die regelmäßig weder Tabakwaren noch Alkohol konsumieren und zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung mindestens sechs bis acht Stunden nüchtern waren, keine Medikamente einnahmen, keine Allergien hatten und weder akut noch chronisch erkrankt waren. Sie waren zwischen 25 und 42 Jahren alt, von durchschnittlicher Körpergröße und normalem Körpergewicht (s. Anhang : Tabelle 01, Probandendaten).

2.8. Die Blutentnahme

Jedem Probanden wurde unmittelbar vor Versuchsbeginn 10 ml venöses Blut entnommen. Die Entnahme erfolgte jeweils nach gründlicher Sprüh- und Wischdesinfektion der Haut mit Cutasept F [A08] und sterilen Tupfern [B16] aus der Ellenbeugenvene des Spenders mittels einer Butterfly-Kanüle [B22]. Die Gerinnung des Blutes wurde durch Gabe von 100 I.E. Heparin [A09] (s.a. Kapitel 2.6.), entsprechend 10 I.E. Heparin [A09] pro ml Blut, in die 10 ml Spritze [B06] direkt vor der Blutentnahme verhindert [12, 81, 115].

2.9. Die Zellisolation

Die Isolation von mononukleären Zellen wurde 1968 von Böyum beschrieben [12]. Er zeigte, dass Blutbestandteile in Verbindung mit einer Trägerlösung durch Zentrifugation und Sedimentation anhand ihres Dichtegradienten in unterschiedliche Fraktionen getrennt werden können.

Als Trägerlösung haben wir Lymphoprep [A11] verwendet, eine Hypaque – Ficoll Mischung mit einem spezifischen Gewicht von 1077 g/ml und einer relativen Osmolalität von 280 mosm.

In zwei sterile Black – Cap Röhrchen [B01] wurde je 2 ml Lymphoprep gefüllt. Das heparinisierte Probandenblut wurde mit 5 ml Phosphat gepufferter Kochsalzlösung (Phosphate Buffered Saline, PBS) [A06] verdünnt. Anschließend wurden je 8 ml der Blutsuspension vorsichtig auf das Lymphoprep [A11] geschichtet, wobei eine Vermischung von Blut und Trägersubstanz vermieden wurde [12, 18, 115]. Durch Zentrifugation beider Röhrchen (400 g, 30 min., Raumtemperatur) resultierte eine Trennung der einzelnen Blutbestandteile [B24]. In der Zellmasse am Boden des Röhrchens befanden sich Erythrozyten, Granulozyten und Thrombozyten als Sediment, auf dem das Plasma stand [79]. Innerhalb des Plasmas ließ sich ungefähr mittig ein milchiger, ca. 2 mm dicker Ring abgrenzen, in dem sich die Monozyten sowie Lymphozyten und ein geringer Anteil an Granulozyten befanden [49, 79].

Der milchige Ring wurde mit sterilen Transferpipetten [B18, B19] abgesaugt und in ein steriles Black – Cap Röhrchen [B01] gegeben. Nach Resuspension mit 6 ml PBS [A06] wurden die Röhrchen erneut zentrifugiert (400 g, 10 min., Raumtemperatur) [B24]. Der Überstand wurde von den sedimentierten Zellen abgegossen, das Sediment erneut mit 6 ml PBS [A06] resuspendiert und wie vorher zentrifugiert [B24]. Anschließend wurde der Überstand erneut abgegossen und dem verbleibenden Sediment exakt 1 ml DMEM – BSA Gemisch [A01, A05] (s.a. Kapitel 2.6.) zugegeben. Es wurden jeweils zwei Suspensionen aus dem Blut eines jeden Probanden hergestellt.

2.10. Die Zellreinheit

Die Reinheit der Zellsuspension wurde mittels Durchflusszytometrie mit einem Cell-Dyn 3500 Differenzial- Blutbild Messgerät [B02] für jeden Ansatz (insgesamt n = 40 Versuche) in zwei Vorversuchsreihen (VVR 01, n = 20 und VVR 02, n = 20) bestimmt. Es ergaben sich im Mittel Anteile von 9,32 % bzw. 9,78 % Monozyten, 19,80 % bzw. 18,00 % Granulozyten und 70,23 % bzw. 72,75 % Lymphozyten (s.u. Tab. 03, s.a. Anhang, Tabs. 04, 05, 06).

Mittelwerte : Zellzählung

	Prozent Monozyten	Prozent Granulozyten	Prozent Lymphozyten	Prozent mononukleäre Zellen
VVR 01 :				
Mittelwert	9,32	19,80	70,23	79,55
Std.Dev.	4,55	14,36	15,38	16,05
VVR 02 :				
Mittelwert	9,78	18,00	72,75	82,53
Std.Dev.	4,61	11,62	12,94	11,95

Tabelle 03 :

Die Tabelle zeigt die entsprechenden statistischen Mittelwerte und die Standardabweichungen der prozentualen Anteile der Monozyten, Granulozyten und Lymphozyten an der Gesamtzahl der mononukleären Zellen in der ersten und der zweiten Versuchsreihe.

VVR = Vorversuchsreihe

Std.Dev. = Standardabweichung

2.11. Die Zellvitalität

Nach den Angaben von Martinet, Vignaud und Plenat wurde die Vitalität der Monozyten bestimmt [79]. Pro Versuchsreihe wurde je ein Black – Cap Röhrchen [B01] mit 20 µl Trypan – Blau Lösung [A18] und mit 200 µl Türck'scher Lösung [A19] beschickt und anschließend mit 50 µl Zellsuspension vermischt. Die Röhrchen wurden zehn Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert, danach wurde aus den jeweiligen Röhrchen unter mehrmaliger Resuspension 2 µl Gemisch mittels Transferpipette [B23] entnommen und unter ein Deckglass [B11] auf die Neubauer Zählkammer [B15] pipettiert. Die mononukleären Zellen wurden im Strahlengang des Lichtmikroskops bei vierzigfacher Objektivvergrößerung und zehnfacher Okkularvergrößerung [B14], wie in Kapitel 2.16. beschrieben, quantifiziert (s. Anhang, Tabs. 10, 11).

Die Suspension in der Trypan – Blau Lösung [A18] diente dem sog. Trypanblau – Exklusionstest. Aus den jeweiligen Mittelwerten der ausgezählten Zellen wurde die Anzahl der avitalen Zellen pro Milliliter Zellsuspension berechnet (s. Anhang, Tabs. 12, 13 ; Formel 01) [67, 68, 79] .

Mit der Suspension in der Türck'schen Lösung [A19] wurde ebenso verfahren und die jeweiligen Mittelwerte nach Angabe derselben Autoren zur Berechnung der Gesamtzahl der mononukleären Zellen pro Milliliter Zellsuspension herangezogen (s. Anhang, Tabs. 12, 13 ; Formel 02) [79].

Der Quotient beider Werte ergab den prozentualen Anteil toter Zellen an der Gesamtzahl mononukleärer Zellen (s. Anhang, Tabs. 12, 13 ; Formel 03).

Im Rahmen unserer Versuche zeigten sich für die erste bzw. die zweite Versuchsreihe Werte von 1,43 % (s. Anhang, Tab. 12) bzw. 1,21 % (s. Anhang, Tab. 13) avitaler mononukleärer Zellen, was eine Zellvitalität von 98,57 % bzw. 98,79 % ergab.

Für den Erhalt relevanter Ergebnisse war eine Zellvitalität von mindestens 90 % notwendig [79].

2.12. Die Verdünnung der Zellsuspension

Um homogene Zellmengen zu erhalten, wurden die einzelnen Suspensionen der mononukleären Zellen mit DMEM – BSA Gemisch [A01, A05] soweit verdünnt, dass eine Millionen mononukleäre Zellen in einem Milliliter Lösung enthalten waren. Die notwendigen Verdünnungsmengen wurden mittels der Formel 04 (s. Anhang, Tabs. 12, 13 ; Formel 04) errechnet.

2.13. Die Befüllung der Neuroprobe Chamber

Die Kammer wurde mit dem chemotaktischen Lockstoff [A13], den zu testenden Medikamenten [A07, A12, A14, A15, A16, A17] und der Zellsuspension entsprechend der Versuchsanordnung in Kapitel 2.4. beschickt.

Die Vertiefungen des unteren Teils der Kammer, welche ein Fassungsvermögen von 25 µl haben (s.a. Kapitel 2.2.), wurden mit dem Lockstoff fMLP 10^{-8} molar [A13] gefüllt. Anschließend wurde der PVP- freie Polycarbonfilter [B09] aufgelegt und der obere Teil der Kammer angebracht [37, 115]. Die Vertiefungen des oberen Teils der Kammer, welche ein Fassungsvermögen von 50 µl haben (s.a. Kapitel 2.2.), wurden mit 5 µl des jeweiligen zu testenden Medikaments [A07, A12, A14, A15, A16, A17] und anschließend mit 45 µl der Zellsuspension (s.a. Kapitel 2.12.) gefüllt [37].

2.14. Die Inkubation der Neuroprobe Chamber

Nach konsekutiver Befüllung der Kammervertiefungen und anschließender Verschraubung der Kammerteile (s.a. Abb. 02, 03 ; Kapitel 2.2.) wurde die Neuroprobe – Chamber [B13] für 90 Minuten bei 37 Grad Celsius in einer Atmosphäre von 5 % Kohlendioxid inkubiert [B08], [67, 68, 79, 119].

2.15. Die Fixierung und Färbung der Filter

Nach der Inkubation der Kammer wurde der Filter zwischen den Kammerteilen nach Entriegelung der Verschraubung vorsichtig entnommen und anhand der Methode von Martinet, Vignaud und Plenat fixiert und eingefärbt [79]. Die Oberseite des Filters wurde zunächst von den dort anhaftenden Zellen durch Abstreifen am sog. Wiper [B13] befreit [48, 79]. Im Anschluss wurde der Filter zur Fixierung und Färbung nacheinander für jeweils 90 Sekunden in die Fixierlösung [A02], die Färbelösung I [A03] und die Färbelösung II [A04] eingetaucht. Abschließend wurde der Filter zum Auswaschen ungebundener Farbstoffreste hintereinander für jeweils 5 Sekunden in Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) [A10] und in destilliertem Wasser [A20] gespült. Danach wurde der fixierte und gefärbte Filter zum Trocknen auf einen Objektträger [B12] gelegt [67, 68].

2.16. Die Auswertung der Filter

Die Auswertung der Filter [B09] wurde im Strahlengang eines Lichtmikroskops bei vierzigfacher Objektivergrößerung und zehnfacher Okkularvergrößerung [B14] vorgenommen. In der Neubauerzählkammer [B15] wurden die bis auf die Unterseite des Filters [B09] eingewanderten Monozyten in fünf Sichtfeldern (high power fields – HPF) der jeweiligen Quadranten der Kammer, wie in Kapitel 2.3. beschrieben, ausgezählt [94,115].

2.17. Die getesteten Medikamente

2.17.1. Atracurium

Handelsname	TRACRIUM
Wirkstoff	Atracuriumbesilat
Wirkstoffkonzentration	10 mg Atracurium / ml Injektionslösung
Sonstige Bestandteile	Benzolsulphonsäure ; Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform	5 ml Injektionslösung je Ampulle
Hersteller	Glaxo Smith Kline GmbH & Co KG

Die angegebenen Daten beziehen sich auf die Gebrauchsinformation und Fachinformation der Firma Glaxo Smith Kline GmbH & Co KG (ehem. Glaxo Wellcome Zeneca) [44].

Die untersuchten Konzentrationen beziehen sich auf die Plasmaspiegel in µg/ml von Atracurium nach i.v. Injektion von 0,5 mg/kgKG bei gesunden Patienten [36]. Der ermittelte Plasmaspiegel wurde hier als mittlere Konzentration getestet.

Leerwert :	0,00 µg Atracurium / ml Testansatz
Niedrig :	0,80 µg Atracurium / ml Testansatz
Mittel :	8,00 µg Atracurium / ml Testansatz
Hoch :	80,0 µg Atracurium / ml Testansatz

2.17.2. Cisatracurium

Handelsname	NIMBEX
Wirkstoff	Cisatracuriumbesilat
Wirkstoffkonzentration	2 mg Cisatracurium / ml Injektionslösung
Sonstige Bestandteile	Benzolsulphonsäure ; Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform	5 ml Injektionslösung je Ampulle
Hersteller	Glaxo Smith Kline GmbH & Co KG

Die angegebenen Daten beziehen sich auf die Gebrauchsinformation und Fachinformation der Firma Glaxo Smith Kline GmbH & Co KG (ehem. Glaxo Wellcome Zeneca) [41]

Die untersuchten Konzentrationen beziehen sich auf die Plasmaspiegel in µg/ml von Cisatracurium nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kgKG bei gesunden Patienten der ASA-Klassifikationen I oder II [33, 61]. Der ermittelte Plasmaspiegel wurde hier als mittlere Konzentration getestet.

Leerwert :	0,00 µg Cisatracurium / ml Testansatz
Niedrig :	0,15 µg Cisatracurium / ml Testansatz
Mittel :	1,50 µg Cisatracurium / ml Testansatz
Hoch :	15,0 µg Cisatracurium / ml Testansatz

2.17.3. Mivacurium

Handelsname	MIVACRON
Wirkstoff	Mivacuriumchlorid
Wirkstoffkonzentration	2 mg Mivacurium / ml Injektionslösung
Sonstige Bestandteile	Salzsäure ; Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform	5 ml Injektionslösung je Ampulle
Hersteller	Glaxo Smith Kline GmbH & Co KG

Die angegebenen Daten beziehen sich auf die Gebrauchsinformation und Fachinformation der Firma Glaxo Smith Kline GmbH & Co KG (ehem. Glaxo Wellcome Zeneca) [40].

Die untersuchten Konzentrationen beziehen sich auf die Plasmaspiegel in µg/ml von Mivacurium nach i.v. Injektion von 0,15 mg/kgKG bei gesunden Patienten [19]. Der ermittelte Plasmaspiegel wurde hier als mittlere Konzentration getestet.

Leerwert :	0,00 µg Mivacurium / ml Testansatz
Niedrig :	0,12 µg Mivacurium / ml Testansatz
Mittel :	1,20 µg Mivacurium / ml Testansatz
Hoch :	12,0 µg Mivacurium / ml Testansatz

2.17.4. Pancuronium

Handelsname	PANCURONIUM 'ORGANON'
Wirkstoff	Pancuroniumbromid
Wirkstoffkonzentration	2 mg Pancuronium / ml Injektionslösung
Sonstige Bestandteile	Natriumacetat ; Natriumchlorid ; Essigsäure ; Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform	2 ml Injektionslösung je Ampulle
Hersteller	Organon Technika Medizinische Produkte GmbH

Die angegebenen Daten beziehen sich auf die Gebrauchsinformation und Fachinformation der Firma Organon Technika Medizinische Produkte GmbH [43].

Die untersuchten Konzentrationen beziehen sich auf die Plasmaspiegel in µg/ml nach i.v. Injektion von 8 mg Pancuronium bei nieren- und lebergesunden Patienten aus einer Untersuchung von Buzello [16]. Der ermittelte Plasmaspiegel wurde hier als mittlere Konzentration getestet.

Leerwert :	0,00 µg Pancuronium / ml Testansatz
Niedrig :	0,22 µg Pancuronium / ml Testansatz
Mittel :	2,20 µg Pancuronium / ml Testansatz
Hoch :	22,0 µg Pancuronium / ml Testansatz

2.17.5. Vecuronium

Handelsname	NORCURON
Wirkstoff	Vecuroniumbromid
Wirkstoffkonzentration	10 mg Vecuronium in 217 mg Trockensubstanz
Sonstige Bestandteile	Wasserfreie Citronensäure ; Mannitol ; Natriummonohydrogenphosphat
Darreichungsform	10 mg Trockensubstanz je Durchstechflasche
Hersteller	Organon Technika Medizinische Produkte GmbH

Die angegebenen Daten beziehen sich auf die Gebrauchsinformation und Fachinformation der Firma Organon Technika Medizinische Produkte GmbH [42].

Die untersuchten Konzentrationen beziehen sich auf die Plasmaspiegel in µg/ml Vecuronium nach i.v. Injektion von 0,08 - 0,12 mg/kgKG bei nieren- und lebergesunden Patienten [123]. Der ermittelte Plasmaspiegel wurde hier als mittlere Konzentration getestet.

Leerwert :	0,00 µg Vecuronium / ml Testansatz
Niedrig :	0,14 µg Vecuronium / ml Testansatz
Mittel :	1,40 µg Vecuronium / ml Testansatz
Hoch :	14,0 µg Vecuronium / ml Testansatz

2.17.6. Rocuronium

Handelsname	ESMERON
Wirkstoff	Rocuroniumbromid
Wirkstoffkonzentration	10 mg Rocuronium / ml Injektionslösung
Sonstige Bestandteile	Natriumacetat ; Natriumchlorid ; Essigsäure ; Wasser für Injektionszwecke
Darreichungsform	5 ml Injektionslösung je Ampulle
Hersteller	Organon Technika Medizinische Produkte GmbH

Die angegebenen Daten beziehen sich auf die Gebrauchsinformation und Fachinformation der Firma Organon Technika Medizinische Produkte GmbH [39].

Die untersuchten Konzentrationen beziehen sich auf die Plasmaspiegel in µg/ml Rocuronium nach i.v. Injektion von 0,6 mg/kgKG bei gesunden Patienten [20]. Der ermittelte Plasmaspiegel wurde hier als mittlere Konzentration getestet.

Leerwert :	0,00 µg Rocuronium / ml Testansatz
Niedrig :	1,10 µg Rocuronium / ml Testansatz
Mittel :	11,0 µg Rocuronium / ml Testansatz
Hoch :	110 µg Rocuronium / ml Testansatz

2.18. Die statistische Auswertung

Die Untersuchung der Medikamente wurde in jeweils doppelter Testung vorgenommen ; es wurden für jede getestete Konzentration – niedrig, mittel, hoch – zwanzig mal zwei Versuche durchgeführt. Zur Minimierung interindividueller Unterschiede wurden alle sechs Wirkstoffe mit den Blutmonozyten der jeweils gleichen zwanzig Probanden getestet (s.a. Kapitel 2.7., 2.8.). Für alle Ergebnisgruppen wurden der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet (s. die Tabellen im Anhang).

Die Ergebnisse wurden zunächst mit dem Pearson – Stephens – Test auf Normalverteilung überprüft, danach folgte zur Überprüfung der Varianzgleichheit der Bartlett – Test. Waren beide Bedingungen erfüllt, wurde eine Varianzanalyse für Messwiederholungen (repeated measure analysis) durchgeführt. Als Folgetest wurde der Scheffé – Test eingesetzt.

Wenn die Bedingungen für die Normalverteilung oder für die Varianzgleichheit nicht erfüllt waren, wurde die Friedman – Rangvarianzanalyse berechnet. Bei signifikanten Ergebnissen wurde nachfolgend der Miller – Test angewandt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% oder niedriger ($p \leq 0,05$) erachteten wir als statistisch signifikant.

Die Auswertung wurde mit dem BIOMED plus Programmsystem von H. Kolles durchgeführt [117].

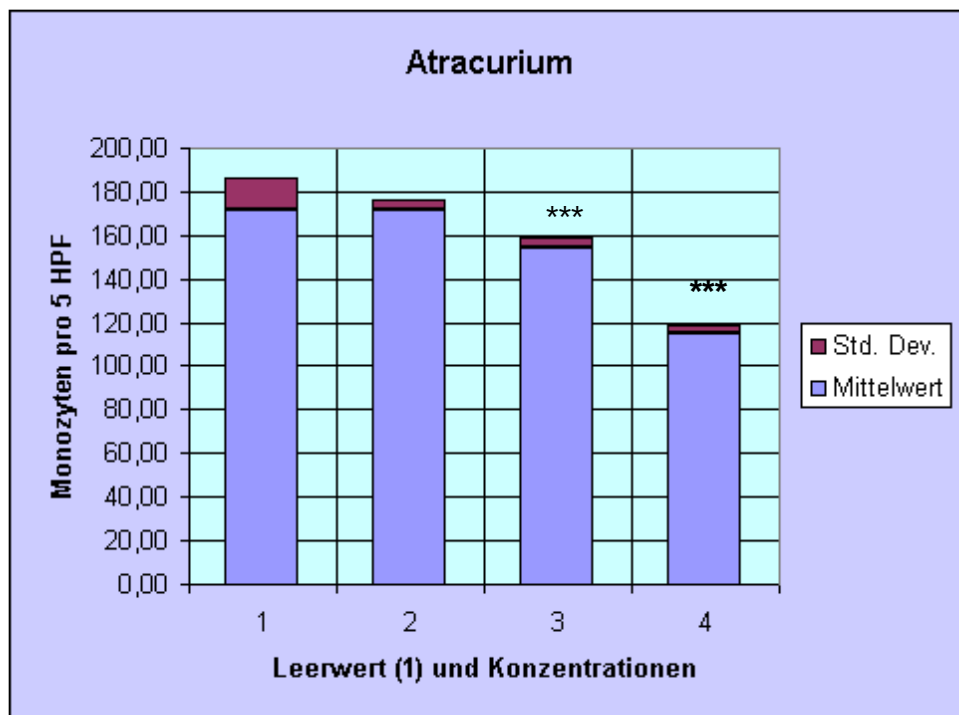
3. Die Ergebnisse der Testserien

Im Folgenden werden die Ergebnisse der getesteten Medikamente in ihren drei Konzentrationen und des Leerwerts dargestellt. Die jeweiligen dazu gehörenden Tabellen finden sich im Anhang unter Kapitel 7.2.4. (s. Tabs. 07, 08, 09) und den Kapiteln 7.2.7. bis 7.2.12. (s. Tabs. 14 – 31).

Von einem statistisch signifikanten Ergebnis wurde bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ ausgegangen.

3.1. Atracurium

Mittelwert	172,08	171,25	154,18	115,50
Std. Dev.	14,50	4,62	4,53	3,16
	1	2	3	4
	NaCl 0,9%	niedrig	mittel	hoch
	(0,00 µg/ml)	(0,80 µg/ml)	(8,00 µg/ml)	(80,00 µg/ml)
			***	***



Die Abbildung zeigt die Tabelle und die graphische Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der ausgezählten Monozyten in 5 HPF unter dem Einfluß von Atracurium in den drei getesteten Konzentrationen bei jeweils doppelter Auswertung.

Sowohl bei der mittleren als auch bei der hohen getesteten Konzentration von Atracurium konnte eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis im Vergleich mit dem getesteten Leerwert (= NaCl 0,9%) festgestellt werden. Es zeigte sich ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,001$.

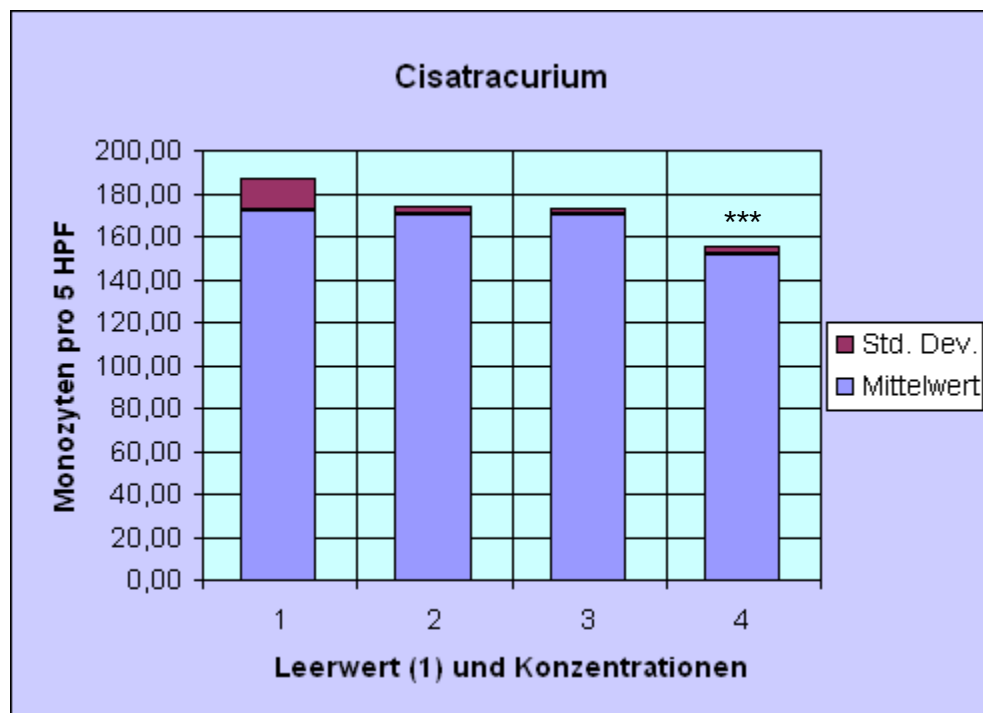
Std. Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

*** = $p \leq 0,001$

3.2. Cisatracurium

Mittelwert	172,08	170,53	170,33	151,50
Std. Dev.	14,50	3,28	3,07	3,48
	1	2	3	4
	NaCl 0,9%	niedrig	mittel	hoch
	(0,00 µg/ml)	(0,15 µg/ml)	(1,50 µg/ml)	(15,00 µg/ml)



Die Abbildung zeigt die Tabelle und die graphische Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der ausgezählten Monozyten in 5 HPF unter dem Einfluß von Cisatracurium in den drei getesteten Konzentrationen bei jeweils doppelter Auswertung.

Bei der hohen getesteten Konzentration von Cisatracurium konnte eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis im Vergleich mit dem getesteten Leerwert (= NaCl 0,9%) festgestellt werden. Es zeigte sich ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,001$.

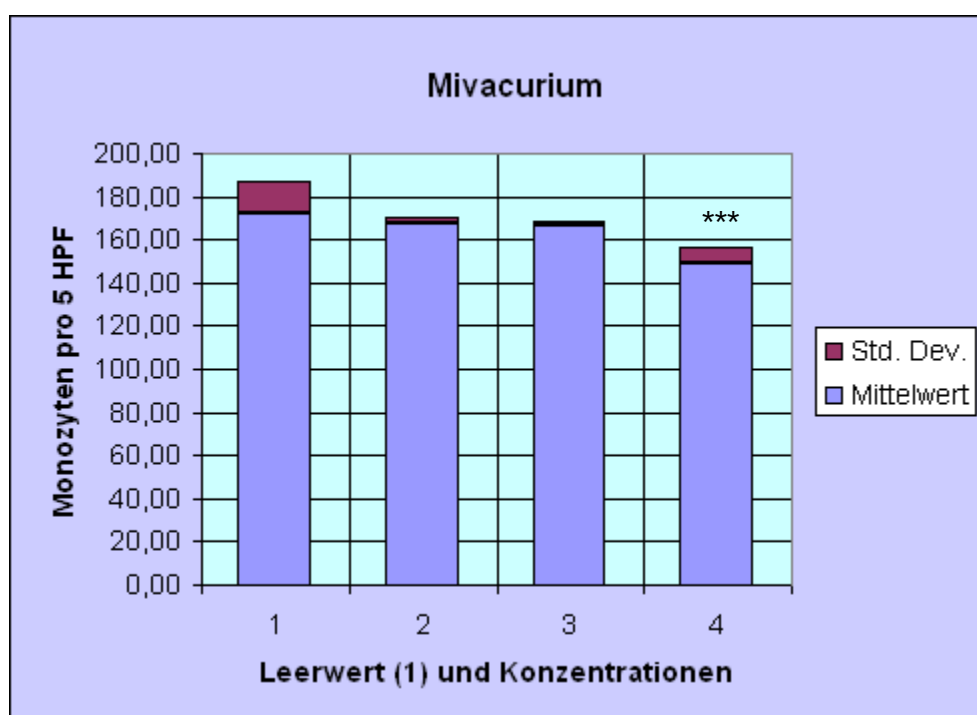
Std. Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

*** = $p \leq 0,001$

3.3 Mivacurium

Mittelwert	172,08	167,93	166,48	149,40
Std. Dev.	14,50	2,21	2,02	7,19
	1	2	3	4
	NaCl 0,9%	niedrig	mittel	hoch
	(0,00 µg/ml)	(0,12 µg/ml)	(1,20 µg/ml)	(12,00 µg/ml)



Die Abbildung zeigt die Tabelle und die graphische Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der ausgezählten Monozyten in 5 HPF unter dem Einfluß von Mivacurium in den drei getesteten Konzentrationen bei jeweils doppelter Auswertung.

Bei der hohen getesteten Konzentration von Mivacurium konnte eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis im Vergleich mit dem getesteten Leerwert (= NaCl 0,9%) festgestellt werden. Es zeigte sich ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,001$.

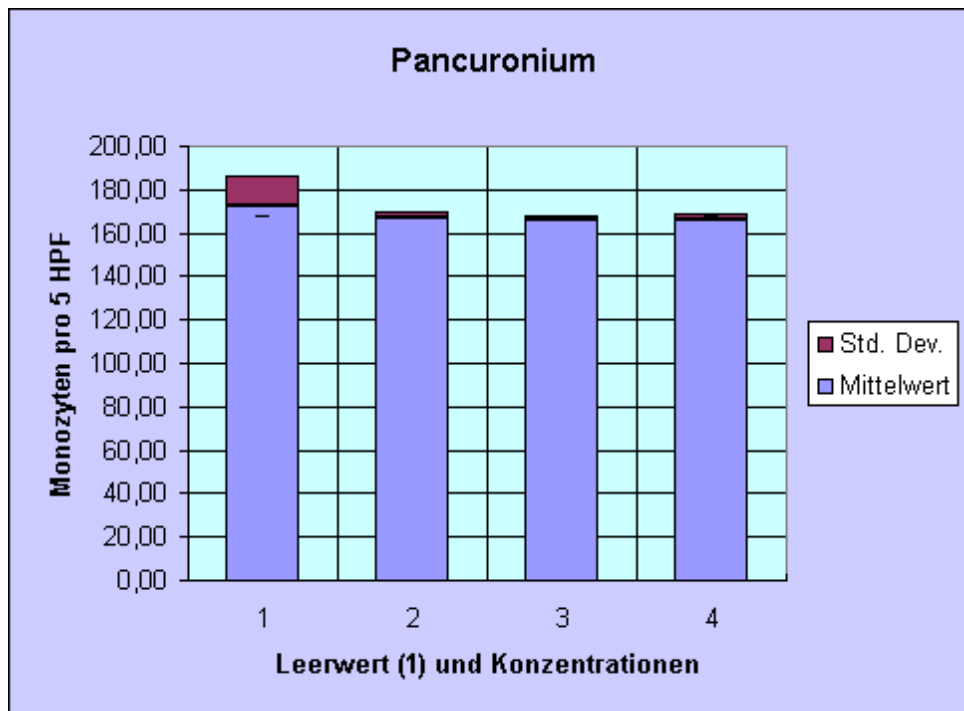
Std. Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

*** = $p \leq 0,001$

3.4. Pancuronium

Mittelwert	172,08	167,03	165,78	166,50
Std. Dev.	14,50	2,57	1,66	2,31
	1	2	3	4
	NaCl 0,9%	niedrig	mittel	hoch
	(0,00 µg/ml)	(0,22 µg/ml)	(2,20 µg/ml)	(22,00 µg/ml)



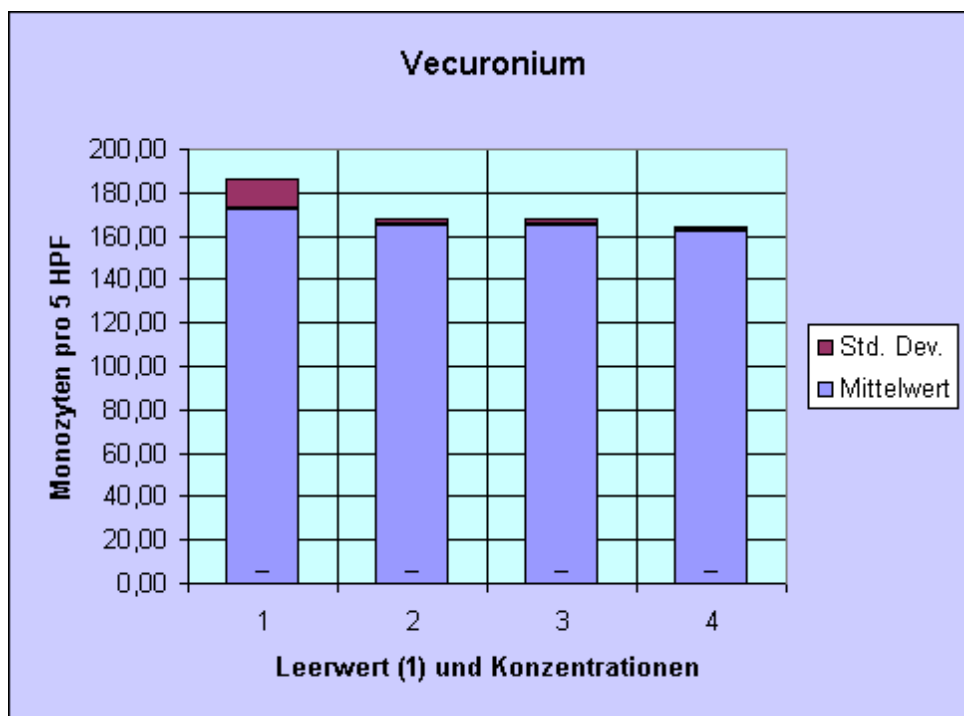
Die Abbildung zeigt die Tabelle und die graphische Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der ausgezählten Monozyten in 5 HPF unter dem Einfluß von Pancuronium in den drei getesteten Konzentrationen bei jeweils doppelter Auswertung.

Bei keiner der getesteten Konzentrationen von Pancuronium konnte eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis im Vergleich mit dem getesteten Leerwert (= NaCl 0,9%) festgestellt werden.

Std. Dev. =
Standardabweichung
HPF = High Power Field

3.5. Vecuronium

Mittelwert	172,08	165,48	165,50	162,70
Std. Dev.	14,50	2,27	2,37	1,46
	1	2	3	4
	NaCl 0,9%	niedrig	mittel	hoch
	(0,00 µg/ml)	(0,14 µg/ml)	(1,40 µg/ml)	(14,00 µg/ml)



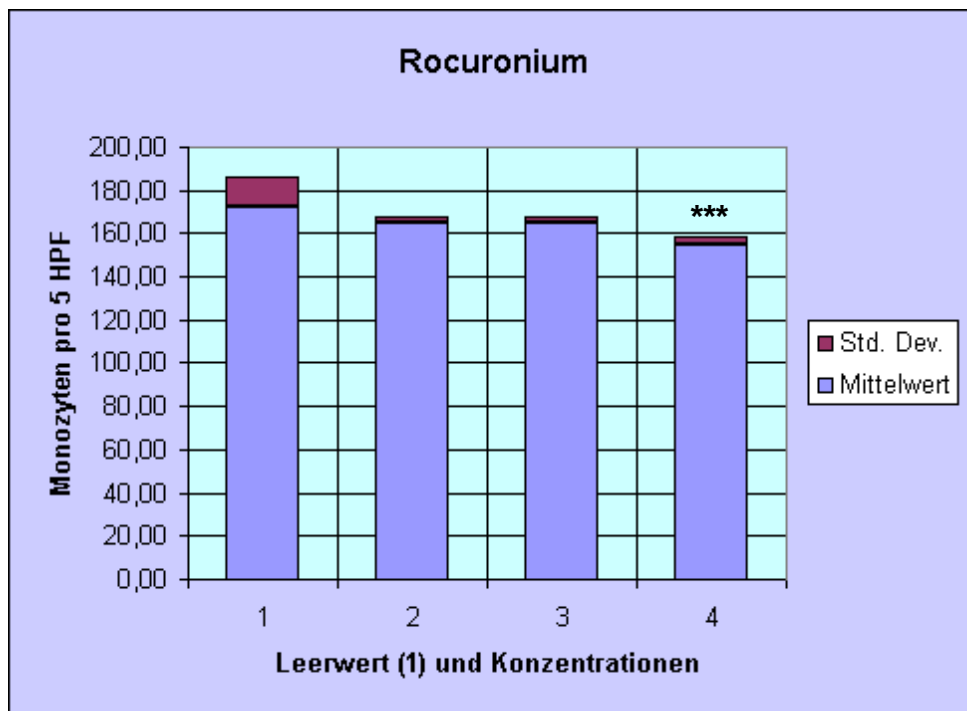
Die Abbildung zeigt die Tabelle und die graphische Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der ausgezählten Monozyten in 5 HPF unter dem Einfluß von Vecuronium in den drei getesteten Konzentrationen bei jeweils doppelter Auswertung.

Bei keiner der getesteten Konzentrationen von Vecuronium konnte eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis im Vergleich mit dem getesteten Leerwert (= NaCl 0,9%) festgestellt werden.

Std. Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

3.6. Rocuronium

Mittelwert	172,08	165,23	165,35	155,13
Std. Dev.	14,50	2,65	2,07	3,64
	1	2	3	4
	NaCl 0,9%	niedrig	mittel	hoch
	(0,00 µg/ml)	(1,10 µg/ml)	(11,00 µg/ml)	(110,00 µg/ml)



Die Abbildung zeigt die Tabelle und die graphische Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung der ausgezählten Monozyten in 5 HPF unter dem Einfluß von Rocuronium in den drei getesteten Konzentrationen bei jeweils doppelter Auswertung.

Bei der hohen getesteten Konzentration von Rocuronium konnte eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis im Vergleich mit dem getesteten Leerwert (= NaCl 0,9%) festgestellt werden. Es zeigte sich ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,001$.

Std. Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

*** = $p \leq 0,001$

4. Die Diskussion und Interpretation der Ergebnisse

Die körpereigene Abwehr von als fremd erkannten Stoffen, wie Bakterien und Viren, wird maßgeblich durch unsere Immunzellen gesteuert. Diese Zellen werden auf unterschiedliche Weise durch biologische und chemische Stoffe moduliert, wodurch es möglich ist, dass Medikamente die Immunabwehr schwächen.

Schon vor über hundert Jahren konnte in verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen gezeigt werden, dass das Immunsystem durch Stoffe wie Äther, Alkohol, Chloralhydrat, Chloroform und Curare stark geschwächt wurde [45, 48, 100]. Die Untersuchungen von Graham zeigten schon 1911, dass der Äther, als damals häufig verwendetes Anästhetikum, nicht nur die Aktivität und die Phagozytoseleistung von Monozyten zu hemmen vermochte, sondern auch, dass das Ausmaß der Hemmung konzentrationsabhängig war [45].

In weiteren, neueren Untersuchungen befassten sich verschiedene Autoren mit einer Reihe von Medikamenten, wie z.B. Antiphlogistika, Antibiotika und Immunsuppressiva, und deren Einfluss auf die Chemotaxis von Monozyten, Lymphozyten und Granulozyten [1, 4, 57, 75, 80, 92, 93, 94, 106, 118, 122, 129, 131].

Zwei Arbeitsgruppen von Krumholz untersuchten 1999 den Einfluss verschiedener intravenös verabreichter Anästhetika auf das chemotaktische Verhalten von Monozyten und eosinophilen Granulozyten und fanden eine signifikante Hemmung bei Monozyten durch Ketamin, Midazolam und Droperidol sowie bei Eosinophilen durch Thiopental und Etomidat [65, 67]. 2002 berichteten Krumholz, Stubbe und Szalay über die Hemmung der Monozytenchemotaxis durch hohe Konzentrationen von Furosemid und Verapamil, jedoch auch über deren Stimulation durch Clonidin und Metamizol [68].

Die Gruppe der nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien ist bisher noch nicht auf ihre Beeinflussung der Monozytenchemotaxis untersucht worden.

Das große Interesse am chemotaktischen Verhalten immunkompetenter Zellen und dessen Beeinflussung durch unterschiedliche Medikamente und Wirkstoffe

unterstreicht die klinische Relevanz zukünftiger Untersuchungen. Hierbei bleibt offen, inwiefern die *In-vitro*-Datenlage die *In-vivo*-Situation widerspiegelt [76].

4.1. Die Funktion der Monozyten

Das menschliche Immunsystem dient dem Schutz unseres Körpers, indem es körperfremde Substanzen erkennen und dann eliminieren kann (s. Kapitel 1.2.).

Die Monozyten bzw. mononukleären Phagozyten bilden zusammen mit den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten die zelluläre Komponente des unspezifischen Abwehrsystems, welches die angeborene, genetisch determinierte Immunität vermittelt, die die Entzündungsreaktion mit Ansammlung der zur Phagozytose befähigten Zellen darstellt [107, 116].

Monozyten werden aus einer pluripotenten Stammzelle im Knochenmark über mehrere Reifestadien gebildet und in den Blutstrom abgegeben, wo sie ca. 10 Stunden verbleiben und auch zu Untersuchungszwecken durch Blutentnahme zugänglich sind [57, 116]. Nach Verlassen des Blutstroms und Einwanderung ins Gewebe reifen sie dort zu gewebspezifischen Makrophagen aus. Gewebsmakrophagen findet man entlang der kleinen Blutgefäße, in der Peritoneal- und der Pleurahöhle, in den Bindegeweben als Histiozyten, in der Lunge als Alveolarmakrophagen, in der Leber als von Kupffer'sche Sternzellen, entlang der Milzsinusoide und in den zentralen Regionen der Lymphknoten. Auch die Mesangiumzellen der Nierenglomerula und die Mikroglia des Gehirns sowie die Osteoklasten im Knochen werden zum gleichen Zellsystem gezählt [57, 107,116]. Die Monozyten und die im Gewebe ausgereiften Makrophagen bilden zusammen das sog. mononukleäre Phagozytosesystem (MPS ; früher, zusammen mit Endothelzellen und Granulozyten unter dem Begriff des retikuloendothelialen Systems (RES) zusammengefasst) [57, 107].

Mikroskopisch weisen die Monozyten charakteristischerweise eine Vielzahl vom Lysosomen auf, die Myeloperoxidasen, Hydrolasen und saure Phosphatasen zur intrazellulären Elimination von Fremdmaterial, z.B. Bakterien, Pilze oder Kolloide, enthalten (s. Abb.1, Kapitel 1.2.) [24, 57, 116].

Während einer Entzündung verlassen die Monozyten den Blutstrom und begeben sich amöboid zum Entzündungsort, wo sie zu Makrophagen differenzieren und ihre Phagozytosefähigkeit aufnehmen (s.a. Kapitel 1.2.) [107, 116]. Die Fähigkeit zur Chemotaxis ermöglicht den Monozyten die zielgerichtete räumliche Bewegung. Diese wird durch bestimmte Substanzen, die sog. Chemotaxine, in der Umgebung induziert und vorwiegend durch auf der Zelloberfläche der Monozyten befindliche Rezeptoren getriggert und gesteuert (s.a. Kapitel 1.2. ; 1.3.) [58, 108, 112, 116]. Zu den chemotaktischen Stoffen zählen f - Methionyl – Peptide (z.B. fMLP), Immunkomplexe, die Komplementfragmente C3a und C5a, Endotoxin von Bakterien und, als potentester Lockstoff, die Lymphokine von sensibilisierten T- Lymphozyten (s.a. Kapitel 1.3.) [107, 115, 116].

Monozyten und Makrophagen verfügen auf ihrer Oberfläche über eine Anzahl von Rezeptoren, z.B. für Immunglobulin G (IgG), Immunglobulin M (IgM), Komplementfragment C3b, Lymphokine (IL-1, IL-6) und fMLP, und sezernieren auch ihrerseits Mediatoren, z.B. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) und Interferon gamma (INF- γ), sowie Interleukin-1 beta (IL-1 β), das als Koaktivator von T- Lymphozyten agiert, und greifen auf diese Weise in die Koordinationsprozesse der Immunantwort ein (s. a. Kapitel 1.2.) [51, 71, 116].

Außerdem sind sie zur Antigenpräsentation befähigt. Nach Phagozytose und lysosomaler Aufbereitung eines Antigenmoleküls erfolgt die Exprimierung des aufbereiteten Peptids, das mit MHC- Klasse II- Molekülen assoziiert ist, an der Zelloberfläche [107, 116]. Intakte Antigene werden von T- Helferzellen oder zytotoxischen T- Zellen nicht erkannt und müssen daher als MHC – Antigenkomplex präsentiert werden. Dadurch erfolgt die Proliferation der nun aktivierten T- Lymphozyten, die ihrerseits Mediatoren freisetzen, z.B. Interferon gamma (INF- γ), das wiederum die Monozyten zur Liberation von Monokinen, wie Interleukin-1 beta (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6), Colony stimulating factor (CSF) und andere, anregt und so die Immunantwort weiter stimuliert (s.a. Kapitel 1.2.) [68, 71, 107, 116].

Chemotaxis und Phagozytose gehören zu den wichtigsten Fähigkeiten der Monozyten.

4.2. Die Methodik

Die Messung der Chemotaxis von Zellen kann *in- vivo* oder *in- vitro* erfolgen.

In- vivo- Messungen, wie das sog. „rebuk skin window“ oder die Beimpfung verschiedener Körperhöhlen von Versuchstieren mit einer zu testenden Substanz, sind wegen ihres erhöhten Aufwands selten [79]. Die hohen technischen Anforderungen an eine wissenschaftlich fundierte *In- vivo*- Testung des Immunsystems und dessen große Komplexität erlauben nur selten eine klare Interpretation der erzielten Ergebnisse.

Die *In- vitro*- Messung ermöglicht hingegen die Funktionstestung von Teilkomponenten des Immunsystems, z.B. den Monozyten. Hierbei erzielte Ergebnisse müssen allerdings durch weiterführende klinische Studien ergänzt werden, da eine Beeinträchtigung einzelner Komponenten des Systems durch andere kompensiert werden könnte und so in ihrer Einzelbewertung fehlinterpretiert werden könnte [66, 68].

Für die *In- vitro*- Messung sind verschiedene Methoden entwickelt worden. Hierzu zählen die mikroskopische Beobachtung der Zellwanderung auf Objektträgern, Deckgläsern oder in Kapillarröhrchen und die Chemotaxismessung in einer Kulturkammer unter Agarose – Gel oder durch einen Filter mit Hilfe der Boyden – Chamber und deren Modifikationen [11, 37, 79, 121, 132].

Diese verschiedenen Methoden haben sich unterschiedlich für bestimmte spezialisierte Studien bewährt, jedoch hat sich die Technik von Boyden und deren Weiterentwicklung aufgrund der einfachen Handhabung und der gut reproduzierbaren Ergebnisse durchgesetzt [37]. Die Erkenntnisse auch neuerer wissenschaftlicher Ergebnisse beruhen auf dieser Messmethode [11, 37, 132].

Durch ein neues Verfahren zur Isolierung von Lymphozyten und Monozyten aufgrund ihres spezifischen Gewichts in Verbindung mit einer Trägersubstanz und einer differenzierten Zentrifugation brachte A. Böyum die *In- vitro*- Messung der Chemotaxis 1968 voran [12]. Diese Methode wird auch heute noch standardmäßig in Kombination mit der Boyden – Chamber eingesetzt [48].

Die klassische Boyden – Chamber und auch die weiter entwickelte 48-Well – Chemotaxis Chamber (Neuroprobe Chamber, s. Kapitel 2.2.) besteht, wie auch in

Kapitel 2. beschrieben, aus einem unteren und einem oberen Kammerteil [B13]. Die oberen und unteren Kammern werden durch einen dazwischen gelagerten Polycarbonfilter[B09] getrennt, in den die Monozyten einwandern. Der Filter ist im Gegensatz zu den gängigen Polycarbonfiltern frei von dem hydrophoben Oberflächenmaterial Polyvinylpyrrolidone (PVP) [115, 119]. Die herkömmlichen PVP-beschichteten Filter haben den entscheidenden Nachteil, dass die zur Unterseite des Filters gewanderten Zellen aufgrund der Beschichtung weniger adhären sind und zu einem variablen Prozentsatz vom Filter abfallen, wodurch es zu Fehlbestimmungen bei der Zellzählung kommt [49]. Die Porengröße wird in Abhängigkeit vom verwendeten Zelltyp gewählt, da es sehr wichtig ist, dass die Zellen aktiv durch den Filter wandern können, ohne jedoch einfach hindurch zu fallen. Für die Monozyten beträgt die optimale Porengröße 5 µm [49].

4.3. Der chemotaktische Lockstoff

Eine Voraussetzung für die *In- vitro*- Chemotaxis von Monozyten ist die Gegenwart eines chemotaktischen Lockstoffs (syn.: Chemotaxin ; s. Kapitel 1.3.). Häufig verwendete Stoffe sind das Komplementfragment C5a oder das von Bakterien produzierte N-formyl-Peptid N- Formyl- Methionyl- Leucyl- Phenylalanin (fMLP) [A13] ; [4, 59, 66, 67, 68, 79, 81, 94, 119]. Nielsen und Larsen beschrieben 1983 verschiedene Variablen, die die chemotaktische Reaktion von Monozyten beeinflussen, stellten aber auch fest, dass das Migrationsverhalten der aktivierten Zellen gegenüber optimalen Konzentrationen der Chemotaxine Kasein, Zymosan-aktiviertes Serum (ZAS) und fMLP [A13] keinen signifikanten Unterschied aufwies [95]. Ternowitz, Herlin und Fogh verglichen 1987 die chemotaktische Aktivität von fMLP [A13] mit Leukotrien B4 (LTB 4) und kamen zu dem Ergebnis, dass fMLP [A13] eine signifikant höhere Reaktion der Monozyten induzierte [120].

Die aufwendige Herstellung von ZAS wurde 1980 von Falk, Goodwin und Leonard beschrieben, die Präparation von C5a im selben Jahr von Harvath, Falk und Leonard [37, 49]. Matzner, Marx, Drexler und Eldor wiesen C5a als den primären chemotaktischen Faktor im ZAS nach [81]. Die gleichen Autoren stellten fest, dass

Heparin einen inhibitorischen Effekt auf die chemotaktische Aktivität von ZAS ausübt, nicht aber auf jene von fMLP [A13] ; [81]. Da das Blut unserer Probanden mit Heparin antikoaguliert wurde (s. Kapitel 2.8.), haben wir uns für fMLP [A13], welches als fertig synthetisiertes Präparat vom Hersteller zu beziehen war, als Chemotaxin entschieden. Außerdem reagieren Monozyten hochsensibel auf kleine Mengen dieses Lockstoffs und besitzen selbst, im Gegensatz zu Lymphozyten, spezifische Membranrezeptoren für fMLP [A13] ; [119]. Aufgrund der positiven Interaktion des Oberflächenrezeptors und des Lockstoffs ist fMLP gut geeignet für die Untersuchung der Monozytenchemotaxis *in vitro* [49, 79].

Wir verwendeten fMLP [A13] als chemotaktischen Lockstoff in einer Konzentration von 10^{-8} molar. Von Ausnahmen abgesehen wird die von uns eingesetzte Konzentration am häufigsten verwendet und als Wirkmaximum angesehen [1, 4, 59, 67, 68, 79, 81, 119, 120].

4.4. Die Checkerboard – Analyse

Unter den verschiedenen Methoden zur Bestimmung der *In-vitro*- Chemotaxis von Zellen wird die von Boyden 1962 beschriebene Chemotaxis – Chamber in ihrer heutigen Modifikation (Neuroprobe Chamber [B13]) am häufigsten eingesetzt [11, 79]. Die Zellwanderung wird durch einen Lockstoff verursacht, der die Migration der Zellen auslöst.

Eine Voraussetzung für verwertbare Ergebnisse ist die Messung einer chemotaktischen Migration der Zellen.

Die Checkerboard – Analyse ermöglicht die Differenzierung zwischen Chemotaxis und Chemokinese (s.a. Kapitel 1.3.) [120, 133]. Durch Veränderung der Konzentration eines Lockstoffs in einer Verdünnungsreihe sowohl im unteren als auch im oberen Teil der Neuroprobe Chamber [B13] werden unterschiedliche Konzentrationsgradienten innerhalb der Kammer erzeugt (s.a. Kapitel 2.1.). Die unterschiedlichen Gradienten beeinflussen das Migrationsverhalten der Monozyten,

die sich im oberen Teil der Kammer befinden, so dass sie entweder verstärkt oder vermindert in den Filter einwandern (s. Anhang, Tabs. 02, 03) [119, 120] :

- Bei hoher Konzentration des Lockstoffs im unteren Kompartiment der Kammer und gleichzeitig niedriger Konzentration im oberen Kompartiment resultiert eine ausgeprägte Migration von Monozyten in den Filter (positiver Gradient).
- Bei hoher oder niedriger Konzentration des Lockstoffs auf beiden Seiten des Filters resultiert eine mäßige Migration von Monozyten in den Filter (kein Gradient).
- Bei niedriger Konzentration des Lockstoffs im unteren Kompartiment der Kammer und gleichzeitig hoher Konzentration im oberen Kompartiment resultiert eine geringfügige Migration von Monozyten in den Filter (negativer Gradient).

Das Migrationsverhalten der Monozyten bei negativen und bei nicht vorhandenem Gradienten kann als ungerichtete Bewegung und somit als Chemokinese interpretiert werden [120, 133]. Aufgrund der ausgeprägten Migration der Monozyten in Anwesenheit eines positiven Gradienten kann hier davon ausgegangen werden, dass eine gerichtete Bewegung stattgefunden hat und dass unsere Messwerte auf Chemotaxis schließen lassen (s. Anhang, Tabs. 02, 03) [120, 133].

4.5. Die Muskelrelaxanzien

Keine Entdeckung seit der des Äthers, Stickoxids und Kokains hat die klinische Narkosepraxis so nachhaltig beeinflusst wie die Einführung der Muskelrelaxanzien [82].

Am Anfang stand das von südamerikanischen Indianerstämmen benutzte Pfeilgift Curare, das eine erste andeutungsweise Erwähnung im Jahre 1516 im Werk von Pietro Martire d'Anghiera fand [24]. Der erste konkrete Hinweis findet sich 1595 in einer Reisebeschreibung von Sir Walter Raleigh [104]. Der Entdeckungsreisende Alexander von Humboldt wurde wahrscheinlich als erster Europäer Zeuge der Zubereitung des Pfeilgifts und beschrieb auch die dazu gehörende Jagdmethode [53, 54, 99]. In den Berichten wurde mit Erstaunen festgehalten, dass die so erlegten Tiere gefahrlos verzehrt werden konnten.

Die Untersuchungen von Sir Benjamin Brodie 1811 sowie die Versuche von Charles Waterton 1825 und Claude Bernard 1851 führten zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus von Curare und trieben die Verwendung zu therapeutischen Zwecken voran [6, 13, 126]. Der Wirkstoff Tubocurarin wurde jedoch erst 1935 von King isoliert [60].

Die ersten Einsätze in der klinischen Anästhesie wurden 1942 von Harold Griffith und Enid Johnson in Kanada sowie von Stuart Cullen in den USA beschrieben [23, 47]. Die Substanz wurde jedoch erst 1946 nach einem Bericht von Cecil Gray und John Halton über die Verwendung von Tubocurarin zur Relaxation vor der Royal Society of Medicine für die klinische Anwendung zugelassen [46].

Die Bemühungen von Daniel Bovet zur Herstellung synthetischer Relaxanzien führte 1947 zu der Synthese von Gallamin [10]. Die Forschergruppe um Daniel Bovet erkannte als erste die Bedeutung von quaternären Ammoniumbasen für die neuromuskuläre Blockade [82]. Zwei Jahre später (1949) publizierte er die erste Arbeit über Succinylcholin, welches 1951 von F. Brücke, O. Mayrhofer und O. v. Dardel in die klinische Praxis eingeführt wurde [9, 15, 25, 83].

Nach der Erkenntnis, dass manche der neuen synthetischen Relaxanzien zwar ähnliche Wirkungen, aber unterschiedliche Wirkmechanismen an der neuromuskulären Endplatte aufwiesen, konzentrierte sich das Interesse auf Relaxanzien vom nichtdepolarisierenden Wirkungstyp [14, 98].

Dies führte zur Entwicklung und Einführung von Alcuronium in den Jahren 1958 bis 1962 sowie zur Entdeckung der Relaxanzien aus der Steroidreihe, beginnend mit dem bisquaternären Aminosteroid Pancuronium in den Jahren 1964 bis 1966 [5, 21, 52, 82, 88, 111, 125]. Die wesentlichen Vorarbeiten zur klinischen Einführung des zweiten Muskelrelaxans mit aminosteroidaler Grundstruktur, dem Vecuronium, leisteten unter Anderen die Arbeitsgruppen um Savage, Agoston und Fahey in den Jahren 1979 bis 1982 [2, 35, 109]. Als erstes Relaxans der Benzylisochinolinderivate wurde Atracurium Mitte der 80er Jahre vorgestellt [36, 38, 124]. Cisatracurium und Mivacurium als die jüngsten Vertreter der Benzylisochinoline und auch Rocuronium als neustes Aminosteroid wurden 1996 in Deutschland zugelassen [29, 30].

Das *In-vitro*- Migrationsverhalten menschlicher Blutmonozyten unter dem Einfluss von nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien ist bisher nicht gründlich überprüft worden. Eine Arbeit von Smith, Edwards, Gower, Ferguson und Williams aus dem Jahr 1992 untersuchte das Migrationsverhalten von Leukozyten in Anwesenheit verschiedener Anästhetika, auch Pancuronium ; es wurden hier jedoch andere Agenzien und Wirkstoffkonzentrationen verwendet, und für Pancuronium wurde kein hemmender oder stimulierender Effekt gefunden [114].

Die isolierten Effekte der in den einzelnen Präparaten enthaltenen Lösungsmittel und Konservierungsstoffe gingen nicht in die Studie ein, da die Medikamente im klinischen Gebrauch nicht getrennt von ihren Zusatzstoffen eingesetzt werden.

4.5.1. Atracurium

Atracurium (Tracrium) [A17] zeigte in unserer Testung sowohl in der mittleren Konzentration, welche einer therapeutisch wirksamen Dosis entspricht, als auch in der hohen Konzentration, welche eine Zehnerpotenz über der therapeutisch wirksamen Dosis liegt, eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis (s. Kapitel 3.1.). Die niedrige Konzentration, eine Zehnerpotenz unter der therapeutisch wirksamen Dosis, war gegenüber dem Leerwert nicht signifikant verändert (s. Kapitel 3.1.). Das Ergebnis impliziert die Möglichkeit einer negativen Beeinflussung der Immunitätslage nach gebräuchlichen und hohen Dosen von Atracurium.

Atracurium (Tracrium) [A17] ist ein bisquaternäres nichtdepolarisierendes Muskelrelaxans der Benzylisochinolingruppe von mittellanger Wirkdauer [63, 88]. Es wird weitgehend organunabhängig von Leber und Niere über die sog. Hoffmann – Elimination, einem nichtenzymatischen von pH-Wert und Temperatur abhängigen Prozess, und über Esterhydrolyse abgebaut [38, 45, 63, 88].

In vielen Arbeiten wurde das Potential einer Histaminliberation durch Atracurium herausgestellt, jedoch betont, dass dies vorwiegend bei schneller Bolusinjektion und bei hoher Dosierung auftreten würde [30, 38, 88, 90, 101]. Die Arbeitsgruppe von Naguib konnte eine signifikant erhöhte Histaminkonzentration eine Minute nach Applikation von Atracurium messen (234%) und zitierte andere Arbeiten mit noch höheren Werten [90]. Naguib konstatierte, dass die auftretenden Nebenwirkungen, die sich vorwiegend am Herzkreislaufsystem manifestierten, zusätzlich durch weitere Stoffe, die durch eine Mastzelldegranulation freigesetzt würden, wie zum Beispiel Tryptase oder Prostaglandine, mitverursacht würden [90]. Radermecker, Bury und Saint-Remy zeigten in ihrer Arbeit über den Effekt von Histamin auf die Chemotaxis, dass picomolare Konzentrationen zu einer signifikanten Hemmung, höhere Konzentrationen jedoch zu einer Steigerung der Migration von Monozyten *in vitro* führten, und bemerkten die Existenz von H_2 - Rezeptoren auf der Monozytenoberfläche [103, 110].

Fuchs-Buder schrieb 1997 in seinem Update zu Muskelrelaxanzien, dass die durch Atracurium hervorgerufene Histaminfreisetzung eine unspezifische chemische

Reaktion und nicht mit einer Histaminfreisetzung im Zusammenhang mit einer allergischen Reaktion zu verwechseln sei [38].

Die Mastzellendegranulation und die dadurch hervorgerufene Freisetzung von Stoffen, wie Histamin und auch Prostaglandine, scheinen nach den oben zitierten Autoren eher keine Rolle im Zusammenhang mit der Hemmung der Monozytenchemotaxis durch Atracurium zu spielen[103].

Verschiedene Arbeiten zeigten ein günstiges Profil von Atracurium in Bezug auf seine Pharmakodynamik und Pharmakokinetik [36, 38, 88, 97, 101, 124]. So wurde 1984 von der Arbeitsgruppe von Fahey und 1987 von der Arbeitsgruppe von Ward die gute Eignung der Substanz für terminal niereninsuffiziente Patienten aufgrund des organunabhängigen Abbaumechanismus, der Hoffmann – Elimination, herausgestellt [36, 124]. Pollard stellte 1993 die Vorteile von Atracurium für die Langzeitbeatmung von Intensivpatienten dar, wobei er auch über den günstigen Abbau, zusätzlich aber über die extrem geringe Kumulationsneigung berichtete, was bei Patienten mit Nierenversagen oder Multiorganversagen ein Vorteil sei [101].

Da Patienten mit Niereninsuffizienz, Multiorganversagen oder Sepsis und auch intensivpflichtige Patienten, zum Beispiel nach Verbrennungstrauma, mehr oder minder immunsupprimiert sind, könnten unsere Ergebnisse Anlass dazu geben, die obigen Darstellungen in Bezug auf die günstigen Eigenschaften von Atracurium zu überdenken [3, 76, 127]. Davon ausgehend, dass Atracurium nicht zur Kumulation neigt, sind die von uns erhaltenen Ergebnisse für die hohe Konzentration des Relaxans klinisch eher als irrelevant zu betrachten [101]. Jedoch könnten unsere Ergebnisse für die mittlere Konzentration, die einer klinisch gebräuchlichen Dosis entspricht, klinisch relevant in Bezug auf eine zusätzliche Suppression des Immunsystems bei kritisch kranken Patienten sein [36, 101, 124].

4.5.2. Cisatracurium

Cisatracurium (Nimbex) [A14] zeigte in unserer Testung in der hohen Konzentration, welche eine Zehnerpotenz über der therapeutisch wirksamen Dosis liegt, eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis (s. Kapitel 3.2.). Sowohl die mittlere Konzentration, welche einer therapeutisch wirksamen Dosis entspricht, als auch die niedrige Konzentration, eine Zehnerpotenz unter der therapeutisch wirksamen Dosis, waren gegenüber dem Leerwert nicht signifikant verändert (s. Kapitel 3.2.).

Cisatracurium (Nimbex) [A14], ein weiteres nichtdepolarisierendes Muskelrelaxans mit einer Benzyloisochinolinstruktur, ist eines von zehn Stereoisomeren von Atracurium mit drei- bis fünffach höherer Potenz [38, 41, 88, 113]. Der Abbau geschieht nicht durch Esterhydrolyse, sondern ausschließlich durch die enzymunabhängige Hoffmann – Elimination [38, 88]. Cisatracurium verursacht eine wesentlich geringere Histaminliberation als Atracurium, weist eine hohe Kreislaufstabilität auch bei hoher Dosis und schneller Injektionsgeschwindigkeit auf und zeigt keine Kumulationsneigung, weder bei Niereninsuffizienz, noch bei Leberinsuffizienz [27, 30, 33, 38, 41, 61, 85, 88, 113, 128].

Interessant erscheint uns die unterschiedliche Wirkung von Atracurium (Tracrium) und Cisatracurium (Nimbex) auf die *In-vitro*- Chemotaxis der Monozyten.

Beide Substanzen sind bisquaternäre Benzyloisochinolinderivate und enthalten die gleiche Anzahl gleicher Atome, was chemisch als Isomer bezeichnet wird [96]. Atracurium ist eine Mischung aus zehn Stereoisomeren, also Isomeren, die sich durch ihre räumliche Konfiguration unterscheiden. Diese Stereoisomere haben eine unterschiedliche Pharmakologie und entstehen in einem bestimmten Mischungsverhältnis bei der Synthese von Atracurium [85, 96]. Cisatracurium ist eines dieser Stereoisomere und ist zu etwa 15% im handelsüblichen Atracuriumgemisch enthalten, unterscheidet sich jedoch als Einzelsubstanz durch seine bessere Pharmakologie und sein günstigeres Nebenwirkungsprofil [28, 30, 85, 96]. Möglicherweise wirkt sich das günstigere Profil von Cisatracurium im klinischen Alltag, wie zum Beispiel die *in vivo* äußerst geringe Histaminliberation im Vergleich

zu Atracurium, auch in unseren *In-vitro*-Testungen im chemotaktischen Verhalten der Monozyten aus [28, 30, 74, 85].

Eine weitere Möglichkeit der Beeinflussung ist in den Zusatzstoffen zu sehen, die vielen Medikamenten zur Stabilisierung beigemischt werden. In unserem Fall lässt sich dies jedoch für die beiden Medikamente ausschließen, da in beiden als zusätzlicher Bestandteil die Benzolsulfonsäure enthalten ist [39 – 44]. Der Einfluss der Benzolsulfonsäure auf die Monozytenchemotaxis wurde im Rahmen unserer Arbeit nicht untersucht und kann somit hier nicht abschließend beurteilt werden.

4.5.3. Mivacurium

Mivacurium (Mivacron) [A12] zeigte in unserer Testung in der hohen Konzentration, welche eine Zehnerpotenz über der therapeutisch wirksamen Dosis liegt, eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis (s. Kapitel 3.3.). Sowohl die mittlere Konzentration, welche einer therapeutisch wirksamen Dosis entspricht, als auch die niedrige Konzentration, eine Zehnerpotenz unter der therapeutisch wirksamen Dosis, waren gegenüber dem Leerwert nicht signifikant verändert (s. Kapitel 3.3.).

Mivacurium (Mivacron) [A12] zählt zu den kurzwirksamen nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien und ist ein bisquaternäres Benzylisochinolinderivat, welches chemisch dem Atracurium eng verwandt ist [38, 40, 88, 91]. Es ist ein Gemisch aus drei Isomeren, von denen hauptsächlich zwei für die neuromuskulär blockierende Wirkung verantwortlich sind [30, 50, 70]. Es wird hydrolytisch durch Plasmacholinesterase gespalten und hepatobiliär eliminiert, so dass bei Cholinesterasemangel, bei atypischer Cholinesterase, bei Leberfunktionsstörungen und Lebercirrhose, aber auch bei terminaler Niereninsuffizienz eine verlängerte Wirkdauer beobachtet wird [17, 30, 38, 88, 91]. Dies liegt zum anderen auch an der bei Cirrhotikern und bei dialysepflichtigen Patienten herabgesetzten Aktivität der Plasmacholinesterase [19, 30, 50, 70]. Die neuromuskuläre Blockade ist dann mit der eines langwirkenden Muskelrelaxans gleich zu setzen [30, 38]. Mivacurium kann zu unspezifischer Histaminliberation führen, welche durch langsame Injektion und

Dosisreduktion vermieden werden kann [30, 38, 88]. Es weist gute Kreislaufstabilität auf und ist aufgrund seiner raschen enzymatischen Inaktivierbarkeit auch für ambulante Eingriffe gut geeignet [30].

Ob eine Histaminliberation im Zusammenhang mit unseren Ergebnissen steht, kann hier nicht abschließend beurteilt werden.

Die von uns gemessenen Ergebnisse für die hohe Konzentration des Relaxanz könnte klinische Relevanz bei Patienten erlangen, die aufgrund einer schweren Nieren- oder Lebererkrankung einen beeinträchtigten Immunstatus haben, da es hier durch mögliche Kumulation bei Anwendung von Mivacurium zu einer weiteren Kompromittierung des Immunsystems kommen könnte [17, 19, 30, 50, 70].

4.5.4. Pancuronium

Pancuronium (Pancuronium 'Organon') [A16] zeigte in unserer Untersuchung in keiner der getesteten Konzentrationen eine signifikante Beeinflussung der Monocytenchemotaxis (s. Kapitel 3.4.).

Pancuronium (Pancuronium 'Organon') [A16] ist der Prototyp der nichtdepolarisierenden Muskelrelaxanzien vom Typ der Aminosterioide [88, 111]. Es zählt zu den langwirkenden Substanzen und weist bei repetitiver Gabe eine Kumulationsneigung auf [43]. In klinisch relevanten Dosen führt es zu einer ausgeprägten Vagusblockade und zu einer Freisetzung von Noradrenalin sowie dessen Wiederaufnahmehemmung, was die teils ausgeprägten kardiovaskulären Nebenwirkungen erklärt [88, 101]. Aufgrund seines Eliminationswegs muss sowohl bei Niereninsuffizienz als auch bei Leberfunktionsstörungen mit einer deutlich verlängerten neuromuskulär blockierenden Wirkung gerechnet werden [43, 88, 101]. Außerdem können residuale Blockaden postoperativ zu pulmonalen Komplikationen führen, so dass Motsch, Böttiger und Bock Pancuronium nur für langdauernde Eingriffe mit dem Ziel einer postoperativen Nachbeatmung empfehlen [88]. Die postoperativ auftretende Muskelschwäche wurde in der Arbeit von Kopman, Nig, Zank, Neuman und Yee 1996 kontrovers diskutiert. Sie waren der Auffassung, dass bei einem engmaschigen neuromuskulären Monitoring auch Pancuronium, hier im

Vergleich mit Mivacurium, ausreichend sicher wäre [62]. Aufgrund der oben dargelegten Tatsachen kann es postoperativ zur Kompromittierung des Immunsystems, z.B. durch Sekretverhalt in der Lunge mit konsekutiver Superinfektion, kommen. Hier wäre eine intakte Chemotaxis der Monozyten sicherlich von positiver Bedeutung für eine erste Infektabwehr.

4.5.5. Vecuronium

Vecuronium (Norcuron) [A15] zeigte in unserer Untersuchung in keiner der getesteten Konzentrationen eine signifikante Beeinflussung der Monozytenchemotaxis (s. Kapitel 3.5.).

Es ist ein monoquaternäres Analogon des Pancuronium und wurde als weiteres Aminosteroid – Muskelrelaxans 1978 in die klinische Praxis eingeführt [108]. Es galt als erstes Muskelrelaxans mit einem "sauberen" Wirkprofil wegen seiner ausschließlichen Wirkung auf die cholinergen Rezeptoren der motorischen Endplatten der quergestreiften Muskulatur [22, 87]. Auch heute noch gilt es als sehr sicheres mittellang wirkendes Muskelrelaxans mit praktisch fehlender Kumulation und guter Steuerbarkeit [2, 22, 35]. Vecuronium ist auch in hohen Dosen praktisch frei von kardiovaskulären Nebenwirkungen und hat von allen heute eingesetzten neuromuskulär blockierenden Substanzen die geringste Potenz, Histamin freizusetzen [38, 88, 90]. Es wird vorwiegend hepatobiliär und in geringem Maße renal eliminiert, weshalb es bei Leberinsuffizienz zu einer Wirkungsverlängerung kommen kann [35, 42, 88]. Die Metabolite von Vecuronium weisen ebenfalls neuromuskulär blockierende Wirkung auf und werden renal eliminiert ; hier kann es bei Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz zur Kumulation mit Wirkungsverlängerung kommen [88, 101].

4.5.6. Rocuronium

Rocuronium (Esmeron) [A07] zeigte in unserer Testung in der hohen Konzentration, welche eine Zehnerpotenz über der therapeutisch wirksamen Dosis liegt, eine statistisch signifikante Suppression der Monozytenchemotaxis (s. Kapitel 3.6.). Sowohl die mittlere Konzentration, welche einer therapeutisch wirksamen Dosis entspricht, als auch die niedrige Konzentration, eine Zehnerpotenz unter der therapeutisch wirksamen Dosis, waren gegenüber dem Leerwert nicht signifikant verändert (s. Kapitel 3.6.).

Rocuronium (Esmeron) [A07], ein dem Vecuronium strukturverwandtes, monoquaternäres nichtdepolarisierendes Muskelrelaxans der Aminosteroidgruppe, wurde 1990 in die klinische Anästhesie eingeführt [22, 88, 130]. Es gilt als mittellang wirkender neuromuskulärer Blocker mit rascher Anschlagszeit als hervorstechendes Merkmal gegenüber allen anderen nichtdepolarisierenden Relaxanzien, was seiner geringeren neuromuskulär blockierenden Potenz zugeschrieben wird [7, 22, 88]. Außerdem zeigt es geringe bis fehlende kardiovaskuläre Nebenwirkungen und kaum nachweisbare Histaminliberation [39, 73, 84, 88, 90]. Rocuronium scheint sich als Alternative zu Succinylcholin zur sog. Blitzintubation zu eignen, was allerdings nicht vergleichend untersucht ist [38, 39, 88]. Die Ausscheidung erfolgt unverändert über die Galle und zum kleineren Teil auch über die Niere; es entstehen keine neuromuskulär aktiven Metabolite [30, 38, 39]. Bei Patienten mit schweren Leberfunktionsstörungen muss man durch eine verlängerte Eliminationshalbwertszeit mit einer verzögerten Spontanerholung rechnen [30, 38, 88]. Obwohl Cooper, Maddenini, Mirakhur, Wierda, Brady und Fitzpatrick klinisch eine verlängerte Relaxanswirkung bei Niereninsuffizienz feststellen konnten, waren ihre Ergebnisse statistisch nicht signifikant [20]. Eine verminderte Clearance bei terminaler Niereninsuffizienz wird auch von anderen Autoren bestätigt, hat allerdings auf den zeitlichen Ablauf der neuromuskulären Blockade nur geringe Auswirkungen [26, 30, 34, 38, 88].

Es ist denkbar, dass sowohl die verminderte Clearance als auch die verlängerte Elimination zu einer Kumulation führen könnten, obwohl in der zitierten Literatur hierzu keine Aussagen gemacht wurden. Hier könnte die von uns gezeigte Monozytenhemmung von Bedeutung sein und Anlass dazu geben, den Einsatz von Rocuronium kritischer zu bewerten.

5. Zusammenfassung

5.1. Zusammenfassung

Nach dem Eindringen von Mikroorganismen in den Körper stellt das mononukleäre Phagozytosesystem (MPS) zusammen mit den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten eine der ersten Verteidigungslinien zur Erkennung und Vernichtung der Eindringlinge dar. Die Fähigkeit der Monozyten zur Extravasation und Diapedese, zur Chemotaxis, Phagozytose und Antigenpräsentation lockt sie zum Ort einer Entzündung und lässt sie dort das als fremd erkannte Material eliminieren [55, 107, 108, 116]. Dies beinhaltet einerseits eine immunkompetente Abwehr von Infektionen, kann aber andererseits auch zu unerwünschten immunologischen Reaktionen führen, so zum Beispiel in der postoperativen Phase bei Sepsis, bei Transplantatabstoßungsreaktionen oder bei Autoimmunerkrankungen [1, 3, 75, 76, 80, 94, 127].

Das wissenschaftliche Interesse an diesen Vorgängen hat zahlreiche Untersuchungen veranlasst, die zu einer Vielzahl relevanter Ergebnisse geführt haben. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Untersuchung, welchen Einfluss moderne nichtdepolarisierende Muskelrelaxanzien auf die *In-vitro*-Chemotaxis menschlicher Blutmonozyten nach Stimulation durch fMLP ausüben. Die Medikamente wurden in drei unterschiedlichen Konzentrationen getestet. Ausgehend von einer mittleren Konzentration, deren Wert nach intravenöser Injektion einer therapeutischen Dosis im Blut zu messen ist, wurde eine hohe Konzentration eine Zehnerpotenz über diesem Wert und eine niedrige Konzentration eine Zehnerpotenz unter diesem Wert gewählt. Auf diese Weise wurde versucht, unterschiedlichen Situationen Rechnung zu tragen, die im klinischen Alltag durch eine verminderte Elimination oder durch einen gesteigerten Verbrauch bzw. Abbau auftreten können. Zur Messung der Monozytenchemotaxis bedienten wir uns der von Martinet, Vignaud und Plenat modifizierten Methode von Boyden und benutzten eine 48-well – Chemotaxis Chamber, die sog. Neuroprobe – Chamber [B13], [11, 79].

Die Auswertung der Messungen ergab für :

- Pancuronium (Pancuronium 'Organon') und Vecuronium (Norcuron) bei keiner gemessenen Konzentration eine signifikante Hemmung der Monozytenchemotaxis *in vitro* ($p > 0,05$).
- Rocuronium (Esmeron), Mivacurium (Mivacron), Cisatracurium (Nimbex) und Atracurium (Tracrium) jeweils bei der hohen Konzentration eine signifikante Hemmung der Monozytenchemotaxis *in vitro* ($p \leq 0,001$).
- Atracurium (Tracrium) bei der mittleren Konzentration eine signifikante Hemmung der Monozytenchemotaxis *in vitro* ($p \leq 0,001$).

Keines der getesteten Medikamente führte zu einer statistisch signifikanten Steigerung der *in vitro* gemessenen Monozytenchemotaxis.

Die vermehrte Konfrontation mit immunkompromittierten Patienten, nicht nur in der anästhesiologischen und perioperativen Praxis, sondern auch im klinischen Alltag, unterstreicht die Notwendigkeit, den Einfluss der von Medikamenten und Wirkstoffen vermittelten Immunmodulation zu untersuchen. Hierbei stellt die Chemotaxis von Blutmonozyten nur einen Teilaspekt der Immunregulation dar, von der nicht auf die Gesamtheit der Immunitätslage geschlossen werden kann.

Immerhin legt die vorliegende Studie nahe, dass Atracurium bereits in anästhesiologisch relevanter Konzentration *in vivo* einen immunologisch ungünstigen Effekt haben könnte. Diese Annahme bedarf natürlich einer Überprüfung durch eine klinische Untersuchung, bevor praktische Konsequenzen gezogen werden dürfen.

5.2. Abstract

After the penetration of microorganisms into the body, the mononuclear phagocytic system (MPS) and the polymorphonuclear neutrophil granulocytes (PNG) form the first line of defence for the identification and extermination of the intruders. The ability of monocytes for extravasation and diapedesis, for chemotaxis, phagocytosis and for the presentation of antigens attracts them to the site of inflammation and enables them to eliminate the foreign material [55, 107, 108, 116]. This on the one hand involves an immunocompetent defence against infections, on the other hand it may lead to undesirable immunological reactions as for example in postoperative sepsis, with transplant rejections or with autoimmune diseases [1, 3, 75, 76, 80, 94, 127].

The scientific interest in these processes has given cause for numerous investigations with a great number of relevant results and conclusions.

This dissertation investigates the influence of modern nondepolarizing neuromuscular relaxants on the *in-vitro*-chemotaxis of human blood monocytes after stimulation with fMLP. The agents were tested in three different concentrations, a medium concentration that corresponds to the value to be measured in the bloodstream after the intravenous injection of a therapeutic dose, a high concentration corresponding to a tenfold higher value, and a low concentration corresponding to a tenfold lower value. This accounts for situations of impaired elimination or increased consumption or degradation of the agents.

The chemotaxis of monocytes is measured by Boyden's method modified by Martinet, Vignaud and Plenat using a 48 – well chemotaxis chamber (Neuroprobe – chamber) [B13], [11, 79].

As a result of the analysis we measured for :

- Pancuronium (Pancuronium 'Organon') and Vecuronium (Norcuron) no significant inhibition of the chemotaxis of monocytes *in vitro* in any of the measured concentrations ($p \geq 0.05$).
- Rocuronium (Esmeron), Mivacurium (Mivacron), Cisatracurium (Nimbex) and Atracurium (Tracrium) a significant inhibition of the chemotaxis of monocytes *in vitro* in the high concentration ($p \leq 0.001$).
- Atracurium (Tracrium) a significant inhibition of the chemotaxis of monocytes *in vitro* in the medium concentration ($p \leq 0.001$).

For non of the tested agents did we measure a statistically significant increase in the chemotaxis of monocytes *in vitro*.

The increasing confrontation with anaesthesiological, perioperative and clinical problems caused by immuno – compromised patients emphasizes the necessity to examine the modulatory capacity that drugs and pharmacological agents exert on our immunological system. The chemotaxis of monocytes is only one part of the regulatory aspects of the immunological system. Therefore it does not on it's own lead to a complete representation of these processes but it does, nevertheless, makes an important contribution.

After all, the present study leads to the assumption that even anaesthesiologically relevant concentrations of Atracurium may have an immunologically adverse effect *in vivo*. This assumption, of course, needs to be verified in a clinical study before practical conclusions may be drawn.

6. Verzeichnisse

6.1. Das Literaturverzeichnis

- 1 Adams, DH ; Wang, LF ; Neuberger, JM ; Elias, E (1990) Inhibition of leukocyte chemotaxis by immunosuppressive agents. Transpl. 50 : 845 – 850
- 2 Agoston, S ; Langrehr, D (1981) Neuentwicklungen auf dem Gebiet der Muskelrelaxantien. In : Schriftreihe Intensivmedizin, Notfallmedizin, Anästhesiologie, Hrsg. Buzello, W Nr. 22 : 184 - 188 Thieme Verlag, Stuttgart New York
- 3 Baker, CC ; Miller, CL ; Trunkey, DD ; Lim, RC (1979) Identity of mononuclear cells which compromise the resistance of trauma patients. J. Surg. Res. 26 : 478 – 487
- 4 Bath, PMW (1993) The effect of nitric oxide donating vasodilators on monocyte chemotaxis and intracellular cGMP concentrations in vitro. Eur.J. Clin. Pharmacol. 45 : 53 – 58
- 5 Berlage, F ; Bernauer, W ; Philipsborb, W von ; Waser, P ; Schmid, H ; Karrer, P (1959) Notiz zur Synthese des C-Toxiferins I aus Wieland-Gumlich-Aldehyd. Helv. Chim. Acta 42 : 394 – 397
- 6 Bernard, C (1851) Action de curare et de la nicotine sur le systeme nerveux et sur le systeme musculaire. C. R. Soc. Biol. 2 : 195
- 7 Bock, M ; Klippel, B ; Nitsche, B ; Bach, A ; Martin, E ; Motsch, J (2000) Rocuronium potency and recovery characteristics during steady-state desflurane, sevoflurane, isoflurane or propofol anaesthesia. Br. J. Anaesth. 84 : 43 – 47
- 8 Bolton, CF (1993) Neuromuscular complications of sepsis. In : Pollad, BJ ; Bion, JF (Hrsg) Neuromuscular blocking agents in Intensiv Care. Int. Care Med. 19, Suppl. 2 : 58 - 63

- 9 Bovet, D ; Bovet-Nitti, F ; Guarino, S ; Longo, VG ; Marotta, M (1949) Proprieta farmacodinamiche di alcuni derivati della succinilcolina dotati di azione curarica. Rend. Ist. Sup. San. 12 : 106 – 110
- 10 Bovet, D ; Depierre, F ; Lestrangé, Y de (1947) Proprietes curarisantes des éthers phenoliques a fonctions ammonium quaternaire. Compt. Rend. Acad. Sci. 225 : 74 – 76
- 11 Boyden, S (1962) The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. J. Exp. Med. 115 : 453 – 466
- 12 Böyum, A (1968) Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. 97 : 77 – 89
- 13 Brodie, BC (1811) Experiments and observations on the different modes in which death is produced by certain vegetable poisons. Philos. Trans. Roy. Soc. 101 : 194
- 14 Brücke, F (1955) - Zit. bei Paton (siehe dort)
- 15 Brücke, H ; Ginzé, KH ; Klupp, H ; Pfaffenschlager, F ; Werner, G (1951) Bischolester von Dicarbonsäuren als Muskelrelaxantien in der Narkose. Wien. Klin. Wochenschr. 63 : 464 – 467
- 16 Buzello, W (1975) Der Stoffwechsel von Pancuronium beim Menschen. Anaesthesist 24 : 13 – 18
- 17 Caldwell, JE ; Heier, T ; Kits, JB ; Lynam, DP ; Fahey, MR ; Miller, RD (1989) Comparison of the neuromuscular block induced by mivacurium, suxamethonium or atracurium during nitrous oxide - fentanyl anaesthesia. Br. J. Anaesth. 63 : 393 – 399
- 18 Chanimov, M ; Berman, S ; Weissgarten, J ; Averbukh, Z ; Cohen, M ; Grinshpun, Y (2000) Substances used for local and general anaesthesia in major surgery suppress proliferative responsiveness of normal rat peripheral blood mononuclear cells in culture. Eur. J. Anaesth. 17 : 248 – 255

- 19 Cook, DR ; Freeman, JA ; Lai, AA ; Kang, Y ; Stiller, RL ; Aggarwal, S ; Harrelson, JC ; Welch, RM ; Samara, B (1992) Pharmacokinetics of Mivacurium in normal patients and in those with hepatic or renal failure. Br. J. Anaesth. 69 : 580 – 585
- 20 Cooper, RA ; Maddineni, VR ; Mirakhur, RK ; Wierda, JMKH ; Brady, M ; Fitzpatrick, KTJ (1993) Time course of neuromuscular effects and pharmacokinetics of Rocuronium bromide (ORG 9426) during isoflurane anaesthesia in patients with and without renal failure. Br. J. Anaesth. 71 : 222 – 226
- 21 Crul, JF (1968) Studies on new steriod relaxants. Proc. Fourth World Congress of Anaesthesiologists, London 1968, Ed. Excerpta Medica
- 22 Crul, JF (1996) Introduction. In : Crul, JF (Hrsg) Clinical aspects of rocuronium bromide. Interface Communication Service Organon Technika, Turnhout, Belgium
- 23 Cullen, SC (1943) The use of curare for the improvement of abdominal muscle relaxation during inhalation anaesthesia. Surgery 14 : 261 – 264
- 24 D'Anghiera, PM (1516) De rebus oceanicis et novo orbe.
- 25 Dardel, O von ; Thesleff, S (1952) Clinical experience with succinylcholins iodide. A new muscle relaxant. Curr. Res. Anaesth. Analg. 31 : 250 – 252
- 26 De Almeida, MCS ; Latorre, F ; Gervais, HW ; Kleemann, PP (1996) Die Wirkung des Alters auf Anschlagzeit und Erholung nach Atracurium, Rocuronium und Vecuronium. Anaesthesist 45 : 903 – 906
- 27 De Wolf, AM ; Freeman, JA ; Scott, VL ; Tullock, W ; Smith, DA ; Kisor, DF ; Kerls, S ; Ryan Cook, D (1996) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Cisatracurium in patients with end-stage liver disease undergoing liver transplantation. Br. J. Anaesth. 76 : 624 – 628

- 28 Diefenbach, C (1997) Mivacurium und Cisatracurium : Neue Muskelrelaxantien für die Anästhesie. In : Schölmerich, P ; Mutschler, E ; Thews, G (Hrsg) Arzneimitteltherapie 3, 15. Jg. : 65 – 68
- 29 Diefenbach, C ; Buzello, W (1996) Neue Muskelrelaxanzien. AINS 31 : 2 – 8
- 30 Diefenbach, C ; Nigrovic, V ; Mellinghoff, H ; Buzello, W (1997) Muskelrelaxantien : Neue Substanzen und neuromuskuläres Monitoring. Anaesthesist 43 : 3 – 13
- 31 Doenicke, A ; Sourkup, J ; Hoernecke, R ; Moss, J (1997) The lack of histamine release with Cis-Atracurium : a double-blind comparison with Vecuronium. Anaest. Analg. 84 : 623 - 628
- 32 Dwyer, JM (1995) Immunology : A historical perspective. 1 - 11. In : Sigal, LH ; Ron, Y Immunology and Inflammation - Basic mechanisms and clinical consequences. McGraw-Hill Verlag, New York London Tokyo
- 33 Eastwood, NB ; Boyd, AH ; Parker, CJR ; Hunter, JM (1995) Pharmacokinetics of 1R-cis 1'R-cis Atracurium besylate (51W89) and plasma Laudanosine concentrations in health and chronic renal failure. Br. J. Anaesth. 75 : 431 – 435
- 34 Eriksson, LI (1996) Esmeron for procedures of long duration. In : Crul, JF (Hrsg) Clinical aspects of rocuronium bromide. Interface Communication Service Organon Technika, Turnhout, Belgium
- 35 Fahey, MR ; Morris, RB ; Miller, RD ; Nguyen, T-L ; Upton, RA (1981) Pharmacokinetics of NC 45 (Norcuron) in patients with and without renal failure. Br. J. Anaesth 53 : 1049 - 1053
- 36 Fahey, MR ; Rupp, SM ; Fisher, DM ; Miller, RD ; Sharma, M ; Canfell, C ; Castagnoli, K ; Hegnis, PJ (1984) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of Atracurium in patients with and without renal failure. Anaesthesiology 61 : 699 - 702

- 37 Falk, W ; Goodwin RH ; Leonard EJ (1980) A 48-well chemotaxis assembly for rapid and accurate measurement of leukocyte migration. J. Immunol. Methods 33 : 239 – 247
- 38 Fuchs-Buder, T (1997) Neue Muskelrelaxantien : Update Mivacurium, Rocurinium, Cis-Atracurium. Anaesthesist 46 : 350 – 359
- 39 Gebrauchsinformation und Fachinformation : Esmeron ; Organon Technika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim, Germany
- 40 Gebrauchsinformation und Fachinformation : Mivacron ; Glaxo Smith Kline GmbH & CO KG, Germany
- 41 Gebrauchsinformation und Fachinformation : Nimbex ; Glaxo Smith Kline GmbH & CO KG, Germany
- 42 Gebrauchsinformation und Fachinformation : Norcuron ; Organon Technika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim, Germany
- 43 Gebrauchsinformation und Fachinformation : Pancuronium 'Organon' ; Organon Technika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim, Germany
- 44 Gebrauchsinformation und Fachinformation : Tracrium ; Glaxo Smith Kline GmbH & CO KG, Germany
- 45 Graham, EA (1911) The influence of ether and ether anaesthesia on bacteriolysis, agglutination and phagocytosis. J. Infect. Diseases 8 : 147
- 46 Gray, TC ; Halton, JA (1946) D-tubocurarine chloride in clinical anaesthesia. Proc. Roy. Soc. Med. 39 : 400
- 47 Griffith, HR ; Johnson, GE (1942) The use of curare in general anaesthesia. Anaesthesiology 3 : 418
- 48 Grotendorst GR (1987) Spectrophotometric assay for the quantification of cell migration in the Boyden-chamber chemotaxis assay. Meth. Enzym. 147 : 144 – 152

- 49 Harvath, L ; Falk, W ; Leonnard, EJ (1980) Rapid quantitation of neutrophil chemotaxis : A polyvinylpyrrolidone-free polycarbonate membrane in a multiwell assembly. J. Immunol. Methods 37 : 39 – 45
- 50 Head-Rapson, AG ; Devlin, JC ; Parker, CJR ; Hunter, JM (1994) Pharmacokinetics of the three isomers of Mivacurium and pharmacodynamics of the chiral mixture in hepatic cirrhosis. Br. J. Anaesth. 73 : 613 – 618
- 51 Holland, SM ; Gallin, JI (2005) Disorders of granulocytes and monocytes. In : Kasper, DL ; Braunwald, E ; Fauci, AS ; Hauser, SL ; Longo, DL ; Jameson, JL (Hrsg.) Harrison`s Principles of Internal Medicine. 349 - 357, Chpt. 55, 16th Edition, McGraw - Hill Book Company, New York
- 52 Hügin, W ; Kissling, P (1961) Vorläufige Mitteilung über ein neues kurzwirkendes Relaxans vom depolarisationshindernden Typus. Schweiz. Med. Wochenschr. 91 : 455 – 456
- 53 Humboldt, A von (1804) - Zit. bei Bernard, C (1964) Etudes physiologiques sur quelques poisons americains. Rev. Deux Mondes 53 : 164 - 190
- 54 Humboldt, A von ; Bonpland, A (1814) Voyage aux regions equinoxiales du nouveau continent fait en 1799 - 1804. VII, VIII, Paris 1814 – 1819
- 55 Humphrey, JH ; White, RG (1972) Kurzes Lehrbuch der Immunologie. (2. Aufl.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- 56 Jinquan, T ; Reimert, CM ; Deleuran, B ; Zachariae, C ; Simonsen, C ; Thestrup-Pedersen, K (1995) Cetirizine inhibits the in vitro and ex vivo chemotactic response of T-lymphocytes and monocytes. J. Allerg. Clin. Immunol. 95 : 979 – 986
- 57 Johnston, RB (1988) Current concepts: Immunology - Monocytes and Macrophages. New Engl. J. Med. 318 : 747 – 752

- 58 Keller, HU ; Wilkinson, PC ; Abercrombie, M ; Becker, EL ;
Hirsch, JG ; Miller, ME (1977) A proposal for the definition of
terms related to locomotion of leukocytes and other cells. J.
Immunol. 118 : 1912 – 1914
- 59 Kharazmi, A ; Nielsen, H (1991) Inhibition of human monocyte
chemotaxis and chemiluminescence by *Pseudomonas*
aeruginosa elastase. APMIS 99 : 93 – 95
- 60 King, H (1935) Curarealkaloids I : Tubocurarine, J. Chem. Soc.
57 : 1381
- 61 Kisor, DF ; Schmith, VD ; Wargin, WA ; Lien, CA ; Ornstein, E ;
Cook, DR (1996) Importance of the organ- independent
elimination of Cisatracurium. Anesth. Analg. 83 : 1065 - 1071
- 62 Kopman, AF ; Ng, J ; Zank, LM ; Neuman, GG ; Yee, PS (1996)
Residual postoperative Paralysis : Pancuronium versus
Mivacurium, does it matter ? Anesthesiology 85 : 1253 – 1259
- 63 Koundourakis, T ; Hoffmann, F ; Theisohn, M ; Diefenbach, C ;
Süverkrüp, R ; Abel, M ; Klaus, W (1996) Pharmacokinetics and
pharmacodynamics of Atracurium and its metabolite
Laudanosine in cardiac surgery involving cardio- pulmonary
bypass with induced hypothermia. Clin. Drug Invest.12 : 188 –
197
- 64 Krieg, N ; Hofmockel, R (1992) Anwendung von kompetitiven
Muskelrelaxanzien. In : Benad, G ; Hofmockel, R (Hrsg.) 50
Jahre Muskelrelaxantien. Springer Verlag, Berlin Heidelberg
New York
- 65 Krumholz, W ; Abdulle, O ; Knecht, J ; Hempelmann, G (1999)
Effects of i.v. anaesthetic agents on the chemotaxis of
eosinophils in vitro. Br. J. Anaesth. 83 : 333 – 335
- 66 Krumholz, W ; Endrass, J ; Hempelmann, G (1995) Inhibition of
phagocytosis and killing of bacteria by anaesthetic agents in
vitro. Br. J. Anaesth. 75 : 66 – 70
- 67 Krumholz, W ; Reussner, D ; Hempelmann, G (1999) The
influence of several intravenous anaesthetics on the chemotaxis
of human monocytes in vitro. Eur. J. Anaesth. 16 : 547 – 549

- 68 Krumholz, W ; Stubbe, K ; Szalay, G (2002) Der Einfluss verschiedener in der Intensivmedizin adjuvant eingesetzter Medikamente auf die Monozyten-Chemotaxis. Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzth. 37 : 463 – 467
- 69 Krumholz, W ; Weidenbusch, H ; Menges, T ; Keller, G ; Hempelmann, G (2001) The influence of intravenous anaesthetics on the activity of enzymes released from polymorphonuclear leukocytes in vitro. Eur.J.Anaesth. 18 : 151 - 158
- 70 Lacroix, M ; Donati, F ; Varin, F (1997) Pharmacokinetics of mivacurium isomers and their metabolites in healthy volunteers after intravenous bolus administration. Anesthesiology 86 : 322 – 330
- 71 Langermans, JAM ; Hazenbos, WLW, van Furth, R (1994) Antimicrobial functions of mononuclear phagocytes. J. Immunol. Meth. 174 : 185 – 194
- 72 Larsen, R (2002) Anästhesie (7. Aufl.). Urban & Fischer Verlag, München Jena
- 73 Levi, JH ; Davis, G ; Duggan, J ; Szlam, F (1994) Determination of the haemodynamics and the histamine release of rocuronium (ORG 9426) when administered in increased doses under N₂O/O₂ - sufentanil anaesthesia. Anaesth. Analg. 78 : 318 – 321
- 74 Lien, CA ; Belmont, MR ; Abalos, A ; Eppich, L ; Quessy, S ; Abou-Donia, MM ; Savarese, JJ (1995) The cardiovascular effects and histamine-releasing properties of 51W89 in patients receiving nitrous oxide/opioid/barbiturate anaesthesia. Anesthesiology 82 : 1131 – 1138
- 75 Locatelli, L ; Sacerdote, P ; Panerai, AE (1992) Effects of indomethacin and diclofenac on substance P induced chemotaxis of human monocytes and polymorphonuclear cells. Pharmacol. Res. 25, Suppl. 1 : 97 – 98
- 76 Loop, T (2003) Das Immunsystem : Grundlagen und Modulation durch Anästhetika. Anästh. & Intensivmed. 44 : 53 – 67

- 77 Lysakowski, C ; Fuchs-Buder, T ; Tassonyi, E (2000) Mivacurium or Vecuronium for paediatric ENT surgery : Clinical experience and cost analysis. *Anaesthesist* 49 : 387 - 391
- 78 Maddineni, VR ; Mirakhur, EP , McCoy, EP , Sharpe, TDE (1994) Neuromuscular and haemodynamic effects of Mivacurium in elderly and young patients. *Br. J. Anaesth.* 73 : 608 – 612
- 79 Martinet, N ; Martinet, Y ; Vignaut, JM ; Plenat, F (1994) Blood monocyte chemotaxis. *J. Immunol. Meth.* 174 : 209 – 214
- 80 Martinez, JG ; Murakami, SI ; Scheinberg, MA (1986) The effect of isoxicam on neutrophil and monocyte function. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 22, Suppl. 2 : 117 S - 119 S
- 81 Matzner, Y ; Marx, G ; Drexler, R ; Eldor, A (1984) The inhibitory effect of heparin and related glycosaminoglycans on neutrophil chemotaxis. *Thromb. Haemostas.* 52 : 134 – 137
- 82 Mayrhofer, O (1992) Zur Geschichte der Muskelrelaxantien. In : Benad, G ; Hofmockel, R (Hrsg.) 50 Jahre Muskelrelaxantien. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York
- 83 Mayrhofer, O ; Hassfurth, M (1951) Kurzwirkende Muskelerlähfungsmittel. Selbstversuche und klinische Erprobung am narkotisierten Menschen. *Wien. Klin. Wochenschr.* 63 : 885 – 889
- 84 McCoy, EP ; Maddineni, VR ; Elliot, P ; Mirakhur, RK ; Carson, IW ; Cooper, RA (1993) Haemodynamic effects of rocuronium during fentanyl anaesthesia : a comparison with vecuronium. *Can. J. Anaesth.* 40 : 703 - 708
- 85 Mellinghoff, H ; Diefenbach, Ch (1997) Die klinische Pharmakologie von Cisatracurium. *Anaesthesist* 46 : 481 - 485
- 86 Mencke, T ; Soltesz, S ; Grungmann, U ; Bauer, M ; Schlaich, N ; Larsen, R ; Fuchs-Buder, T (2000) Einfluss des Geschlechts auf den Verlauf der neuromuskulären Blockade nach Rocuronium. *Anaesthesist* 49 : 609 – 612

- 87 Morris, RB ; Cahalan, MK ; Miller, RD (1983) The cardiovascular effects of vecuronium (ORG NC 45) and pancuronium in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 58 : 438 – 440
- 88 Motsch, J ; Böttinger, BW ; Bock, M (2001) Muskelrelaxantien - Pharmakologie und klinischer Einsatz. *Anästh. & Intensivmed.* 42 : 237 – 253
- 89 Müller, J ; Müller – Hermelink, HK (2004) Entzündung. Kap. 6 : 147 – 158. In: Roessner, A ; Pfeifer, U ; Müller – Hermelink, HK (Hrsg.) *Grundmann Einführung in die allgemeine Pathologie.* Urban & Fischer Verlag, München Jena
- 90 Naguib, M ; Samarkandi, AH ; Bakhamees, HS ; Magboul, AM, El-Bakry, A (1995) Histamine-release haemodynamic changes produced by rocuronium, vecuronium, mivacurium, atracurium and tubocurarine. *Br. J. Anaesth.* 75 : 588 – 592
- 91 Neidhart, G ; Pabelick, C ; Kuhn, I ; Leuwer, M ; Vettermann, J (1996) Einfluss von Halothan, Enfluran, Isofluran auf die Pharmakodynamik von Mivacurium bei Kindern. *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 31 : 293 – 297
- 92 Nielsen, H (1987) Antibiotics and human monocyte function : I. Chemotaxis. *Acta path. Microbiol. Immunol. Scand., Sect. B*, 95 : 293 – 296
- 93 Nielsen, H ; Bennedsen, J (1983) Effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on human monocyte chemotaxis in vitro. *Immunopharmacol.* 5 : 259 – 265
- 94 Nielsen, H ; Koch, K (1987) Anti-inflammatory action of Fenflumizole in man : suppression of monocyte chemotaxis ex vivo. *Pharmacol. & Toxicol.* 60 : 397 – 398
- 95 Nielsen, H ; Larsen, SO (1983) Human monocyte chemotaxis in vitro. Influence of in vitro variables in the filter assay. *Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect. C* 31 : 109 – 115
- 96 Nigrovic, V ; Diefenbach, C ; Mellinghoff, H (1997) Ester und Stereoisomere. *Anaesthesist* 46 : 282 – 286

- 97 Parker, CJR ; Hunter, JM ; Snowdon, SL (1993) Effect of age, gender and anaesthetic technique on the pharmacodynamics of Atracurium. Br. J. Anaesth. 70 : 38 – 41
- 98 Paton, WDM (1956) Mode of action of neuromuscular blocking agents. Br. J. Anaesth. 28 : 470 – 473
- 99 Pichlmayr, J ; Jaeger, K (2003) Entwicklung zur modernen Anästhesie im 20. Jahrhundert. In : Kompendium Anästhesiologie: Standards und Entwicklungen III, 1.3 : 3, eco - Med Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lech
- 100 Platania (1890) Dell` influenza del sistema nervoso sulle infezioni. Giorn. Intern. d. scien. Med. No. 12
- 101 Pollard, BJ (1993) Which drug - steroid or benzyloquinolinium ? In : Pollard, BJ ; Bion, JF (Hrsg) Neuromuscular blocking agents in Intensiv Care. Int. Care Med. 19, Suppl. 2 : 86 – 90
- 102 Produktmonographie : Esmeron (Rocuroniumbromid). Organon Technika Medizinische Produkte, D-69214 Eppelheim
- 103 Radermecker, M ; Bury, T ; Saint-Remy, P (1989) Effect of Histamine on chemotaxis and phagocytosis of human alveolar macrophages and blood monocytes. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 88 : 197 – 199
- 104 Raleigh, W (1596) The discovery of the large, rich and beautiful empire of Guyana.
- 105 Rauch, H ; Jung, I ; Fleischer, F ; Bauer, H ; Martin, E ; Motsch, J (2001) Cisatracurium bei Koronarbypassoperationen - ein Vergleich mit Pancuronium : Hämodynamische und neuromuskuläre Effekte bei Patienten unter chronischer β -Blockertherapie. Anaesthesist 50 : 87 - 93
- 106 Reinisch, N ; Sitte, BA ; Kähler, CM ; Wiedermann, CJ (1994) Human chorionic gonadotropin : a chemoattractant for human blood monocytes, neutrophils and lymphocytes. J. Endocrin. 142 : 167 – 170
- 107 Roitt, IM (2001) Leitfaden der Immunologie (6. Aufl.). Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin

- 108 Roitt, IM ; Brostoff, J ; Male, DK (1997) Kurzes Lehrbuch der Immunologie (3. Aufl.). Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York
- 109 Savage, DS ; Sleight, T ; Carlyle, I (1980) The emergence of ORG NC 45, 1- (2-beta, 3-alpha, 5-alpha, 16-beta, 17-beta)-3,17- bis- (acetyloxi)-2- (1-piperidiny)- androstan- 16-yl- 1-methylpiperidinium- bromide, from the pancuronium series. Br. J. Anaesth., Suppl. 52 : 3 S - 9 S
- 110 Saxon, A ; Morledge, VD ; Bonavida, B (1977) Histamine-receptor leukocytes (HRL): Organ and Lymphoid subpopulation distribution in man. Clin. Exp. Immunol. 28 : 394 – 399
- 111 Schaer, H (1973) Kreislaufwirkungen von nicht depolarisierenden Muskelrelaxantien, 1.7.: Pancuronium. Anaesthesiologie und Wiederbelebung 63. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York
- 112 Schubert, GE ; Bethke, BA (1981) Lehrbuch der Pathologie. Walter de Gruyter Verlag, Berlin New York
- 113 Searle , NR ; Thomson, I ; Dupont, C ; Cannon, JE ; Roy, M ; Rosenbloom, M ; Gagnon, L ; Carrier, M (1999) A two-centered study evaluating the haemodynamic and pharmacodynamic effects of Cisatracurium and Vecuronium in patients undergoing coronary artery bypass surgery. J. Cardiothor. Vasc. Anaesth. 13 : 20 – 25
- 113a Sietes, C ; Beelen, RH ; Meijer, S ; Cuesta, MA (1999) Immunological consequences of laparoscopic surgery, speculations on the cause and clinical implications. Langenbecks Arch. Surg. 384 (3) : 250 – 258
- 114 Smith, CJ ; Edwards, AE ; Gower, DE ; Ferguson, BJM ; Williams, CP (1992) Leukocyte migration : Effect of in vitro exposure to anaesthetic agents : possible potentiation by adrenaline. Eur. J. Anaesth. 9 : 463 – 472

- 115 Snyderman, R ; Altman, LC ; Hausman, MS ; Mergenhagen, SE (1972) Human mononuclear leukocyte chemotaxis : A quantitative assay for humoral and cellular chemotactic factors. J. Immunol. 108 : 857
- 116 Sperber, K (1994) Mononuclear phagocytic cells. 319 – 335. In : Sigal, LH ; Ron, Y Immunology and Inflammation - Basic mechanisms and clinical consequences. McGraw-Hill Verlag, New York London Tokyo
- 117 Statistikprogramm BIOMED plus von Kolles, H (1988) Ein System zur statistischen Analyse biomedizinischer Daten. Jungjohann Verlags- GmbH, Neckarsulm
- 118 Tanner, AR ; Halliday, JW ; Powell, LW (1980) Effect of long-term corticosteroid therapy in man. Scand. J. Immunol. 11 : 335 – 340
- 118a Tatsumi, H ; Ura, H ; Ikeda, S ; Yamaguchi, K ; Katsuramaki, T ; Asai, Y ; Hirata, K (2003) Surgical influence on Th1/Th2 balance and monocyte surface antigen expression and it's relation to infectious complications. World J. Surg. 27 (5) : 522 – 528
- 119 Ternowitz, T (1985) Human monocyte and neutrophil chemotaxis in vitro employing ⁵¹Cr-labelled Leukocytes. Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect. C 93 : 189 - 193
- 120 Ternowitz, T ; Herlin, T ; Fogh, K (1987) Human monocyte and polymorphonuclear leukocyte chemotactic and chemokinetic responses to leukotriene B4 and fMLP. Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect. C 95 : 47 - 54
- 121 Van Damme, J ; Conings, R (1991) Assays for chemotaxis. In : Balkwill, FR (Ed.) Cytokines, a practical approach. Oxford University Press : 137 – 140
- 122 Van den Broek, PJ (1989) Antimicrobial drugs, microorganisms and phagocytes. Rev. Infect. Dis., 11 : 213 – 245
- 123 Van der Veen, F ; Bencini, A (1980) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ORG NC 45 in man. Br. J. Anaesth. 52 : 37S - 41S

- 124 Ward, S ; Boheimer, N ; Weatherley, BC ; Simmonds, RJ ; Dopson, TA (1987) Pharmacokinetics of atracurium and its metabolites in patients with normal renal function and in patients with renal failure. Br. J. Anaesth. 59 : 697 – 706
- 125 Waser, PG ; Harbeck, P (1962) Pharmakologie und klinische Anwendung des kurzdauernden Muskelrelaxans Diallyl-nor-Toxiferin. Anaesthesist 11 : 33 – 35
- 126 Waterton, C (1825) Wanderings in South America. Ed. Nelson & Sons, London 1825. In : Symposium on Charles Waterton. 1983, Br. J. Anaesth. 55 : 221
- 127 Weigand, MA ; Bardenheuer, HJ ; Böttiger, BW (2003) Klinisches Management bei Patienten mit Sepsis. Anaesthesist 52 : 3 – 22
- 128 Welch, RM ; Brown, A ; Ravitch, J ; Dahl, R (1994) The in vitro degradation of cisatracurium, the R -cis -R´ -isomer of atracurium, in human and in rat plasma. Clin. Pharmacol. Ther. 58 : 132 – 142
- 129 Wiedermann, CJ ; Rheinisch, N ; Braunsteiner, H (1993) Stimulation of monocyte chemotaxis by human growth hormone and its deactivation by somatostatin. Blood 82 : 954 – 960
- 130 Wierda, JMKH (1996) Rocuronium for muscle relaxation in ambulatory patients. In : Crul, JF (Hrsg) Clinical aspects of rocuronium bromide. Interface Communication Service Organon Technika, Turnhout, Belgium
- 131 Zakhireh, B ; Malech,HL (1980) The effect of colchicine and vinblastine on the chemotactic response of human monocytes. J. Immunol. 125 : 2143 – 2153
- 132 Zigmond, SH ; Hirsch, JG (1973) Leukocyte locomotion and chemotaxis : New methods for evaluation, and demonstration, of a cell-derived chemotactic factor. J. Exper. Med.137 : 387 – 410
- 133 Zigmond, SH ; Hirsch, JG (1977) Ability of polymorphonuclear leukocytes to orient in gradients of chemotactic factors. J. Cell. Biol. 75 : 606 – 616

6.2. Das Lösungen – und Medikamentenverzeichnis

A01	Albumin, bovine, clinical reagent grade 98%, fatty acid free, ICN Biomedicals GmbH, D-37269 Eschwege, Deutschland
A02	Diff- Quick Fixativ Solution, rapid differential hematology staining, fast green in Methanol 0,0020g/l, 500 ml, Dade Behring AG, CH-3186 Düringen, Switzerland
A03	Diff- Quick Stain Solution I , Eosin G in Phosphat Buffer (pH 6,6) 1,22 g/l, 500 ml, Dade Behring AG, CH-3186 Düringen, Switzerland
A04	Diff-Quick Stain Solution II, Thiazine Dye in Phosphat Buffer (pH 6,6) 1,1 g/l, 500 ml, Dade Behring AG, CH-3186 Düringen, Switzerland
A05	Dulbecco's MED, modified eagles medium without sodium pyrovate, 500 ml, Life Technologies Overseas GmbH, Technologiepark Karlsruhe, 76131 Karlsruhe, Deutschland
A06	Dulbecco's PBS, phosphate buffered saline without sodium bicarbonate, 500 ml, Life Technologies Overseas GmbH, Technologiepark Karlsruhe, D-76131 Karlsruhe, Deutschland
A07	Esmeron, 50 mg Rocuronium / 5 ml Ampulle, fertige Injektionslösung, Organon Technika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim, Germany
A08	Hautdesinfiziens, Cutasept F, farblos, Bode Chemie, D-22525 Hamburg, Deutschland
A09	Heparin - Natrium 25000 ratiopharm, 5 ml Stechampullen, Ratiopharm GmbH, D - 89079 Ulm
A10	Isotonische Natriumchlorid - Lösung 0,9%, 50 ml Stechampulle, 100 ml Stechampulle, Delta Pharma GmbH, D-72793 Pfullingen, Deutschland
A11	Lymphoprep, 10 x 100 ml, Life Technologies Overseas GmbH, Technologiepark Karlsruhe, D-76131 Karlsruhe, Deutschland
A12	Mivacron, 10 mg Mivacurium / 5 ml Ampulle, fertige Injektionslösung, Glaxo Smith Kline GmbH & CO KG, Germany

- A13 N-Formyl-Met-Leu-Phe, 50 mg, Purity 98%, Sigma - Aldrich Chemie GmbH, D-82024 Taufkirchen, Deutschland
- A14 Nimbex, 10 mg Cisatracurium / 5 ml Ampulle, fertige Injektionslösung, Glaxo Smith Kline GmbH & CO KG, Germany
- A15 Norcuron, 10 mg Vecuroniumbromid in 217 mg Trockensubstanz, entsprechend 10 mg Vecuroniumtrockensubstanz / Stechampulle, Organon Technika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim, Germany
- A16 Pancuronium "Organon", 4 mg Pancuronium / 2 ml Ampulle, fertige Injektionslösung, Organon Technika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim, Germany
- A17 Tracrium, 50 mg Atracurium / 5 ml Ampulle, fertige Injektionslösung, Glaxo Smith Kline GmbH & CO KG, Germany
- A18 Trypanblue Solution cell culture tested 0,4%, 100 ml, steril, Sigma - Aldrich Chemie GmbH, D-82024 Taufkirchen, Deutschland
- A19 Türks Lösung (Essigsäure - Gentianaviolett), 500 ml, steril, Fa. Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Deutschland
- A20 Wasser für Injektionszwecke, 100 ml Stechampullen, SmithKline Beecham Pharma GmbH, D-80791 München, Deutschland

6.3. Das Materialverzeichnis

B01	Black-Cap Röhre 13 ml, PS, steril, Fa. Sarstedt AG&Co, D-51588 Nümbrecht, Deutschland B4
B02	Cell-Dyn 3500 Differenzialblutbildmeßgerät, Abbott-Diagnostika, Fa. Abbott GmbH, Max-Planck-Ring 2, D-65205 Wiesbaden-Delkenheim, Deutschland
B03	Einmalhandschuhe, Safeskin satin plus, powderfree latex exam gloves, large, Safeskin Corp., San Diego, California 92130, USA
B04	Einmalhandschuhe, steril, Manex ultra, puderfreie OP-Handschuhe aus Latex, Beiersdorf AG, D-20245 Hamburg, Deutschland
B05	Einmal-Injektionskanülen, Sterican 20 G, Luer-Lock, Gr.1 Dünnwand, Fa. B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen, Deutschland
B06	Einmalspritzen, steril, Injekt Luer Solo, 10ml, 5 ml, 2 ml, Fa. B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen, Deutschland
B08	Inkubator Mod 600, Memmert GmbH+CoKG, D-91126 Schwabach, Deutschland
B09	Isopore Membrane Filters, 5,0 µm TMTP, Fa. Millipore, Ireland
B10	Laminarflow - Anlage LF - Reinraum, Beck und Thies GmbH, Reinraumtechnik, D-40764 Langenfeld, Deutschland
B11	Menzel-Gläser, Deckgläser für Mikroskopie, 18 x 18 mm
B12	Menzel-Gläser, Objektträger für Mikroskopie, geputzt, 76 x 26 mm
B13	Mikrochemotaxiskammer, Neuroprobe - chamber, P-48 forceps, P-48 large filter clamp, P-48 wiper, P-48 stainless steel filter clipsskop, Fa. Neuroprobe Inc. , PO Box 400, Cabin John, MD 20818, USA
B14	Mikroskop, Leitz Dialux 20, Laboratoriums- und Forschungsmikroskop, Fa. Leitz, Deutschland
B15	Neubauer Zählkammer, Tiefe 0,100 mm ² ; 0,0025 mm ²

B16	Nobatop Vliesstoffkompressen, 5 x 5 cm, steril, Noba Verbandmittel Danz GmbH u. Co KG, D-58300 Wetter, Deutschland
B17	Omnifix 40 Solo Spritze, U-40 Insulin, 1 ml /40 I.U., Luer, B. Braun Petzold GmbH, D-34212 Melsungen, Deutschland
B18	Pipetten, Eppendorf- Reference, 1 µl, 5 µl, 20 µl, 25 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl, 1000 µl, Fa. Eppendorf- Netheler- Hinz GmbH, D-22331 Hamburg, Deutschland
B19	Pipettenspitzen, 2,5 µl Nanotip, 20 µl Cristal, 100 µl Yellow, 300 µl Yellow, 1000 µl Blue, Fa. Eppendorf- Netheler- Hinz GmbH, D-22331 Hamburg, Deutschland
B20	Präzisionswaage Mettler, AT 460 Delta Range, Fa. Mettler, CH-8606 Greifensee, Schweiz
B21	Pur - Zellin Zellstofftupfer, 4 x 5 cm, Paul Hartmann AG, D-89522 Heidenheim, Deutschland
B22	Venenpunktionsbesteck W.I.N. 21G, E 633-A 05 (Butterfly-Kanüle), Fa. Abbot Ireland, IRL- Sligo, Rep. of Ireland
B23	Vitrex Ringmarkenpipetten 5 µl, 10 - 200 µl (Kapillarröhrchen)
B24	Zentrifuge, Hettich Rotixa / P, No. 4201 , Fa. Hettich, D-78532 Tuttlingen, Deutschland

6.4. Das Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
12- HETE	12- hydroxyeicosatetraenoic acid
Abb	Abbildung
AP - 1	activator protein 1
ASA	American society of Anesthesiology
BSA	bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
C3a, -3b, -5a	Komplementfraktion 3a, -3b, -5a
ca.	circa
CSF	colony- stimulating factor
d.h.	das heisst
DMEM	Dulbecco´s modified eagle medium
ehem.	ehemalig
etc.	et cetera
FIM	factor increasing monocytopoiesis
fMLP	N- formyl- Methionyl- leucyl- phenylalanin
fMP	N- formyl- Methionyl- phenylalanin
g	Gramm
g	Gravity
GM - CFU	Granulocyte - Monocyte colony- forming unit
H ₁	Histaminrezeptor 1
H ₂	Histaminrezeptor 2
hCG	human chorionic gonadotropin
hGH	human growth hormone, Wachstumshormon
HPF	high power fields
I.E.	internationale Einheiten
i.v.	Intravenös
Ig	Immunglobulin
Ig M, Ig G	Immunglobulin M, -G

IL 1, -4 , etc.	Interleukin 1, -4, etc.
INF gamma	Interferon gamma
kg	Kilogramm
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
LTB 4	Leukotrien B4
M - CSF	Monocyte - Macrophage colony- stimulating factor
MCP- 1	Monocyte chemotactic protein 1
mg	Milligramm
MHC	major histocompatibility complex
min.	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mosm	Milliosmol
MPS	Mononukleäres Phagozytosesystem
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid Lösung, Kochsalzlösung
NFAT	nuclear factor of activated T- cells
NF-kappa B	nuclear factor kappa B
ng	Nanogramm
PVP	Polyvinylpyrrolidon
Q.	Quadrant
RES	Retikuloendotheliales System
s.	siehe
s.a.	siehe auch
SCF	Stammzellerfaktor
s.o.	siehe oben
sog.	sogenannt
StD	standard deviation, Standardabweichung
Std. Dev.	standard deviation, Standardabweichung
syn.	Synonym
Tab(s).	Tabelle(n)
TGF beta	transforming growth factor beta
TNF alpha	Tumornekrosefaktor alpha

u.a.	unter anderem
VVR	Vorversuchsreihe
z.B.	zum Beispiel

7. Anhang

7.1. Die Berechnungen

7.1.1. Die Berechnung der avitalen Zellen

Anzahl avitaler mononukleärer Zellen pro Milliliter Vollblut = Mittelwert x 1,4 x 32 x 1000

Formel 01 dient zur Bestimmung der Anzahl der avitalen mononukleären Zellen.

7.1.2. Die Berechnung der vitalen Zellen

Anzahl vitaler mononukleärer Zellen pro Milliliter Vollblut = Mittelwert x 5 x 32 x 1000

Formel 02 dient zur Bestimmung der Anzahl der vitalen mononukleären Zellen.

7.1.3. Die Berechnung des prozentualen Anteils der avitalen Zellen

Prozent- Anteil avitaler mononukleärer Zellen =
$$\frac{(\text{Anzahl avitaler mononukleärer Zellen pro Milliliter}) \times 100}{\text{Gesamtzellzahl mononukleärer Zellen pro Milliliter}}$$

Formel 03 dient zur Bestimmung des prozentualen Anteils der avitalen Zellen an der Gesamtzahl der mononukleären Zellen.

7.1.4. Die Berechnung der Verdünnungsmenge des DMEM-BSA-Gemischs

$$\text{DMEM-BSA-Gemisch in Milliliter} = \frac{\text{Gesamtmenge avitaler mononukleärer Zellen} - 100.000}{1.000.000}$$

Formel 04 dient zur Bestimmung der Menge des Gemischs aus Dulbecco's modified eagles medium und bovinem Serumalbumin, die der Zellsuspension beigemischt werden muss, um die Gesamtzahl von einer Millionen mononukleärer Zellen pro Milliliter zu erhalten.

7.1.5. Die Berechnung des Verdünnungsfaktors

$$\text{Verdünnungsfaktor } F = \frac{5 \mu\text{l} \times \text{Menge des Wirkstoffs im Handelspräparat}}{\text{Menge des Wirkstoffs im Testansatz} \times \text{Volumen des Handelspräparats}}$$

Formel 05 dient zur Berechnung des Verdünnungsfaktor F , der die Menge des Volumens angibt, mit dem der jeweilige medikamentöse Wirkstoff verdünnt werden muss, um die nach intravenöser Applikation einer physiologischen Dosis auftretenden Plasmaspiegel zu erhalten.

7.2. Die Tabellen

7.2.1. Tabelle 01 : Die Probandendaten

Lfd. Nummer Initialen	Alter (in Jahren)	Größe (in cm)	Gewicht (in kg)
01 G.K.	30	181	83
02 O.v.Z.	42	178	72
03 W.N.	36	192	115
04 M.S.	40	182	105
05 J.G.	32	188	85
06 D.M.	41	194	100
07 G.K.	42	184	83
08 K.E.	30	174	65
09 M.M.	34	180	68
10 U.B.	42	172	73
11 A.P.	38	173	75
12 EG.N.	31	185	102
13 T.Z.	39	174	66
14 J.K.	35	188	110
15 C.L.	28	186	82
16 R.S.	27	180	75
17 A.P.	38	178	80
18 P.P.	39	171	75
19 N.M.	39	175	83
20 C.W.	29	183	80
Mittelwert	35,95	180,79	84,05
Median	37,00	180,50	81,00
Std.Dev.	4,98	6,82	15,15

Die Tabelle 01 fasst die Daten der zwanzig freiwilligen Blutspender zusammen, unter zusätzlicher Angabe der entsprechenden statistischen Mittelwerte, der jeweiligen Mediane und der jeweiligen Standardabweichungen.

(Std.Dev. = Standardabweichung)

7.2.2. Tabellen 02 und 03 : Die Checkerboard Analyse

7.2.2.1. Vorversuchsreihe 01 und 02 : Checkerboard - Analyse

Konzentration des Lockstoffs oberhalb des Filters	Konzentration des Lockstoffs unterhalb des Filters							
	VVR 01				VVR 02			
	0	0,25	0,5	1	0	0,25	0,5	1
0	29	112	158	198	30	110	152	201
0	34	94	168	182	32	97	155	198
0	38	88	164	202	37	94	172	194
0	44	104	176	188	38	102	160	194
MW	36,20	99,50	166,50	192,50	34,25	100,75	159,75	196,75
StD	6,34	10,63	7,55	9,15	3,86	6,99	8,81	3,40
0,25	22	34	88	122	24	33	78	130
0,25	32	30	64	114	32	38	89	123
0,25	28	34	88	126	30	38	98	122
0,25	40	38	98	130	33	36	92	128
MW	30,50	34,00	84,50	123,00	29,75	36,25	89,25	125,75
StD	7,55	3,27	14,46	6,83	4,03	2,36	8,38	3,86
0,5	26	30	28	72	34	38	31	76
0,5	30	32	34	80	37	43	38	84
0,5	38	38	30	82	41	38	36	87
0,5	32	38	32	78	38	40	37	83
MW	31,50	34,50	31,00	78,00	37,50	39,75	35,50	82,50
StD	5,00	4,12	2,58	4,32	2,89	2,36	3,11	4,65
1	34	32	28	29	30	34	33	30
1	28	26	34	30	29	37	36	33
1	26	30	34	36	34	30	36	37
1	34	30	32	33	34	32	38	30
MW	30,50	29,50	32,00	32,00	31,75	33,25	35,75	32,50
StD	4,12	2,52	2,83	3,16	2,63	2,99	2,06	3,32

Die Tabelle 02 zeigt die Ergebnisse der Checkerboard - Analyse bei doppelter Testung. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF sowie die jeweiligen Mittelwerte und die Standardabweichungen.

HPF = High Power Field

VVR = Vorversuchsreihe

MW = Mittelwert

StD = Standardabweichung

7.2.2.2. Mittelwerte : Checkerboard - Analyse

Konzentration des Lockstoffs oberhalb des Filters	Konzentration des Lockstoffs unterhalb des Filters									
	<u>VVR 01</u>					<u>VVR 02</u>				
	0	0,25	0,5	1		0	0,25	0,5	1	
0	36,20	99,50	166,50	192,50		34,25	100,75	159,75	196,75	
0,25	30,50	34,00	84,50	123,00		29,75	36,25	89,25	125,75	
0,5	31,50	34,50	31,00	78,00		37,50	39,75	35,50	82,50	
1	30,50	29,50	32,00	32,00		31,75	33,25	35,75	32,50	

Die Tabelle 03 zeigt die Mittelwerte der Checkerboard - Analyse bei doppelter Testung. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF.

HPF = High Power Field

VVR = Vorversuchsreihe

7.2.3. Tabellen 04, 05 und 06 : Die Ergebnisse der Zellzählung

7.2.3.1. Vorversuchsreihe 01 : Zellzählung

Versuchsnummer Initialen	Prozent Monozyten	Prozent Granulozyten	Prozent Lymphozyten	Prozent mononukleäre Zellen
01 G.K.	10,10	24,50	65,40	75,50
02 O.v.Z.	7,39	11,10	81,50	88,89
03 W.N.	10,10	6,80	83,00	93,10
04 M.S.	12,80	21,50	65,70	78,50
05 J.G.	11,20	4,00	85,30	96,50
06 D.M.	16,10	25,80	58,20	74,30
07 G.K.	8,98	4,90	86,20	95,18
08 K.E.	3,75	11,20	85,00	88,75
09 M.M.	12,20	4,10	84,10	96,30
10 U.B.	8,01	9,85	82,10	90,11
11 A.P.	8,16	10,70	81,10	89,26
12 EG.N.	21,90	15,47	62,70	84,60
13 T.Z.	7,62	10,20	82,20	89,82
14 J.N.	7,04	13,79	79,20	86,24
15 C.L.	5,95	46,59	47,50	53,45
16 R.S.	6,22	14,90	78,80	85,02
17 A.P.	6,80	34,77	58,40	65,20
18 P.P.	0,14	47,37	38,60	38,74
19 N.M.	10,40	37,10	52,50	62,90
20 C.W.	11,60	41,44	47,00	58,60
Mittelwert	9,32	19,80	70,23	79,55
Median	8,57	14,35	79,00	85,63
Std.Dev.	4,55	14,36	15,38	16,05

Die Tabelle 04 zeigt die prozentualen Anteile der Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten an der Gesamtzahl der mononukleären Zellen in der ersten Versuchsreihe, unter zusätzlicher Angabe der entsprechenden statistischen Mittelwerte, der Mediane und der Standardabweichungen.

Std.Dev. = Standardabweichung

7.2.3.2. Vorversuchsreihe 02 : Zellzählung

Versuchsnummer Initialen	Prozent Monozyten	Prozent Granulozyten	Prozent Lymphozyten	Prozent mononukleäre Zellen
01 G.K.	10,10	24,60	65,40	75,50
02 O.v.Z.	4,45	8,00	87,50	91,95
03 W.N.	9,50	13,43	77,00	86,50
04 M.S.	14,10	21,87	64,00	78,10
05 J.G.	13,90	12,43	73,60	87,50
06 D.M.	15,60	15,89	68,50	84,10
07 G.K.	8,44	1,46	90,10	98,54
08 K.E.	2,83	6,67	90,40	93,23
09 M.M.	16,00	4,13	79,90	95,90
10 U.B.	4,00	10,69	85,30	89,30
11 A.P.	7,59	15,91	87,20	94,79
12 EG.N.	17,90	18,71	63,40	81,30
13 T.Z.	14,90	9,05	76,10	91,00
14 J.N.	4,93	18,59	76,50	81,43
15 C.L.	4,50	40,62	54,90	59,40
16 R.S.	6,15	17,76	76,10	82,25
17 A.P.	6,31	18,12	75,60	81,91
18 P.P.	11,40	47,99	40,60	52,00
19 N.M.	10,60	31,64	57,80	68,40
20 C.W.	12,40	22,42	65,10	77,50
Mittelwert	9,78	18,00	72,75	82,53
Median	9,80	16,83	75,85	83,18
Std.Dev.	4,61	11,62	12,94	11,95

Die Tabelle 05 zeigt die prozentualen Anteile der Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten an der Gesamtzahl der mononukleären Zellen in der zweiten Versuchsreihe, unter zusätzlicher Angabe der entsprechenden statistischen Mittelwerte, der Mediane und der Standardabweichungen.

Std.Dev. = Standardabweichung

7.2.3.3. Mittelwerte : Zellzählung

	Prozent Monozyten	Prozent Granulozyten	Prozent Lymphozyten	Prozent mononukleäre Zellen
VVR 01 :				
Mittelwert	9,32	19,80	70,23	79,55
Std.Dev.	4,55	14,36	15,38	16,05
VVR 02 :				
Mittelwert	9,78	18,00	72,75	82,53
Std.Dev.	4,61	11,62	12,94	11,95

Die Tabelle 06 zeigt die entsprechenden statistischen Mittelwerte und die Standardabweichungen der prozentualen Anteile der Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten an der Gesamtzahl der mononukleären Zellen in der ersten und der zweiten Versuchsreihe.

VVR = Vorversuchsreihe

Std.Dev. = Standardabweichung

7.2.4. Tabellen 07, 08 und 09 : Die Ergebnisse für NaCl 0,9% und fMLP

7.2.4.1. Vorversuchsreihe 01 : NaCl 0,9% ; fMLP

Versuchsnummer Initialen	NaCl 0,9% Monozyten / 5 HPF	fMLP 10 ⁻⁸ molar Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	177	62
02 O.v.Z.	172	65
03 W.N.	184	61
04 M.S.	156	72
05 J.G.	166	76
06 D.M.	190	68
07 G.K.	176	90
08 K.E.	183	56
09 M.M.	181	74
10 U.B.	169	70
11 A.P.	172	82
12 EG.N.	163	78
13 T.Z.	151	79
14 J.N.	174	69
15 C.L.	198	72
16 R.S.	182	74
17 A.P.	202	84
18 P.P.	177	80
19 N.M.	176	68
20 C.W.	154	76
Mittelwert	175,15	69
Std.Dev.	16,26	9,90

Die Tabelle 07 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von NaCl und fMLP in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF sowie der jeweilige statistischen Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
 HPF = High Power Field
 VVR = Vorversuchsreihe

7.2.4.2. Vorversuchsreihe 02 : NaCl 0,9% ; fMLP

Versuchsnummer Initialen	NaCl 0,9% Monozyten / 5 HPF	fMLP 10 ⁻⁸ molar Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	170	70
02 O.v.Z.	166	72
03 W.N.	176	70
04 M.S.	172	66
05 J.G.	158	68
06 D.M.	157	68
07 G.K.	172	75
08 K.E.	187	76
09 M.M.	176	72
10 U.B.	151	67
11 A.P.	166	66
12 EG.N.	168	71
13 T.Z.	162	72
14 J.N.	172	80
15 C.L.	180	74
16 R.S.	178	77
17 A.P.	179	74
18 P.P.	164	84
19 N.M.	174	76
20 C.W.	152	84
Mittelwert	169	77
Std.Dev.	12,73	9,90

Die Tabelle 08 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von NaCl und fMLP in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
 HPF = High Power Field
 VVR = Vorversuchsreihe

7.2.4.3. Mittelwerte : NaCl 0,9% ; fMLP

Versuchsnummer Initialen	NaCl 0,9% Monozyten / 5 HPF	fMLP 10 ⁻⁸ molar Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	173,50	66,00
02 O.v.Z.	169,00	68,50
03 W.N.	180,00	65,50
04 M.S.	164,00	69,00
05 J.G.	162,00	72,00
06 D.M.	173,50	68,00
07 G.K.	174,00	82,50
08 K.E.	185,00	66,00
09 M.M.	178,50	73,00
10 U.B.	160,00	68,50
11 A.P.	169,00	74,00
12 EG.N.	165,50	74,50
13 T.Z.	156,50	75,50
14 J.N.	173,00	74,50
15 C.L.	189,00	73,00
16 R.S.	180,00	75,50
17 A.P.	190,50	79,00
18 P.P.	170,50	82,00
19 N.M.	175,00	72,00
20 C.W.	153,00	80,00
Mittelwert	172,08	73,00
Std.Dev.	14,50	9,90

Die Tabelle 09 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von NaCl 0,9% und fMLP aus den Vorversuchsreihen 01 und 02 sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

7.2.5. Tabellen 10 und 11 : Die Ergebnisse der Suspension der Zellen in Trypan – Blau Lösung und in Türk'scher Lösung

7.2.5.1. Vorversuchsreihe 01 : Trypan - Blau- / Türk'sche Lösung

Versuchsnummer Initialen	Ausgezählte Zellen in jeweils 5 Feldern (HPF) der 4 Quadranten der Neubauer- Zählkammer mit der Trypanblau- Lösung					Ausgezählte Zellen in jeweils 5 Feldern (HPF) der 4 Quadranten der Neubauer- Zählkammer mit der Türk'schen Lösung				
	Q. 1	Q. 2	Q. 3	Q. 4	Mittelwert	Q. 1	Q. 2	Q. 3	Q. 4	Mittelwert
01 G.K.	4	3	3	2	3,00	54	48	43	62	51,75
02 O.v.Z.	3	2	2	2	2,25	36	26	31	22	28,75
03 W.N.	2	2	1	1	1,50	84	128	84	90	96,50
04 M.S.	6	4	3	3	4,00	89	87	79	92	86,75
05 J.G.	5	11	9	5	7,50	64	47	46	61	54,50
06 D.M.	8	5	4	4	5,25	27	33	20	19	24,75
07 G.K.	2	2	1	3	2,00	28	40	36	34	34,50
08 K.E.	1	1	2	1	1,25	24	28	22	32	26,50
09 M.M.	1	0	2	1	1,00	32	36	27	29	31,00
10 U.B.	1	2	2	0	1,25	53	67	95	96	77,75
11 A.P.	2	1	2	1	1,50	28	35	44	39	36,50
12 EG.N.	1	2	2	2	1,75	32	29	39	32	33,00
13 T.Z.	1	2	2	1	1,50	43	62	39	41	46,25
14 J.K.	1	1	2	1	1,25	24	49	44	52	42,25
15 C.L.	2	2	1	1	1,50	35	39	46	37	39,25
16 R.S.	1	1	0	1	0,75	34	31	28	36	32,25
17 A.P.	2	0	1	0	0,75	54	54	38	52	49,50
18 P.P.	1	0	2	1	1,00	29	33	39	34	33,75
19 N.M.	1	1	0	1	0,75	22	24	29	28	25,75
20 C.W.	1	0	2	1	1,00	27	23	24	35	27,25

Die Tabelle 10 zeigt die Anzahl und die statistischen Mittelwerte der in der Neubauer - Zählkammer ausgezählten mononukleären Zellen nach Suspension in Trypan-Blau- bzw. in Türk'scher Lösung in der ersten Versuchsreihe.

(HPF = High Power Field)

7.2.5.2. Vorversuchsreihe 02 : Trypan - Blau- / Türk'sche Lösung

Versuchsnummer Initialen	Ausgezählte Zellen in jeweils 5 Feldern (HPF) der 4 Quadranten der Neubauer- Zählkammer mit der Trypanblau- Lösung					Ausgezählte Zellen in jeweils 5 Feldern (HPF) der 4 Quadranten der Neubauer- Zählkammer mit der Türk'schen Lösung				
	Q. 1	Q. 2	Q. 3	Q. 4	Mittelwert	Q. 1	Q. 2	Q. 3	Q. 4	Mittelwert
01 G.K.	2	1	3	1	1,75	42	43	38	72	48,75
02 O.v.Z.	1	2	2	2	1,75	21	22	22	34	24,75
03 W.N.	3	1	1	2	1,75	156	78	114	84	108,00
04 M.S.	4	5	4	4	4,25	53	68	46	69	59,00
05 J.G.	6	4	4	6	5,00	23	26	28	35	28,00
06 D.M.	1	2	2	1	1,50	27	22	24	29	25,50
07 G.K.	1	2	2	2	1,75	57	43	42	44	46,50
08 K.E.	2	1	1	2	1,50	31	51	37	48	41,75
09 M.M.	2	1	1	2	1,50	21	31	23	27	25,50
10 U.B.	0	1	2	1	1,00	31	47	49	47	43,50
11 A.P.	2	2	0	1	1,25	96	87	121	91	98,75
12 EG.N.	0	1	1	2	1,00	31	39	46	39	38,75
13 T.Z.	2	1	1	2	1,50	37	41	38	44	40,00
14 J.K.	1	1	1	1	1,00	47	40	43	54	46,00
15 C.L.	1	1	1	2	1,25	42	36	52	40	42,50
16 R.S.	1	1	2	1	1,25	33	27	26	38	31,00
17 A.P.	1	0	1	1	0,75	34	32	41	28	33,75
18 P.P.	1	1	2	1	1,25	32	58	49	46	46,25
19 N.M.	1	1	1	1	1,00	28	29	38	32	31,75
20 C.W.	1	1	0	1	0,75	29	30	27	27	28,25

Die Tabelle 11 zeigt die Anzahl und die statistischen Mittelwerte der in der Neubauer- Zählkammer ausgezählten mononukleären Zellen nach Suspension in Trypan-Blau- bzw. in Türk'scher Lösung in der zweiten Versuchsreihe.

(HPF = High Power Field)

7.2.6. Tabellen 12 und 13 : Darstellung der Auszählung der vitalen und avitalen mononukleären Zellen und der Verdünnung der Zellsuspensionen

7.2.6.1. Vorversuchsreihe 01 : Vitale / avitale mononukleäre Zellen

Versuchsnummer Initialen	Mononukleäre Zellen / ml Vollblut	Avitale mono- nukleäre Zellen / ml Vollblut	%- Anteil avitaler Zellen / ml Vollblut	Verdünnung (in ml DMEM/BSA)
01 G.K.	8.280.000	134.400	1,62%	7,28
02 O.v.Z.	4.600.000	100.800	2,19%	3,60
03 W.N.	15.440.000	67.200	0,44%	14,44
04 M.S.	13.880.000	179.000	1,29%	12,88
05 J.G.	8.720.000	336.000	3,85%	7,72
06 D.M.	3.960.000	224.000	5,65%	2,96
07 G.K.	5.520.000	89.600	1,62%	4,52
08 K.E.	4.240.000	56.000	1,32%	3,24
09 M.M.	4.960.000	44.800	0,90%	3,96
10 U.B.	12.440.000	56.000	0,45%	11,44
11 A.P.	5.840.000	67.000	1,15%	4,84
12 EG.N.	5.280.000	78.400	1,48%	4,28
13 T.Z.	7.400.000	67.200	0,91%	6,40
14 J.N.	6.760.000	56.000	0,83%	5,76
15 C.L.	6.280.000	67.200	1,07%	5,28
16 R.S.	5.160.000	33.600	0,65%	5,16
17 A.P.	7.920.000	33.600	0,42%	6,92
18 P.P.	5.400.000	48.000	0,83%	4,40
19 N.M.	4.120.000	33.600	0,82%	3,12
20 C.W.	4.360.000	44.800	1,03%	3,36
Mittelwert	7.028.000,00	90.860,00	1,43%	6,08
Std.Dev.	3.315.116,26	75.932,94	1,26%	3,29

Die Tabelle 12 zeigt die Anzahl der mononukleären Zellen pro Milliliter Vollblut, die Anzahl und den prozentualen Anteil der avitalen mononukleären Zellen pro Milliliter Vollblut sowie die notwendige Menge an DMEM-BSA- Gemisch zur Verdünnung der Zellsuspension auf eine Millionen Zellen pro Milliliter in der ersten Versuchsreihe unter zusätzlicher Angabe der entsprechenden statistischen Mittelwerte und der Standardabweichungen

Std.Dev. = Standardabweichung

7.2.6.2. Vorversuchsreihe 02 : Vitale / avitale mononukleäre Zellen

Versuchsnummer Initialen	Mononukleäre Zellen / ml Vollblut	Avitale mono- nukleäre Zellen / ml Vollblut	%- Anteil avitaler Zellen / ml Vollblut	Verdünnung (in ml DMEM/BSA)
01 G.K.	7.800.000	78.400	1,01%	6,80
02 O.v.Z.	3.960.000	78.400	1,98%	3,96
03 W.N.	17.280.000	78.400	0,45%	16,28
04 M.S.	9.440.000	190.400	2,02%	8,44
05 J.G.	4.480.000	224.000	5,00%	3,48
06 D.M.	4.080.000	67.200	1,65%	3,08
07 G.K.	7.440.000	78.400	1,05%	6,44
08 K.E.	6.680.000	67.200	1,01%	7,68
09 M.M.	4.080.000	67.200	1,65%	4,08
10 U.B.	6.960.000	44.800	0,65%	5,96
11 A.P.	15.800.000	56.000	0,35%	15,80
12 EG.N.	6.200.000	44.800	0,72%	5,20
13 T.Z.	6.400.000	67.200	1,05%	5,40
14 J.N.	7.360.000	44.800	0,61%	6,36
15 C.L.	6.800.000	56.000	0,82%	5,80
16 R.S.	4.960.000	56.000	1,13%	4,96
17 A.P.	5.400.000	33.600	0,62%	4,40
18 P.P.	7.400.000	56.000	0,76%	6,40
19 N.M.	5.080.000	44.800	0,88%	4,08
20 C.W.	4.520.000	33.600	0,74%	3,52
Mittelwert	7.106.000,00	73.360,00	1,21%	6,41
Std.Dev.	3.556.444,71	48.272,28	1,01%	3,60

Die Tabelle 13 zeigt die Anzahl der mononukleären Zellen pro Milliliter Vollblut, die Anzahl und den prozentualen Anteil der avitalen mononukleären Zellen pro Milliliter Vollblut sowie die notwendige Menge an DMEM-BSA-Gemisch zur Verdünnung der Zellsuspension auf eine Millionen Zellen pro Milliliter in der zweiten Versuchsreihe unter zusätzlicher Angabe der entsprechenden statistischen Mittelwerte und der Standardabweichungen.

Std.Dev. = Standardabweichung

7.2.7. Tabellen 14, 15 und 16 : Darstellung der Zellzählung für Atracurium

7.2.7.1. Versuchsreihe 01 : Atracurium

Versuchsnummer Initialen	Atracurium (niedrig) Monozyten / 5 HPF	Atracurium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Atracurium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	172,00	153,00	112,00
02 O.v.Z.	173,00	168,00	121,00
03 W.N.	181,00	161,00	108,00
04 M.S.	172,00	144,00	117,00
05 J.G.	168,00	156,00	115,00
06 D.M.	161,00	146,00	122,00
07 G.K.	168,00	157,00	119,00
08 K.E.	174,00	154,00	109,00
09 M.M.	177,00	139,00	112,00
10 U.B.	183,00	148,00	114,00
11 A.P.	170,00	166,00	118,00
12 EG.N.	163,00	149,00	124,00
13 T.Z.	172,00	163,00	121,00
14 J.N.	168,00	157,00	110,00
15 C.L.	170,00	154,00	117,00
16 R.S.	153,00	164,00	113,00
17 A.P.	180,00	149,00	118,00
18 P.P.	167,00	151,00	121,00
19 N.M.	174,00	147,00	119,00
20 C.W.	170,00	152,00	117,00
Mittelwert	170,80	153,90	116,35
Std.Dev.	6,96	7,71	4,57

Die Tabelle 14 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Atracurium in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

HPF = High Power Field
Std.Dev. = Standardabweichung

7.2.7.2. Versuchsreihe 02 : Atracurium

Versuchsnummer Initialen	Atracurium (niedrig) Monozyten / 5 HPF	Atracurium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Atracurium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	170,00	164,00	112,00
02 O.v.Z.	172,00	159,00	118,00
03 W.N.	168,00	149,00	109,00
04 M.S.	163,00	151,00	122,00
05 J.G.	171,00	144,00	115,00
06 D.M.	169,00	162,00	117,00
07 G.K.	164,00	154,00	112,00
08 K.E.	178,00	146,00	110,00
09 M.M.	173,00	160,00	121,00
10 U.B.	172,00	153,00	117,00
11 A.P.	176,00	162,00	114,00
12 EG.N.	169,00	149,00	114,00
13 T.Z.	173,00	152,00	108,00
14 J.N.	172,00	156,00	117,00
15 C.L.	167,00	155,00	113,00
16 R.S.	168,00	148,00	114,00
17 A.P.	180,00	152,00	119,00
18 P.P.	173,00	161,00	110,00
19 N.M.	169,00	156,00	112,00
20 C.W.	171,00	156,00	113,00
Mittelwert	170,90	154,45	114,35
Std.Dev.	4,17	5,69	3,88

Die Tabelle 15 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Atracurium in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.7.3. Mittelwerte : Atracurium

Versuchsnummer Initialen	Atracurium (niedrig) Monozyten / 5 HPF	Atracurium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Atracurium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	171,00	158,50	112,00
02 O.v.Z.	172,50	163,50	119,50
03 W.N.	174,50	155,00	108,50
04 M.S.	167,50	147,50	119,50
05 J.G.	169,50	150,00	115,00
06 D.M.	165,00	154,00	119,50
07 G.K.	166,00	155,50	115,50
08 K.E.	176,00	150,00	109,50
09 M.M.	175,00	149,50	116,50
10 U.B.	177,50	150,50	115,50
11 A.P.	173,00	164,00	119,00
12 EG.N.	169,00	149,00	119,00
13 T.Z.	176,50	157,50	114,50
14 J.N.	170,00	156,50	113,50
15 C.L.	169,50	154,50	115,00
16 R.S.	160,50	156,00	113,50
17 A.P.	180,00	150,50	118,50
18 P.P.	170,00	156,00	115,50
19 N.M.	171,50	151,50	115,50
20 C.W.	170,50	154,00	115,00
Mittelwert	171,25	154,18	115,50
Std.Dev.	4,62	4,53	3,16

Die Tabelle 16 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Atracurium aus den Versuchsreihen 01 und 02 bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die jeweilige Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

7.2.8. Tabellen 17, 18 und 19 : Darstellung der Zellzählung für Cisatracurium

7.2.8.1. Versuchsreihe 01 : Cisatracurium

Versuchsnummer Initialen	Cisatracurium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Cisatracurium(mittel) Monozyten / 5 HPF	Cisatracurium(hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	181,00	171,00	148,00
02 O.v.Z.	176,00	175,00	152,00
03 W.N.	174,00	172,00	160,00
04 M.S.	180,00	169,00	148,00
05 J.G.	172,00	173,00	143,00
06 D.M.	172,00	181,00	151,00
07 G.K.	177,00	177,00	154,00
08 K.E.	166,00	178,00	151,00
09 M.M.	168,00	168,00	148,00
10 U.B.	173,00	174,00	142,00
11 A.P.	177,00	173,00	145,00
12 EG.N.	171,00	177,00	158,00
13 T.Z.	174,00	163,00	152,00
14 J.N.	164,00	174,00	153,00
15 C.L.	167,00	171,00	156,00
16 R.S.	172,00	168,00	151,00
17 A.P.	170,00	166,00	152,00
18 P.P.	168,00	180,00	148,00
19 N.M.	169,00	172,00	150,00
20 C.W.	173,00	172,00	151,00
Mittelwert	172,20	172,70	150,65
Std.Dev.	4,54	4,59	4,51

Die Tabelle 17 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Cisatracurium in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.8.2. Versuchsreihe 02 : Cisatracurium

Versuchsnummer Initialen	Cisatracurium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Cisatracurium(mittel) Monozyten / 5 HPF	Cisatracurium(hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	168,00	170,00	142,00
02 O.v.Z.	174,00	172,00	150,00
03 W.N.	175,00	164,00	152,00
04 M.S.	172,00	166,00	148,00
05 J.G.	164,00	169,00	147,00
06 D.M.	168,00	162,00	145,00
07 G.K.	160,00	176,00	149,00
08 K.E.	166,00	170,00	157,00
09 M.M.	165,00	169,00	150,00
10 U.B.	167,00	165,00	154,00
11 A.P.	170,00	166,00	156,00
12 E.G.N.	168,00	168,00	153,00
13 T.Z.	178,00	164,00	149,00
14 J.N.	179,00	170,00	158,00
15 C.L.	166,00	171,00	156,00
16 R.S.	167,00	168,00	156,00
17 A.P.	169,00	167,00	155,00
18 P.P.	168,00	169,00	157,00
19 N.M.	166,00	164,00	160,00
20 C.W.	167,00	169,00	153,00
Mittelwert	168,85	167,95	152,35
Std.Dev.	4,68	3,30	4,74

Die Tabelle 18 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Cisatracurium in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.8.3. Mittelwerte : Cisatracurium

Versuchsnummer Initialen	Cisatracurium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Cisatracurium(mittel) Monozyten / 5 HPF	Cisatracurium(hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	174,50	170,50	145,00
02 O.v.Z.	175,00	173,50	151,00
03 W.N.	174,50	168,00	156,00
04 M.S.	176,00	167,50	148,00
05 J.G.	168,00	171,00	145,00
06 D.M.	170,00	171,50	148,00
07 G.K.	168,50	176,50	151,50
08 K.E.	166,00	174,00	154,00
09 M.M.	166,50	168,50	149,00
10 U.B.	170,00	169,50	148,00
11 A.P.	173,50	169,50	150,50
12 EG.N.	169,50	172,50	155,50
13 T.Z.	176,00	163,50	150,50
14 J.N.	171,50	172,00	155,50
15 C.L.	166,50	171,00	156,00
16 R.S.	169,50	168,00	153,50
17 A.P.	169,50	166,50	153,50
18 P.P.	168,00	174,50	152,50
19 N.M.	167,50	168,00	155,00
20 C.W.	170,00	170,50	152,00
Mittelwert	170,53	170,33	151,50
Std.Dev.	3,28	3,07	3,48

Die Tabelle 19 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Cisatracurium aus den Versuchsreihen 01 und 02 bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die jeweilige Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

7.2.9. Tabellen 20, 21 und 22 : Darstellung der Zellzählung für Mivacurium

7.2.9.1. Versuchsreihe 01 : Mivacurium

Versuchsnummer Initialen	Mivacurium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Mivacurium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Mivacurium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	160,00	162,00	128,00
02 O.v.Z.	172,00	166,00	135,00
03 W.N.	174,00	172,00	133,00
04 M.S.	166,00	163,00	150,00
05 J.G.	166,00	170,00	154,00
06 D.M.	168,00	168,00	148,00
07 G.K.	164,00	170,00	147,00
08 K.E.	168,00	166,00	151,00
09 M.M.	163,00	172,00	152,00
10 U.B.	166,00	169,00	149,00
11 A.P.	170,00	168,00	151,00
12 EG.N.	168,00	164,00	156,00
13 T.Z.	176,00	164,00	147,00
14 J.N.	172,00	166,00	149,00
15 C.L.	168,00	172,00	148,00
16 R.S.	166,00	163,00	148,00
17 A.P.	172,00	166,00	144,00
18 P.P.	167,00	165,00	145,00
19 N.M.	167,00	163,00	143,00
20 C.W.	166,00	166,00	146,00
Mittelwert	167,95	166,75	146,20
Std.Dev.	3,83	3,23	6,98

Die Tabelle 20 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Mivacurium in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.9.2. Versuchsreihe 02 : Mivacurium

Versuchsnummer Initialen	Mivacurium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Mivacurium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Mivacurium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	166,00	168,00	142,00
02 O.v.Z.	168,00	162,00	141,00
03 W.N.	164,00	170,00	138,00
04 M.S.	172,00	170,00	147,00
05 J.G.	168,00	162,00	148,00
06 D.M.	163,00	165,00	148,00
07 G.K.	171,00	164,00	152,00
08 K.E.	172,00	171,00	144,00
09 M.M.	176,00	163,00	143,00
10 U.B.	166,00	166,00	141,00
11 A.P.	167,00	164,00	143,00
12 EG.N.	165,00	164,00	147,00
13 T.Z.	170,00	171,00	146,00
14 J.N.	169,00	165,00	169,00
15 C.L.	171,00	169,00	171,00
16 R.S.	166,00	163,00	166,00
17 A.P.	166,00	163,00	166,00
18 P.P.	168,00	166,00	168,00
19 N.M.	167,00	170,00	167,00
20 C.W.	165,00	168,00	165,00
Mittelwert	168,00	166,20	152,60
Std.Dev.	3,21	3,14	11,62

Die Tabelle 21 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Mivacurium in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

7.2.9.3. Mittelwerte : Mivacurium

Versuchsnummer Initialen	Mivacurium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Mivacurium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Mivacurium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	163,00	165,00	135,00
02 O.v.Z.	170,00	164,00	138,00
03 W.N.	169,00	171,00	135,50
04 M.S.	169,00	166,50	148,50
05 J.G.	167,00	166,00	151,00
06 D.M.	165,50	166,50	148,00
07 G.K.	167,50	167,00	149,50
08 K.E.	170,00	168,50	147,50
09 M.M.	169,50	167,50	147,50
10 U.B.	166,00	167,50	145,00
11 A.P.	168,50	166,00	147,00
12 EG.N.	166,50	164,00	151,50
13 T.Z.	173,00	167,50	146,50
14 J.N.	169,50	165,50	159,00
15 C.L.	169,50	170,50	159,50
16 R.S.	166,00	163,00	157,00
17 A.P.	169,00	164,50	155,00
18 P.P.	167,50	165,50	156,50
19 N.M.	167,00	166,50	155,00
20 C.W.	165,50	167,00	155,50
Mittelwert	167,93	166,48	149,40
Std.Dev.	2,21	2,02	7,19

Die Tabelle 22 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Mivacurium aus den Versuchsreihen 01 und 02 bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die jeweilige Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.10. Tabellen 23, 24 und 25 : Darstellung der Zellzählung für Pancuronium

7.2.10.1. Versuchsreihe 01 : Pancuronium

Versuchsnummer Initialen	Pancuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Pancuronium(mittel) Monozyten / 5 HPF	Pancuronium(hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	164,00	161,00	160,00
02 O.v.Z.	168,00	163,00	166,00
03 W.N.	162,00	160,00	166,00
04 M.S.	172,00	168,00	164,00
05 J.G.	171,00	165,00	170,00
06 D.M.	169,00	170,00	166,00
07 G.K.	166,00	167,00	169,00
08 K.E.	169,00	166,00	164,00
09 M.M.	170,00	169,00	171,00
10 U.B.	166,00	164,00	170,00
11 A.P.	163,00	167,00	166,00
12 EG.N.	167,00	166,00	160,00
13 T.Z.	166,00	161,00	164,00
14 J.N.	168,00	162,00	164,00
15 C.L.	162,00	166,00	168,00
16 R.S.	170,00	167,00	165,00
17 A.P.	172,00	164,00	170,00
18 P.P.	168,00	170,00	166,00
19 N.M.	169,00	170,00	166,00
20 C.W.	167,00	165,00	163,00
Mittelwert	167,45	165,55	165,90
Std.Dev.	3,02	3,09	3,11

Die Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Pancuronium in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.10.2. Versuchsreihe 02 : Pancuronium

Versuchsnummer Initialen	Pancuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Pancuronium(mittel) Monozyten / 5 HPF	Pancuronium(hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	160,00	163,00	170,00
02 O.v.Z.	164,00	166,00	171,00
03 W.N.	165,00	166,00	169,00
04 M.S.	170,00	162,00	168,00
05 J.G.	171,00	168,00	170,00
06 D.M.	168,00	164,00	166,00
07 G.K.	166,00	164,00	168,00
08 K.E.	166,00	170,00	167,00
09 M.M.	167,00	166,00	171,00
10 U.B.	170,00	164,00	167,00
11 A.P.	164,00	166,00	168,00
12 EG.N.	163,00	168,00	165,00
13 T.Z.	167,00	168,00	163,00
14 J.N.	162,00	171,00	170,00
15 C.L.	168,00	167,00	164,00
16 R.S.	166,00	164,00	166,00
17 A.P.	170,00	169,00	166,00
18 P.P.	171,00	167,00	169,00
19 N.M.	166,00	163,00	162,00
20 C.W.	168,00	164,00	162,00
Mittelwert	166,60	166,00	167,10
Std.Dev.	3,03	2,49	2,83

Die Tabelle 24 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Pancuronium in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung

HPF = High Power Field

7.2.10.3. Mittelwerte : Pancuronium

Versuchsnummer Initialen	Pancuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Pancuronium(mittel) Monozyten / 5 HPF	Pancuronium(hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	162,00	162,00	165,00
02 O.v.Z.	166,00	164,50	168,50
03 W.N.	163,50	163,00	167,50
04 M.S.	171,00	165,00	166,00
05 J.G.	171,00	166,50	170,00
06 D.M.	168,50	167,00	166,00
07 G.K.	166,00	165,50	168,50
08 K.E.	167,50	168,00	165,50
09 M.M.	168,50	167,50	171,00
10 U.B.	168,00	164,00	168,50
11 A.P.	163,50	166,50	167,00
12 EG.N.	165,00	167,00	162,50
13 T.Z.	166,50	164,50	163,50
14 J.N.	165,00	166,50	167,00
15 C.L.	165,00	166,50	166,00
16 R.S.	168,00	165,50	165,50
17 A.P.	171,00	166,50	168,00
18 P.P.	169,50	168,50	167,50
19 N.M.	167,50	166,50	164,00
20 C.W.	167,50	164,50	162,50
Mittelwert	167,03	165,78	166,50
Std.Dev.	2,57	1,66	2,31

Die Tabelle 25 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Pancuronium aus den Versuchsreihen 01 und 02 bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die jeweilige Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.11. Tabellen 26, 27 und 28 : Darstellung der Zellzählung für Vecuronium

7.2.11.1. Versuchsreihe 01 : Vecuronium

Versuchsnummer Initialen	Vecuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Vecuronium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Vecuronium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	164,00	170,00	160,00
02 O.v.Z.	166,00	170,00	161,00
03 W.N.	170,00	166,00	163,00
04 M.S.	168,00	163,00	161,00
05 J.G.	167,00	165,00	166,00
06 D.M.	167,00	166,00	162,00
07 G.K.	170,00	168,00	163,00
08 K.E.	164,00	166,00	166,00
09 M.M.	163,00	160,00	161,00
10 U.B.	164,00	161,00	160,00
11 A.P.	162,00	165,00	161,00
12 EG.N.	166,00	163,00	162,00
13 T.Z.	167,00	168,00	166,00
14 J.N.	164,00	162,00	163,00
15 C.L.	163,00	165,00	163,00
16 R.S.	165,00	166,00	162,00
17 A.P.	162,00	166,00	164,00
18 P.P.	168,00	170,00	164,00
19 N.M.	168,00	166,00	163,00
20 C.W.	163,00	163,00	160,00
Mittelwert	165,55	165,45	162,55
Std.Dev.	2,50	2,87	1,93

Die Tabelle 26 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Vecuronium in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.11.2. Versuchsreihe 02 : Vecuronium

Versuchsnummer Initialen	Vecuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Vecuronium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Vecuronium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	163,00	170,00	161,00
02 O.v.Z.	167,00	166,00	163,00
03 W.N.	168,00	166,00	162,00
04 M.S.	170,00	169,00	161,00
05 J.G.	170,00	168,00	166,00
06 D.M.	165,00	162,00	162,00
07 G.K.	166,00	164,00	165,00
08 K.E.	164,00	161,00	162,00
09 M.M.	161,00	161,00	160,00
10 U.B.	160,00	163,00	161,00
11 A.P.	163,00	166,00	166,00
12 EG.N.	166,00	165,00	165,00
13 T.Z.	166,00	163,00	160,00
14 J.N.	168,00	166,00	164,00
15 C.L.	162,00	160,00	162,00
16 R.S.	170,00	166,00	164,00
17 A.P.	166,00	170,00	164,00
18 P.P.	163,00	168,00	163,00
19 N.M.	163,00	168,00	164,00
20 C.W.	167,00	169,00	162,00
Mittelwert	165,40	165,55	162,85
Std.Dev.	2,98	3,10	1,84

Die Tabelle 27 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Vecuronium in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.11.3. Mittelwerte : Vecuronium

Versuchsnummer Initialen	Vecuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Vecuronium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Vecuronium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	163,50	170,00	160,50
02 O.v.Z.	166,50	168,00	162,00
03 W.N.	169,00	166,00	162,50
04 M.S.	169,00	166,00	161,00
05 J.G.	168,50	166,50	166,00
06 D.M.	166,00	164,00	162,00
07 G.K.	168,00	166,00	164,00
08 K.E.	164,00	163,50	164,00
09 M.M.	162,00	160,50	160,50
10 U.B.	162,00	162,00	160,50
11 A.P.	162,50	165,50	163,50
12 EG.N.	166,00	164,00	163,50
13 T.Z.	166,50	165,50	163,00
14 J.N.	166,00	164,00	163,50
15 C.L.	162,50	162,50	162,50
16 R.S.	167,50	166,00	163,00
17 A.P.	164,00	168,00	164,00
18 P.P.	165,50	169,00	163,50
19 N.M.	165,50	167,00	163,50
20 C.W.	165,00	166,00	161,00
Mittelwert	165,48	165,50	162,70
Std.Dev.	2,27	2,37	1,46

Die Tabelle 28 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Vecuronium aus den Versuchsreihen 01 und 02 bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.12. Tabellen 29, 30 und 31 : Darstellung der Zellzählung für Rocuronium

7.2.12.1. Versuchsreihe 01 : Rocuronium

Versuchsnummer Initialen	Rocuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Rocuronium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Rocuronium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	159,00	164,00	149,00
02 O.v.Z.	164,00	162,00	148,00
03 W.N.	163,00	168,00	154,00
04 M.S.	166,00	167,00	160,00
05 J.G.	170,00	170,00	158,00
06 D.M.	170,00	166,00	157,00
07 G.K.	164,00	166,00	159,00
08 K.E.	163,00	160,00	158,00
09 M.M.	166,00	163,00	160,00
10 U.B.	166,00	162,00	159,00
11 A.P.	168,00	170,00	161,00
12 EG.N.	165,00	166,00	160,00
13 T.Z.	166,00	168,00	158,00
14 J.N.	164,00	165,00	159,00
15 C.L.	163,00	166,00	156,00
16 R.S.	168,00	170,00	164,00
17 A.P.	160,00	162,00	149,00
18 P.P.	163,00	165,00	154,00
19 N.M.	170,00	164,00	159,00
20 C.W.	168,00	166,00	153,00
Mittelwert	165,30	165,50	156,75
Std.Dev.	3,11	2,86	4,31

Die Tabelle 29 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Rocuronium in der ersten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.12.2. Versuchsreihe 02 : Rocuronium

Versuchsnummer Initialen	Rocuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Rocuronium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Rocuronium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	162,00	168,00	152,00
02 O.v.Z.	166,00	168,00	148,00
03 W.N.	163,00	165,00	146,00
04 M.S.	164,00	166,00	149,00
05 J.G.	168,00	163,00	150,00
06 D.M.	170,00	168,00	148,00
07 G.K.	168,00	166,00	154,00
08 K.E.	160,00	161,00	147,00
09 M.M.	162,00	163,00	144,00
10 U.B.	161,00	163,00	155,00
11 A.P.	165,00	168,00	160,00
12 EG.N.	160,00	163,00	154,00
13 T.Z.	168,00	170,00	162,00
14 J.N.	166,00	164,00	157,00
15 C.L.	166,00	166,00	158,00
16 R.S.	162,00	160,00	154,00
17 A.P.	166,00	164,00	153,00
18 P.P.	167,00	166,00	159,00
19 N.M.	169,00	165,00	160,00
20 C.W.	170,00	167,00	160,00
Mittelwert	165,15	165,20	153,50
Std.Dev.	3,23	2,59	5,38

Die Tabelle 30 zeigt die Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Rocuronium in der zweiten Versuchsreihe. Angegeben ist die jeweilige Anzahl der zur Unterseite des Filters gewanderten Monozyten in 5 HPF bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie der jeweilige statistische Mittelwert und die Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.2.12.3. Mittelwerte : Rocuronium

Versuchsnummer Initialen	Rocuronium(niedrig) Monozyten / 5 HPF	Rocuronium (mittel) Monozyten / 5 HPF	Rocuronium (hoch) Monozyten / 5 HPF
01 G.K.	160,50	166,00	150,50
02 O.v.Z.	165,00	165,00	148,00
03 W.N.	163,00	166,50	150,00
04 M.S.	165,00	166,50	154,50
05 J.G.	169,00	166,50	154,00
06 D.M.	170,00	167,00	152,50
07 G.K.	166,00	166,00	156,50
08 K.E.	161,50	160,50	152,50
09 M.M.	164,00	163,00	152,00
10 U.B.	163,50	162,50	157,00
11 A.P.	166,50	169,00	160,50
12 EG.N.	162,50	164,50	157,00
13 T.Z.	167,00	169,00	160,00
14 J.N.	165,00	164,50	158,00
15 C.L.	164,50	166,00	157,00
16 R.S.	165,00	165,00	159,00
17 A.P.	163,00	163,00	151,00
18 P.P.	165,00	165,50	156,50
19 N.M.	169,50	164,50	159,50
20 C.W.	169,00	166,50	156,50
Mittelwert	165,23	165,35	155,13
Std.Dev.	2,65	2,07	3,64

Die Tabelle 31 zeigt die Mittelwerte der Ergebnisse der Filterauswertung unter Einfluss von Rocuronium aus den Versuchsreihen 01 und 02 bei niedriger, mittlerer und hoher Konzentration des Medikaments sowie den jeweiligen statistischen Mittelwert und die jeweilige Standardabweichung.

Std.Dev. = Standardabweichung
HPF = High Power Field

7.3. Erklärung

Die vorliegende Dissertation habe ich ohne unerlaubte fremde Hilfe selbstständig unter Verwendung der in dieser Arbeit angegebenen Mittel angefertigt. Sämtliche wörtlich zitierten oder sinngemäß entnommenen Angaben aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften habe ich als solche gekennzeichnet und dargelegt. Alle von mir durchgeführten Untersuchungen und Versuche sind nach den Grundsätzen guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis vom 14. Juli 1999“ festgelegt sind, erfolgt.

7.4. Aufklärungsbogen und Einverständniserklärung der Probanden

Informations- und Aufklärungsbogen zur Blutentnahme für *In-vitro*- Untersuchungen an Monozyten

Der vorliegende Bogen gilt als Basisinformation für den Probanden. Es werden die typischen Risiken und Nebenwirkungen der geplanten Blutentnahme dargestellt.

Der Proband bestätigt mit seiner Unterschrift, daß er den Bogen gelesen und verstanden hat und daß er mit der Entnahme von Blut in der für die Routinediagnostik gebräuchlichen Weise und in einer das übliche Maß nicht überschreitenden Menge und Frequenz einverstanden ist.

Die unten erhobenen persönlichen Daten werden nicht veröffentlicht und für Dritte unzugänglich aufbewahrt. Sie dienen ausschließlich informativen und statistischen Zwecken.

<u>Name</u> :	_____	<u>Vorname</u> :	_____
<u>Geburtsdatum</u> :	_____	<u>Alter</u> :	_____
		<u>Gewicht</u> :	_____
<u>Adresse</u> :	_____	<u>Telephon</u> :	_____
	_____	<u>Fax</u> :	_____
	_____	<u>e-mail</u> :	_____

Procedere :

Für die Untersuchung einer bestimmten Fraktion von Blutzellen (Monozyten) wird eine Menge von ca. zehn Millilitern venösen Blutes benötigt. Die Entnahme des Blutes erfolgt unter sterilen Bedingungen aus einer oberflächlichen Armvene mittels eines gebräuchlichen Blutabnahme- Sets.

Nebenwirkungen und Komplikationen :

Im allgemeinen sind Nebenwirkungen oder Komplikationen durch eine Blutabnahme aus einer peripheren Vene mittels perkutaner Punktion extrem selten.

Folgende Nebenwirkungen und Komplikationen sind möglich :

- Infektion der Einstichstelle
- Hämatom (Bluterguß) im Bereich der Venenpunktion
- Nervenverletzung im Bereich der Punktionsstelle
- Mißempfindungen oder Schmerzen im Bereich der Einstichstelle
- Fehlpunktion oder versehentliche arterielle Punktion
- Kreislaufreaktionen (Kollaps)

Einwilligungserklärung :

Über die geplante Blutabnahme bin ich in einem Aufklärungsgespräch ausführlich informiert worden. Dabei konnte ich alle mir wichtig erscheinenden Fragen über die in meinem Fall vorliegenden speziellen Risiken und die damit verbundenen möglichen Komplikationen und über Begleitmaßnahmen stellen.

Ich habe keine weiteren Fragen, fühle mich ausreichend aufgeklärt und willige hiermit nach ausreichender Bedenkzeit in die geplante Blutabnahme ein.

Ich bestätige außerdem, daß ich keine chronischen Erkrankungen und zur Zeit keine akuten Gesundheitsstörungen habe.

Ort / Datum

Ort / Datum

Unterschrift Proband

Unterschrift Untersucher

7.5. Die Danksagungen

Mein Dank gilt den folgenden Personen, die mir bei der Durchführung und Umsetzung dieser Arbeit kritische und stets wohlwollende Unterstützung haben zu Teil werden lassen :

- Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h.c. G. Hempelmann für die Überlassung des Themas.
- Herrn Professor Dr. med. habil. W. Krumholz für seine konzeptionelle und redaktionelle Hilfe, sein hohes persönliches Engagement und seine zuverlässige Betreuung.
- Herrn Krankenhausapotheker H. Scherer für die Beschaffung und Bereitstellung der Materialien, Reagenzien und Gerätschaften.
- Herrn Laborleiter E. Penilosa (B.Sc.) und seinem Team für ihre guten Ratschläge, ihre Hilfe und Geduld und die vertrauensvolle Überlassung von Materialien und Gerätschaften während meiner praktischen Tätigkeit im Labor des Bethlehem Krankenhauses.
- Meinen Kollegen Herrn J. Frings und Herrn J. Knecht für ihre kritischen Anmerkungen, ihre Tipps und ihre Diskussionsbereitschaft.
- Meiner Frau A. Mund-Keller für ihre geduldige und beständige Unterstützung.
- Den Blutspendern, die diese Arbeit möglich machten.

7.6. Tabellarischer Lebenslauf

<u>Persönliche Daten</u>	
Name :	Gernot Keller
Anschrift :	Königsberger Str. 94 52078 Aachen Deutschland
Geurtsdatum / -ort :	13-09-1959, Köln
Familienstand :	Verheiratet
<u>Schul Ausbildung</u>	
1966 - 1969	Katholisch Grundschule, Köln - Rodenkirchen
1969 - 1973	Städtisches Gymnasium, Köln - Rodenkirchen
1973 - 1977	Abbotsholme School, Rocester, England
Juli 1977	Britische Hochschulreife
1977 - 1979	Städtisches Gymnasium, Köln - Rodenkirchen
Mai 1979	Deutsche Hochschulreife
<u>Hochschulausbildung</u>	
1979 - 1982	Vorklinisches Studium der Medizin, RWTH Aachen
1982 - 1985	Klinisches Studium der Medizin, RWTH Aachen
1985 - 1986	Praktisches Jahr am Kreiskrankenhaus in Würselen, Kreis Aachen
Juni 1986	Approbation als Arzt
<u>Wehrdienst</u>	
1986 - 1987	Stabsarzt beim DDO NATO - E 3A Verband der Luftwaffe in Geilenkirchen - Teveren
November 1986	Grundausbildung zum Fliegerarzt der Luftwaffe

Beruflicher Werdegang

1988 - 1992	Assistenzarzt der Abt. Anästhesie am Bethlehem - Krankenhaus in Stolberg, Kreis Aachen
Juli 1990	Fachkundenachweis : Arzt im Rettungsdienst
Juli 1992	Facharzt für Anästhesiologie bei der Ärztekammer Nordrhein
1996 - 1997	Weiterbildungskurse I - III "Repetitorium und Intensivkurs Spezielle Schmerztherapie (Prof. Zenz, Bochum)
seit Oktober 1996	Kontrollleiter : Eigenblutspende
seit Januar 1997	Chefarztvertreter : Ambulante und stationäre Schmerztherapie Chefarztvertreter : Arzneimittelkommission Stellvertretender EDV - Verantwortlicher : Intensivstation
1997 - 2000	Lehrtätigkeit : Anästhesie an der Krankenpflegeschule des Bethlehem – Krankenhaus Stolberg
1998 - 2000	Ausbildung in Akupunktur bei der Deutschen Ärztegesellschaft für Akupunktur (DÄGfA)
seit Juli 1998	Mitgestaltung beim Qualitätsmanagementprojekt des KH, Kriterienverantwortlicher für den Bereich "Prozesse" in der Anästhesie
1999	Ausbildung zum Leitenden Notarzt, Bestellung zum Leitenden Notarzt des Kreises Aachen
seit Januar 2000	Oberarzt der Klinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin des Bethlehem – Krankenhaus in Stolberg, verantwortlich für die Bereiche Prämedikation, Konsiliarwesen und Schmerztherapie
Februar 2000	Hospitation in der Schmerzklinik der Justus – Liebig – Universität Gießen (Prof. Hempelmann)
Seit Januar 2001	Qualitätssicherungsbeauftragter für EDV und Datenerfassung der Klinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin des Bethlehem – Krankenhaus in Stolberg
Seit Juli 2001	Qualitätsbeauftragter des Transfusionswesens des Bethlehem – Krankenhaus in Stolberg
2001	Weiterbildung in Ärztlichem Qualitätsmanagement an der Akademie für Medizinische Informatik der Universität Heidelberg (Prof. Wetter)
Mai 2004	Anerkennung der Zusatzbezeichnung Spezielle Schmerztherapie bei der Ärztekammer Nordrhein
März / August 2006	Weiterbildung zum Internen Auditor für Qualitätsmanagement am Bethlehem – Krankenhaus in Stolberg
November 2006	Basiskurs der Palliativmedizin in Limburg / Universität Bonn (Prof. Klaschik)
November 2006	Anerkennung der Zusatzweiterbildung Notfallmedizin bei der Ärztekammer Nordrhein