Universität Ulm
Sektion Experimentelle Anästhesie
Sektionsleitung: Prof. Dr. rer. nat. Marion Schneider

Molekulare Grundlagen einer Cannabis-vermittelten Schmerztherapie: Evidenz für die Bedeutung von TH17-Zellen

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

Eva Timmermann
Illertissen
2017

Amtierender Dekan: Prof. Dr. T. Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Schneider

2. Berichterstatter: apl. Prof. Dr. J. Högel

Tag der Promotion: 13.12.2018

Widmung

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern Klara und Gerhard Kneer, sowie Florian Timmermann als Dank für all ihre Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

Widmung ..... **iii**

Inhaltsverzeichnis ..... **iv**

Abkürzungsverzeichnis ..... **vi**

1 Einleitung **1**

1.1 Geschichte von Cannabis 1

1.2 Endocannabinoidsystem 8

1.3 Cannabinoidrezeptoren 8

1.4 Signaltransduktion und Wirkmechanismen 11

1.5 Analgesie durch Cannabinoide 13

1.6 Immunmodulation durch Cannabinoide 16

1.7 Beteiligung der Immunzellen am Schmerzgeschehen 19

1.8 Einzelbasenpaaraustausche (Single Nucleotide Polymorphisms) 21

1.9 Fragestellung 23

2 Material und Methoden **24**

2.1 Vorangegangene Studie 24

2.2 Schmerztagebuch 25

2.3 Durchflusszytometrie 27

2.4 SNP-Bestimmung 40

2.5 Statistik 42

3 Ergebnisse **45**

3.1 Patientendaten 45

3.2 Vergleich der Therapiegruppen 72

3.3 SNP-Bestimmung 87

3.4 Vergleich der Therapiegruppen bzgl. des SNPs 89

3.5 Dronabinoldosis 105

4 Diskussion 107

4.1 Methodische Aspekte 107

4.2 Veränderung der Oberflächenmarker 109

4.3 Einflussnahme durch SNP rs2501432 122

4.4 Schlussfolgerung 124

5 Zusammenfassung 125

6 Literaturverzeichnis 127

7 Tabellenanhang 132

Danksagung 156

Lebenslauf 158

Abkürzungsverzeichnis

AC	Adenylatcyclase
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
AEA	arachidonoylethanolamide, Anandamid
AIDS	acquired immune deficiency syndrome
ALV	Auslassversuch
b. Bed.	bei Bedarf
BC	before Christ
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
Btl.	Beutel
BTM	Betäubungsmittel
BWS	Brustwirbelsäule
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CBD	Cannabidiol
CBN	Cannabinol
CBT	Cannabitriol
CB1-R	Cannabinoidrezeptor 1
CB2-R	Cannabinoidrezeptor 2
CCP	cyclic citrullinated peptide
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte-associated protein
Da	Dalton
DC	dendritic cells, dendritische Zellen
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DRG	dorsal root ganglion
EC	Endocannabinoid-/Endocannabinoide
ECS	Endocannabinoidsystem
ED	Encephalitis disseminate
ERK	extracellular signal-regulated kinase
FAAH	fatty acid amide hydrolase
FADD	fas-associated protein with dead domain
FSH	Follikelstimulierendes Hormon

GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GPCR	G-protein-coupled receptor
HIV	human immunodeficiency virus
HvGD	host versus graft disease
HWK	Halswirbelkörper
HWS	Halswirbelsäule
HWZ	Halbwertszeit
I.E.	internationale Einheiten
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IL-17	Interleukin 17
IFN-ɣ	Interferon-ɣ
JNK	c-Jun N-terminal kinase
LBP	lipopolysaccharide binding protein
LH	luteinisierendes Hormon
LPS	Lipopolysaccharide
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
MAGL	Monoacylglycerol Lipase
MAPK	mitogene-activated protein kinase, MAP Kinase
MHC	major histocompatibility complex
MIP-1	macrophage inflammatory protein 1
MOG33-55	myelin oligodendrocyte glycoprotein
mRNA	messenger RNA
NAPE	N-arachidonoyl-phosphatidylethanolamin
NCAM	neural cell adhesion molecule
NF-AT	nuclear factor activated T-cells
NFκB	nuclear factor "κ-light-chain-enhancer" of activated B-cells
NGF	nerve growth factor
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NK-T-Zellen	Natürliche Killer-T-Zellen
NO	nitric oxide

NRS	numerische Ratingskala
o.B.	ohne Befund
OSG	oberes Sprunggelenk
PAMP	pathogen-associated molecular patterns
PEA	Palmitoylethanolamid
PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor
p.o.	per os
P2X7	purinergic receptor P2X7
RANTES	CCL5, CC-chemokine ligand 5
RNA	Ribonucleinsäure
ret.	retardiert
s.l.	sublingual
SCI	spinal cord injury
SNP	single nucleotide polymorphism, Single Nucleotid Polymorphismus
Src kinase	Tyrosinkinase Src, Src Kinase
TH-Zellen	T-Helferzellen
THC-COOH	Säureform des Δ^9-Tetrahydrocannabinol
THC-OH	Oxidationsprodukt von Δ^9-Tetrahydrocannabinol
TNFα	tumor necrosis factor α
TRP	transient receptor potential action channel
TSH	Thyreoidea stimulierendes Hormon
USG	unteres Sprunggelenk
UN	United Nations
unret.	unretardiert
V.a.	Verdacht auf
VCAM-1	vascular cell adhesion protein 1
VRS	verbale Ratingskala
WDR neuron	wide dynamic range neuron
WHO	World Health Organisation
WS	Wirbelsäule
Z.n.	Zustand nach
ZNS	zentrales Nervensystem
Δ^9-THC	Δ^9-Tetrahydrocannabinol

2-AG	2-arachidonoylglycerol, 2-Arachidonylglycerol

1 Einleitung

1.1 Geschichte von Cannabis

Seit dem 22. Juli 2014 ergeht erneut die Diskussion über die Legalisierung von Cannabiskonsum. Grund war die Bekanntgabe der Entscheidung des Kölner Verwaltungsgerichts zur Frage des legalen Eigenanbaus von Cannabis, welche aktuell nur chronischen Schmerzpatienten in Einzelfällen erlaubt werden kann.

Die Cannabis-Pflanze stammt ursprünglich vermutlich aus Zentralasien 6000 before Christ (BC). Verwendet wurde die Pflanze als Nahrungsmittel, als Faserlieferant und Rauschdroge. Bereits 5000 BC diente die Pflanze in China aber auch als Medizin und wurde z.B. zur Menstruationsförderung oder zur Behandlung von Nachgeburtsbeschwerden eingesetzt. Ebenso verwendete man Cannabis als Art Betäubungsmittel (BTM) bei Operationen oder zur Stimulierung des zentralen Nervensystems (ZNS). Um 800 BC gelangte die Pflanze nach Indien, von dort aus in den persischen und assyrischen Raum. Zunächst stand vor allem die Gewinnung von Faserhanf im Vordergrund, wobei die Pflanze in Indien auch bald benutzt wurde, um ekstatische Zustände z.B. bei religiösen Ereignissen zu erreichen.

Im antiken Griechenland soll neben der Faserhanfnutzung zur Schifffahrt, die Pflanze auch zur Zubereitung von Getränken benutzt worden sein. Der Historiker Herodot berichtete 490-425 BC über den inhalativen Gebrauch des bei der Verbrennung der Cannabispflanze entstehenden Rauchs bei Reinigungsritualen oder Totenzeremonien von der Volksgruppe der am kaspischen Meer siedelnden Skythen.

Die weitere Verbreitung erfolgte mit der Ausdehnung der islamischen Völker ab dem 8. Jahrhundert BC bis in den Vorderen Orient, dann auch nach Afrika.

In Europa wurde Cannabis zunächst in Form von Faserhanf verwendet, die berauschende Wirkung der Pflanze wurde schließlich mit den Kreuzfahrern im Mittelalter bekannt. Später wurde die Pflanze als Heilmittel bei Wahnvorstellungen, Migräne und neuralgischen Beschwerden benutzt. Hanföl half bei der Behandlung von Hauterkrankungen.

Mit der Kolonisation gelangte die Pflanze im 16. Jahrhundert schließlich nach Mittel- und Südamerika und in die Karibik.

Berichte über Verwendung von Cannabis als Rauschdroge in Europa findet man seit 1844, als in Paris der „Club des Haschischins" gegründet wurde. Künstler und Schriftsteller wie Baudelaire und Dumas waren hier Mitglieder. Zeitgleich wurden erste Zusammenhänge zwischen Cannabiskonsum und bestimmten Geisteskrankheiten publik.

Um die Jahrhundertwende schließlich begann man Cannabis als medizinische Substanz im Sinne von Tinkturen und Extrakten an Stelle von Morphin vermehrt zu nutzen, da dessen Abhängigkeitspotential bereits erkannt worden war. Als um 1900 Heroin auf den Markt kam, wurde Cannabis als Heilmittel immer weniger genutzt, bis es in Europa kaum noch eine Rolle spielte, auch weil eine genauere Untersuchung der Cannabispflanze auf ihre Inhaltsstoffe mit den damaligen Methoden keinen Erfolg verzeichnen ließ.

Eine Renaissance erlebte Cannabis stattdessen in den 1930er Jahren in den USA, wo bisher nur die Nutzung von Faserhanf bekannt war. Nun stand v.a. die Nutzung der berauschenden Wirkung im Vordergrund. In größerem Ausmaß wurde diese Wirkung erst mit der „Flower-Power-Bewegung" in den 1960er Jahren genutzt, 1967/68 fand Cannabis als Rauschdroge auch in Europa Einzug. Damals stand die Verwendung eher in Zusammenhang mit gesellschaftskritischen, antiautoritären und emanzipatorischen Aspekten, erfolgt heute der Konsum nur um der berauschenden Wirkung willen. 1961 verbot die WHO schließlich den Cannabiskonsum, ausgenommen wurden wissenschaftliche oder medizinische Zwecke.

Während Anfang der 1970er der Gebrauch von sog. harten Drogen anstieg, man spricht von sog. „Heroin-Wellen", blieb der Cannabiskonsum in der damaligen Bundesrepublik bis in die 1990er gleich. Aufgrund eines Umdenkens in Richtung einer liberaleren Einschätzung war zu diesem Zeitpunkt der Cannabiskonsum straflos. Es gab in mehreren europäischen Ländern nun Anstrengungen, auch den Besitz und den Handel zu erlauben, welche z.B. in den Niederlanden Erfolg verzeichnen konnten.

Seit Beginn der 1990er kam es verstärkt auch zum Handel von harten Drogen durch die bisherigen Cannabishändler, was zu der Annahme führte, dass für eine Legalisierung des Cannabiserwerbs ein kontrollierter Vertrieb über staatliche Stellen nötig sei, um diesen Teilmarkt vom gewinnbringenden Markt der harten Drogen abzutrennen. So gab es Mitte der 1990er Bestrebungen in Schleswig-Holstein, einen Modellversuch durchzuführen. Dieser sah eine kontrollierte Abgabe in kleinen Mengen vor, womit der Cannabiskonsum gerade zum Ausprobieren ermöglicht worden wäre. Diese Vertriebsvariante wiederum stand schließlich im Gegensatz zur Pflicht zum Gesundheitsschutz und wurde nicht befürwortet. Zudem beklagte die UN die Unterstellung von Ungefährlichkeit und eine Herabsetzung der Hemmschwelle für Drogenkonsum durch derartiges Inverkehrbringen. Der Antrag wurde abgelehnt.

Ein Widerspruch besteht zudem zur Forderung der generellen Suchtprävention, welche zu Beginn des 21. Jahrhunderts vermehrt Befürworter gefunden hat. Als Auswirkung kann man z.B. neue Regelungen zum Zigarettenkonsum Jugendlicher als auch das Gaststättenrauchverbot ansehen. Ein europaweit stagnierender Cannabisabusus könnte daher einer veränderten Einstellung gegenüber psychoaktiven Substanzen und „legalen" Rauschmitteln und der Durchsetzung der Forderung nach deren eingeschränkter Verfügbarkeit geschuldet sein.

Großes Interesse an einer möglichen Nutzung der Inhaltsstoffe der Cannabispflanze als medizinische Substanz entflammte schließlich mit der erfolgreichen Isolation von Δ^9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9-THC) 1964, dem wichtigsten Inhaltsstoff der Cannabispflanze und des Bekanntwerdens des Endocannabinoidsystems mit konsekutiver weiterer Forschung auf diesem Gebiet (Grotenhermen, Müller-Vahl 2012). Diese zeigte, dass im Harz der Drüsenhaare unter anderem über 60 Cannabinoide enthalten sind (Geschwinde 2013), wie: Cannabinol (CBN), Cannabidiol (CBD), Cannabitriol (CBT) und Tetrahydrocannabinole (THC).

Alle sind im Wasser unlöslich und weisen photochemische Instabilität auf.

Von den Tetrahydrocannabinolen ist vor allem das Δ^9-Tetrahydrocannabinol hervorzuheben,

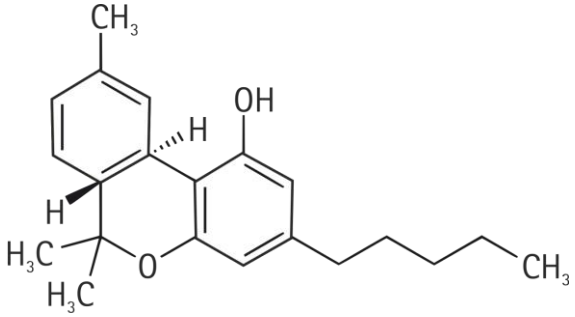

Abb. 1: Strukturformel des Δ^9-Tetrahydrocannabinol

das im Wesentlichen die pharmakologische Wirkung besitzt. Nach IUPAC heißt die Substanz: 6,6,9-Trimethyl-3-pentyl-6a,7,8,10a-tetrahydro-6H-benzo[c]chromen-1-ol. Meist liegt die Substanz in der trans-Form vor, die cis-Form weißt keine psychoaktive Wirkung auf. In der Pflanze selbst liegen die Cannabinoide meist als Säure vor, z.B. THC-COOH, die ebenfalls nicht psychoaktiv wirksam ist. Es existieren zwei weitere Hauptbegleitstoffe:

Cannabidiol (CBD) und Cannabinol (CBN). CBD hat selbst keine psychoaktive Wirksamkeit, kann aber mittels Interaktion am CB1-Rezeptor den Wirkeintritt von Δ^9-THC verzögern, damit die Wirkdauer verlängern, aber durch antagonistische Wirkung den psychoaktiven Effekt von Δ^9-THC abschwächen. CBN ist ein Oxidationsprodukt von Δ^9-THC, das ungefähr ein Zehntel dessen psychoaktiver Wirkung zeigt (Geschwinde 2013):

Mit zunehmender Erforschung dieser Substanzen und ihrer Eigenschaften wurden diese bald als Arzneimittel eingesetzt. Im Folgenden seien einige Beispiele genannt:

- USA und Schweiz: synthetisches Δ^9-THC zur Behandlung von Epilepsie und multipler Sklerose (CB1-Rezeptor im Hirn gegen Tremor und spasmolytisch)
- Deutschland: Δ^9-THC-Spray als Fertigarzneimittel zur Behandlung von Obengenanntem, vereinzelt auch zur Behandlung von Spasmen und Störungen der Muskelkoordination nach Rückenmarksverletzungen
- Cannabinoid-haltige Präparate: Einsatz als Anxiolytikum, zur Unterdrückung des Juckreizes, als Schmerzmittel (spastische Schmerzen, diabetische Neuropathie und zur Reduktion der Opiatmenge in Kombination mit diesen)
- Dronabinol (wirksamste stereoisomere Form eines synthetisch hergestellten Δ^9-THCs) in den USA: Unterdrückung von Übelkeit und Erbrechen im Verlauf einer Chemo- oder Strahlentherapie
- Marinol: (in Sesamöl gelöstes Dronabinol) in den USA seit 1986 bei Krebspatienten unter Zytostatikatherapie und seit 1991 bei Anorexie bei AIDS-Patienten angewendet

1.1.1 Aktuelle Rechtslage

Cannabinoide gehören gemäß § 1 Betäubungsmittelgesetz (BtMG) zu den nicht verkehrsfähigen Stoffen, d.h. Anbau, Herstellung, Handel, Einfuhr, Ausfuhr, Abgabe, Veräußerung, sonstiges Inverkehrbringen, Erwerb und Besitz von allen Pflanzenteilen des Cannabis sind ohne Genehmigung des Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) strafbar.

Bereits 2007 kam es erstmals zur Ausnahmegenehmigung. Eine austherapierte Schmerzpatientin bekam zunächst für 1 Jahr den Erwerb eines standardisierten Cannabispräparats erlaubt.

Im Oktober 2008 wurde schließlich über den sinnvollen Einsatz von Cannabispräparaten für „Patienten, die unter einer konventionellen Behandlung keine ausreichende Linderung von Symptomen wie Spastik, Schmerzen, Übelkeit, Erbrechen oder Appetitmangel haben" gesprochen.

Seit der 25. Verordnung zur Änderung betäubungsmittelrechtlicher Vorschriften im Mai 2011 ist Cannabis in Deutschland, sofern es für die Zubereitung von Arzneimitteln verwendet wird, nun verkehrsfähig und cannabishaltige Fertigarzneimittel sind verschreibungsfähig. Die erste arzneimittelrechtliche Zulassung erfolgte im Jahr 2011. Es handelt sich um einen

Cannabisextrakt, der sowohl Δ^9-THC als auch CBD in gleichen Verhältnissen beinhaltet. Die Zulassung besteht für die Behandlung der mittelschweren oder schweren Spastik bei multipler Sklerose. Um Forschungsvorhaben mit dem reinen Wirkstoff zu erleichtern, wurde Δ^9-THC zunächst in Anlage 2 unterstellt (verkehrsfähige, aber nicht verschreibungsfähige BTM), nun finden sich Cannabinoide, wie oben erwähnt, in Anlage 3 (verkehrs- und verschreibungsfähige BTM), wenn sie folgende Kriterien erfüllen: Cannabis (Marihuana, Pflanzen und Pflanzenteile der zur Gattung Cannabis gehörenden Pflanzen) entstammt aus einem Anbau, der zu medizinischen Zwecken unter staatlicher Kontrolle gemäß den Artikeln 23 und 28 Absatz 1 des Einheits-Übereinkommens von 1961 über Suchtstoffe erfolgt oder es liegt in Zubereitungen, die als Fertigarzneimittel zugelassen sind, vor. Dabei ist Dronabinol explizit Anlage 3 unterstellt (verkehrs- und verschreibungsfähiges BTM) (Geschwinde 2013).

1.1.2 Metabolismus

Die Aufnahme erfolgt meist enteral oder durch inhalatives Rauchen. So wird eine raschere Aufnahme erreicht und der aufgenommene Wirkstoffanteil ist höher, es kommt zu einem höheren Blutspiegelwert als auch Rauschwirkung, diese ist zwei- bis dreimal so stark wie bei enteraler Zufuhr. Der Wirkeintritt per os findet 30 bis 60 Minuten nach Einnahme statt, beim Rauchen schon nach 15 Minuten.

Beim Rauchen besteht ein gewisser Verlust an Inhaltsstoff durch Verbrennung von freiem Δ^9-THC, dieser wird durch Decarboxylierung von THC-COOH kompensiert.

Die Ausscheidung erfolgt langsam mit Stuhl und Harn.

Δ^9-THC verschwindet wieder schnell aus dem Plasma, es folgt eine Anreicherung in der Leber (und Milz und Lunge). Die Verteilung ist nicht gleichmäßig, man geht davon aus, dass sich die Cannabinoide durch die Lipophilie eher in fetthaltigen Organen ansammeln. Die Konzentrationsabnahme im Gehirn verläuft im Vergleich nochmals langsamer als in anderen Organen. Die Halbwertszeit (HWZ) beträgt in etwa 72 Stunden, bei regelmäßigem Konsum kann sie bis auf 28 Stunden abfallen. Im Plasma sind die Cannabinoide 10 bis 21 Tage nachzuweisen, die Eliminationshalbwertszeit im Gewebe liegt bei 7 Tagen. Bei regelmäßigem Konsum stellt sich die Erniedrigung der HWZ durch Enzyminduktion in der Leber ein. Die dortigen Enzyme sind auch für die Metabolisierung zu THC-COOH und THC-OH verantwortlich, die wiederum für psychotrope Effekte zuständig sind. In der ersten Stunde nach Cannabiskonsum sind die Blutspiegel der o.g. zwei Metaboliten am höchsten (Grotenhermen, Müller-Vahl 2012; Geschwinde 2013).

1.1.3 Wirkung

Cannabinoide wirken vornehmlich an den Cannabinoidrezeptoren, aber können auch an anderen Rezeptoren Agonisten sein. Durch die ablaufenden Signalkaskaden kommt es zu einer Modulation verschiedener Neurotransmitter. Es entsteht eine Vielzahl an Auswirkungen, insbesondere sind die verminderte Ausschüttung von Acetylcholin, GABA (Gamma-Aminobuttersäure) und Glutamat zu nennen, dadurch wird vor allem Lernen und Gedächtnis beeinflusst, sowie das mesolimbische Wohlbefindlichkeits- und Belohnungssystem, das u.a. durch Dopamin vermittelt wird. Einer Erhöhung des Serotoninspiegels folgen Veränderungen im limbischen und retikulären System, dem Kleinhirn mit Einflussnahme auf Herztätigkeit, Darmfunktion und Triebbefriedigung, was z. B. zu veränderten Sinneseindrücken und Verhalten führen kann. An Natriumkanälen wurde ein verlangsamter Einstrom des Kations beschrieben. Aufgrund aller dieser Veränderungen kommt es teilweise zur Verlangsamung aber auch Erhöhung nervöser Funktionen (Geschwinde 2013).
In untenstehender Tabelle sind die diversen Effekte des Δ^9-THC den Veränderungen den diversen Neurotransmittern und Organsystemen zugeordnet (Grotenhermen 2004):

Tab. 1: Effekte von Δ^9-Tetrahydrocannabinol nach Zuordnung zu einem Neurotransmitter

Aminosäuren	Effekte
Erregende Aminosäuren	
Glutamat	Epilepsie, Nervenzelltod bei Ischämie und Hypoxie
Hemmende Aminosäuren	
GABA (Gamma-Aminobuttersäure)	Störungen der Funktion des Rückenmarks,
Glycin	Epilepsie, Angst
	Schreckhaftigkeitssyndrome
Monoamine	
Noradrenalin	Autonome Homöostase, Hormone, Depression
Serotonin	Depression, Angst, Migräne, Erbrechen
Dopamin	Parkinson-Erkrankung, Schizophrenie, Erbrechen,
	Epiphysenhormone, Abhängigkeit
Acetylcholin	Neuromuskuläre Störungen, Autonome
	Homöostase (Herzfrequenz und Blutdruck),
Neuropeptide	Demenz, Parkinsonismus, Epilepsie, Schlaf-Wach-
(Endorphine, Enkephaline)	Rhythmus

	Schmerzen, Bewegung, neurale Entwicklung, Angst

Tab. 2: Wirkung von Δ^9-Tetrahydrocannabinol nach Zuordnung zu Organsystemen; LH = luteinisierendes Hormon, FSH = Follikelstimulierendes Hormon, TSH = Thyreoidea stimulierendes Hormon

Organ-/ funktionelles System	Wirkung
Psyche und Wahrnehmung	Sedierung, Euphorie, gesteigertes Wohlbefinden, Dysphorie, Angstzunahme, Angstverminderung, Depersonalisation, Intensivierung der sensorischen Wahrnehmung, gesteigertes sexuelles Erleben, Veränderung des Zeitgefühls, Halluzinationen
Kognition und Psychomotorik	Fragmentiertes Denken, Störung des Kurzzeitgedächtnisses und der Aufmerksamkeit, assoziatives Denken, gesteigerte Kreativität, Ataxie, verwaschene Sprache, Verschlechterung der Bewegungskoordination, Verbesserung der Bewegungskoordination, Abschwächung hyperkinetischer Bewegungsstörungen
Nervensystem	Analgesie, Muskelrelaxierung, Appetitsteigerung, Emesis, Antiemesis, Neuroprotektion bei Ischämie und Hypoxie
Körpertemperatur	Senkung der Körpertemperatur
Kardiovaskuläres System	Tachykardie, erhöhte Herzarbeit und gesteigerter Sauerstoffbedarf, Vasodilatation, orthostatische Hypotension, Hypertension (im Liegen), Hemmung der Thrombozytenaggregation
Auge	Konjuntivale Rötung, verminderter Tränenfluss, herabgesetzter intraokulärer Druck
Respiratorisches System	Bronchodilatation, Hyposalivation mit Mundtrockenheit
Gastrointestinales System	Verminderte gastrointestinale Motilität und gastrale Entleerung
Endokrinum	Beeinflussung von LH, FSH und Testosteron, Prolaktin, Wachstumshormonen, TSH, Glukosestoffwechsel, verminderte Spermiogenese und verminderte Spermienmotilität, Zyklusstörungen und unterdrückte Ovulation

Immunsystem	Beeinträchtigung der zellulären und humoralen Immunität, Immunstimulation, Entzündungshemmung
Embryonalentwicklung	Wachstumshemmung, Beeinträchtigung fetaler und frühkindlicher Hirnentwicklung, Beeinträchtigung der kognitiven Leistungsfähigkeit
Genetisches Material	Antineoplastische Aktivität, Hemmung der Synthese von DNA, RNA und Proteinen

1.2 Endocannabinoidsystem

1964 wurde (-)-Δ^9-Tetrahydrocannabinol, die Substanz, die hauptsächlich für die psychoaktiven Wirkungen von Cannabis sativa verantwortlich ist, entdeckt. 24 Jahre später gelang es erstmals den zugehörigen Rezeptor zu klonen (Rodriguez de Fonseca, Del Arco et al. 2005). Zunächst wurden die Inhaltsstoffe von Cannabis sativa weiter erforscht, schließlich fand man auch natürliche Liganden: Arachidonoylethanolamide (Anandamid) und 2-arachidonoylglycerol (2-AG). Weitere Forschung an diesen „Endocannabinoiden" bezüglich der Synthese, der Freisetzung, des Transports und der Degradation führten dazu, von einem neuen Signalsystem, dem „Endocannabinoidsystem" (ECS) zu sprechen.

Diesem System werden nun modulatorische Funktionen in vielen Bereichen zugeschrieben, als da wären: ZNS, autonomes Nervensystem, endokrines System, Immunsystem, Gastrointestinaltrakt, Reproduktionsorgane und Mikrozirkulation.

Die sogenannten Endocannabinoide sind Derivate der Arachidonsäure, konjugiert mit Ethanolamin oder Glycerol. Anandamid (AEA) entsteht aus dem Vorläufermolekül N-arachidonoyl-phosphatidylethanolamin (NAPE), 2-Arachidonylglycerol aus Triacylglycerol (Rodriguez de Fonseca, Del Arco et al. 2005).

1.3 Cannabinoidrezeptoren

Es gibt zwei sogenannte Cannabinoidrezeptoren, abgekürzt CB-Rezeptoren. Dabei wirken (Endo-)Cannabinoide zudem auf andere G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (G-protein-coupled receptor, GPCR), Ionenkanäle, TRP (transient receptor potential action channel) und nukleare Rezeptoren (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) (Pertwee, Howlett et al. 2010). Dabei wurde v.a. der Rezeptor GPR55 zunächst als „dritter Cannabinoidrezeptor" in

den Mittelpunkt gestellt (Rodriguez, Lockard et al. 2017), man kam aufgrund einer eingeschränkten Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz doch davon ab (Zhou, Burkovskiy et al. 2016).

Die CB-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Sieben-Transmembranrezeptoren. Die Rezeptoren besitzen sieben hydrophobe Segmente, die durch die Membran laufen und intra- und extrazelluläre Schleifen bilden (Yang, Wang et al. 2012).

Sie haben am N-terminalen Ende eine extrazelluläre Domäne, am C-Terminus einen intrazellulären Bestandteil, der dort mit dem $G_{i/0}$-Protein-Komplex verbunden ist, über den die Signalkaskade abläuft. Diese unterbindet die Adenylatcyclase (AC), der intrazelluläre cAMP-Level sinkt, die mitogen-activated protein kinase (MAP Kinase) wird aktiviert (Pertwee 2006; Cabral, Griffin-Thomas 2009). Weitere Untersuchungen zeigten, dass die AC aber auch aktiviert werden kann. Hier besteht eine Verbindung zu einem G_s-Protein-Komplex (Klein, Newton et al. 2003; Pertwee 2006). Desweiteren werden über die Cannabinoidrezeptoren Signalkaskaden zur Veränderung des intrazellulären Kalzium- und Kaliumgehalts beeinflusst (Cabral, Griffin-Thomas 2009). Wie oben bereits beschrieben, ist aufgrund diverser Studienergebnisse (Klein, Newton et al. 2003) anzunehmen, dass viele verschiedene Transmitter, sog. second messengers durch die Cannabinoidrezeptoren beeinflusst werden und so viele verschiedene zelluläre und genetische Prozesse durch sie reguliert werden, u.a. auch über die Veränderung der Phospholipase C-Aktivität, die Diacylglycerol und Inositoltriphosphat beeinflusst und die Proteinkinase C-Aktivität (Klein, Newton et al. 2003).

CB1-Rezeptor:

Der CB1-Rezeptor wurde 1990 aus einer Rattenhirn-cDNA kloniert (Cabral, Griffin-Thomas 2009). Die Kodierung liegt auf dem CNR1-Gen, welches sich auf Chromosom 6q15 befindet. Die Sequenzlänge beträgt 472 Aminosäuren und hat eine molekulare Masse von 52858 Da. Die Proteinbezeichnung lautet: P21554-CNR1_HUMAN. Weitere Namen des CNR-1-Gens sind: CANN6, CB-R, CNR, CB1, CB1K5, CB1A, CB1R, central cannabinoid receptor (Weizmann Institute of Science).

Außer der Beeinflussung der Adeylatcyclase via $G_{i/0}$- und G_s-Proteinen führt die Aktivierung des Rezeptors zur Inhibition von N- und P/Q-Typ-Kalziumkanälen und der Aktivierung von A-Typ-Kaliumkanälen (Pertwee, Howlett et al. 2010).

Dieser Rezeptortyp kommt v.a. im Gehirn vor, eine hohe Expressionsrate findet man im Kortex (frontal, motorische und sensorische Zentren), im Hippocampus und in der Amygdala, in den Basalganglien, im Hypothalamus, der Pons und der Medulla und im Kleinhirn (Klein, Lane et al. 2000; Rom, Persidsky 2013). Mit diesen Bereichen werden die Funktionen Wahrnehmung

und Kurzzeitgedächtnis, die motorische Funktion und Bewegung in Verbindung gebracht, mit Aktivierung des CB1-Rezeptors können diese Funktionen durch Cannabinoide beeinflusst werden (Grotenhermen 2004; Yang, Wang et al. 2012).

Außerdem wurde der CB1-Rezeptor im kardiovaskulären System, in der Lunge, der Nebenniere, dem Knochenmark, in den Reproduktionsorganen und im Gastrointestinaltrakt gefunden. Auch in Geweben des Immunsystems wie z.B. der Milz oder im Thymus ließ sich CB1-mRNA nachweisen (Rodriguez de Fonseca, Del Arco et al. 2005; Yang, Wang et al. 2012). Die Häufigkeit ist auf Zellen des Immunsystems geringer (Buckley, McCoy et al. 2000).

CB2-Rezeptor:

1992 gelang es den CB2-Rezeptor aus humanen Zellen zu duplizieren. Zunächst nahm man an, den CB2-Rezeptor nur außerhalb des Gehirns zu finden (Yang, Wang et al. 2012), man konnte ihn in Organen des Immunsystems, z.B. der Milz oder auch auf Immunzellen nachweisen. Auf B-Lymphozyten hat der CB2-Rezeptor die höchste Expressionsrate, eine Mäßige auf Monozyten und polymorphkernigen Neutrophilen. Die geringste Ausprägung findet man auf T-Lymphozyten (Rodriguez de Fonseca, Del Arco et al. 2005), ebenso wird der CB2-Rezeptor auf Mastzellen exprimiert (Guindon, Hohmann 2008). In weiteren Studien wurde er nun auch auf Microglia und Neuronen gefunden (Rodriguez de Fonseca, Del Arco et al. 2005; Yang, Wang et al. 2012). Insgesamt ist die Expressionsrate auf Geweben des Immunsystems 10-100fach höher als die des CB1-Rezeptors (Guindon, Hohmann 2008), während neuronaler oder glialer Vorgänge findet man eine hohe Reaktivität, aber im Vergleich zu der des CB1-Rezeptors deutlich verringert (Yang, Wang et al. 2012).

Wichtige Orte an denen der CB2-Rezeptor zentral gefunden wurde, sind: Nucleus olfactorius, Hirnanhangsdrüse, im Kortex in den Bereichen für die visuelle Wahrnehmung, des Hörzentrums und des motorischen Zentrums, im periaquäduktalen Grau, der Substantia nigra und in anderen Nervenkernen des Hirnstamms.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass der Rezeptor während neuroinflammatorischer Geschehnisse induziert werden kann (Yang, Wang et al. 2012).

Der Genlocus befindet sich auf 1p36.11, der Proteinname lautet: P34972-CNR2_HUMAN und hat eine Länge von 360 Aminosäuren und ein Molekulargewicht von 39681 Da. Weitere Namen des CNR2 Gens sind: CB-2, CB2, CX5, CB2A, CB2B, HCB2, testis-dominant CNR2 isoform CB2 (Weizmann Institute of Science).

2008 berichteten Guindon et al. noch, dass CB2-selektive Agonisten keine Nebenwirkungen auslösten, die mit einer CB1-Rezeptoraktivierung verbunden sind und als zentral-vermittelt gelten und meinten mit diesen Beobachtungen den Standpunkt zu stützen, dass CB2-

Agonisten nicht psychoaktiv wirken oder abhängig machen. Eine Erklärung hierfür war das geringe Vorkommen des Rezeptors im Gehirn (Guindon, Hohmann 2008). Andererseits existieren erste Ergebnisse, dass eben diese zentralen CB2-Rezeptoren und ihre Wirkmechanismen eine Beteiligung an Abhängigkeiten und an neuropsychiatrischen Funktionsstörungen haben (Yang, Wang et al. 2012).

Zunächst bestand also die Meinung, dass mit der weiteren Erforschung des CB2-Rezeptors und spezifischer Liganden eine Möglichkeit gefunden werden könnte, die durch diesen Rezeptor vermittelten Wirkungen zu beeinflussen und therapeutisch zu nutzen, ohne psychoaktiven Wirkungen ausgesetzt zu sein, die zunächst nur der CB1-Aktivierung zugeschrieben worden waren.

1.4 Signaltransduktion und Wirkmechanismen

Die CB-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Sieben-Transmembranrezeptoren (siehe 1.3). Wie bereits oben erwähnt, werden über die Cannabinoidrezeptoren viele Signalkaskaden beeinflusst, auszugsweise soll hier aber zunächst auf die am häufigsten Beschriebene eingegangen werden:

Der intrazelluläre Bestandteil des C-Terminus ist mit einem inhibitorischen G-Protein-Komplex verbunden. Wenn die Signalkaskade abläuft, wird die Adenylatcyclase inhibiert, es wird weniger zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) gebildet. Dieses ist ein wichtiger Botenstoff und wird auch als second messenger bezeichnet. Eine Verminderung bewirkt eine Herabsetzung der Aktivität der Proteinkinase A, welche die wichtige Phosphorylierung in der Zelle übernimmt (Pertwee, Howlett et al. 2010).

Intensive Forschung in den letzten 15 Jahren hat gezeigt, dass Endocannabinoide als Regulatoren der synaptischen Funktion im ZNS dienen.

Sie wirken dabei, indem sie durch retrograde Inhibition die Botenstofffreisetzung im synaptischen Spalt kurzfristig oder auch langanhaltend hemmen. Dabei sind die Endocannabinoide aber nicht vorrätig in einem Vesikel verstaut, sondern werden bei Gebrauch erst produziert. Diese binden an präsynaptische CB1-R und unterdrücken weitere Freisetzung an Neurotransmittern und wirken so als Bremse für neuronale Hyperaktivität (Castillo, Younts et al. 2012; Burston, Woodhams 2014).

Außer an den typischen Cannabinoidrezeptoren wie oben beschrieben, wirken manche Cannabinoide auch an folgenden Rezeptoren (Di Marzo, Wang 2015):

Tab. 3: Übersicht über Rezeptoren, an denen Cannabinoide wirken können (Auszug); THC = Tetrahydrocannabinol; CBD = Cannabidiol, k.A. = keine Angabe

Cannabinoid-ähnliche G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR):	
Rezeptor	**Ligand**
GPR18	Δ^9-THC, Anandamid und dessen Metabolit N-arachidonoylglycin (NaGly)
GPR55	THC, Cannabidiol als Antagonist
GPR119	Analoga von Anandamid und 2-AG wie N-oleoylethanolamin und 2-oleoylglycerol
Liganden- und Spannungsgesteuerte Ionenkanäle:	
Rezeptor	**Ligand**
TRP-Kanäle TRPV1, TRPV2, TRPV3 TRPA1, TRPM8	Anandamid CBD CBD und THC
Ionenkanäle Calciumkanäle Kaliumkanäle Natriumkanäle	THC, CBD, Anandamid
Liganden-gesteuerte Kanäle 5-HT3-Rezeptoren Glycinrezeptoren Nicotinerge Acetylcholinrezeptoren $GABA_A$-Rezeptoren	 Δ^9-THC, WIN55,212-2, Anandamid Ölsäureamid Anandamid Ölsäureamid
NMDA-Glutamat-Rezeptoren	Anandamid
Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR):	
Rezeptor	**Ligand**
PPARα, PPARγ	Anandamid

Ebenso wird beschrieben, dass CB1-R eine Heteromultimerisation mit anderen Rezeptoren eingehen kann, z.B.: Dopamin D2, Opioidrezeptoren und Orexin-1-Rezeptoren.

1.5 Analgesie durch Cannabinoide

Die Verwendung von Cannabis zur Therapie von Schmerzen geht auf eine über tausendjährige Geschichte zurück. Wie bereits oben erwähnt, wurde der Stoff im alten China zur Verbesserung von Nachgeburtsbeschwerden und zur Menstruationsförderung eingesetzt, aber auch als Art Betäubungsmittel bei Operationen. Zu Beginn des 19. Jahrhunderts verwendete man die Bestandteile von Cannabis in Europa als Extrakte oder Tinkturen sogar sehr häufig. Sie verloren dann aber an Wichtigkeit, da nach damaligen Wissenstands eine weitere Untersuchung der Inhaltsstoffe nur schwer möglich war (Geschwinde 2013).

Mit zunehmenden Erkenntnissen um die pflanzlichen Inhaltsstoffe aber auch um das natürliche Endocannabinoidsystem ist in den letzten Jahren neues Interesse an dessen Nutzung erwacht. Hier soll v.a. auf die analgetische Therapiemöglichkeit eingegangen werden.

Nach dem derzeitig bekannten Mechanismus der Schmerzentstehung und -weiterleitung, existieren mehrere Möglichkeiten, in dieses Geschehen einzugreifen: es wird diskutiert, dass Cannabinoide an peripheren, spinalen und supraspinalen Stellen in diesen Wirkkreis eingreifen können (Walker, Hohmann 2005).

Bei der Schmerzverarbeitung wird zunächst ein Schmerzstimulus von afferenten Neuronen in der Peripherie aufgenommen und in ein Aktionspotential übersetzt. Dieses wandert via afferenten Neuron vorbei am Spinalganglion, wo sich der Zellkörper des Neurons befindet und wird an einer Synapse im Hinterhorn des Rückenmarks umgeschaltet. Über eine von vielen aufsteigenden Bahnen gelangt das Aktionspotential zum Hirnstamm und zum Thalamus. Von hier aus erfolgt die Weitergabe an höhere Hirnzentren, die für die weitere Schmerzverarbeitung im Hinblick auf die sensorische und die affektiv-/emotionale Komponente des Schmerzempfindens zuständig sind.

Sowohl neuronale als auch nicht-neuronale Cannabinoidrezeptoren sind am analgetischen Effekt beteiligt, der durch periphere Endocannabinoide verursacht wird (Burston, Woodhams 2014).

Im Folgenden Zusammenschau nach Wirkort (Burston, Woodhams 2014):

Periphere Mechanismen:

AEA im Formalin-Modell (*inflammatory pain*-Modell) reduziert nozizeptive Empfindungen. Eine vorherige Blockade von CB1- oder CB2-Rezeptoren lässt keinen antinozizeptiven Effekt durch AEA mehr erkennen. Dieser Sachverhalt ist nur auf frühe Zeitpunkte des Schmerzmodells anzuwenden, denn man fand heraus, dass nach einer gewissen Zeit erneut gemessene EC-Levels gesunken waren. 2-AG zeigt im Formalin-Modell die gleiche Wirkung, aber durch einen CB2-Rezeptor-vermittelten Effekt.

Durch Applikation FAAH und MAGL-Inhibitoren, also Inhibitoren der Abbauenzyme von Endocannabinoiden zeigen sich antinozizeptive Effekte via CB1- und CB2-vermittelte Mechanismen im *acute*- und *inflammatory pain*-Modell.

Eine CB2-Rezeptoraktivierung auf Immunzellen hemmt die pro-inflammatorische und pro-nozizeptive Mediatorproduktion und –freisetzung, von z.B. reactive oxygen species und Zytokinen. Zusätzlich entsteht durch Metabolisierung von 2-AG Arachidonsäure, der Vorläuferstoff für pro-inflammatorische Prostaglandine. Es wurde gezeigt, dass eine Unterbrechung der Hydrolyse von 2-AG die Menge an Arachidonsäure herabsetzt und das Inflammationsgeschehen verringert.

Spinale Mechanismen:

Exogene Applikation von EC wirkt antinozizeptiv auf Rückenmarksebene, die intrathekale Gabe eines CB1-Antagonisten verursacht eine Hyperalgesie mit verstärkter Aktivität von wide dynamic range neurons (WDR-Neuronen) im Hinterhorn des Rückenmarks .

Generell sind sowohl im *acute* als auch *chronic pain*-Modell erhöhte spinale EC-Levels zu messen. Interessant dabei ist, dass im *acute pain*-Modell zunächst ein erniedrigter Level an AEA während des Auftretens von Hypersensitivität festzustellen ist. Mit dem Verschwinden der nozizeptiven Empfindungen kehrt dieser auf das Ausgangsniveau zurück. Die 2-AG-Konzentration hingegen ist während der glialen Zellaktivierung und der Hochregulation von CB2-Rezeptoren erhöht.

Genauso wurde im *neuropathischen* Schmerzmodell eine Erhöhung spinaler Level an AEA zu einem frühen Zeitpunkt entdeckt. Spinales Einbringen von URB597 (Inhibitor von FAAH, dadurch erhöhte Spiegel an AEA) reduziert die Aktivität von WDR-Neuronen, welche durch die Spinalnervenligatur stimuliert wurden, ein vorheriges Einbringen eines CB1-Antagonists unterbindet diesen Effekt.

Es wurden zudem Veränderungen in den Expressionsraten der Cannabinoidrezeptoren beschrieben, diese sind als Hinweise für die Einbindung des spinalen EC-Systems in der Schmerzverarbeitung zu werten:

Die CB1-Rezeptorexpression ist erhöht ab Tag 4 bei *neuropathischen* Schmerzen, steigend bis Tag 14. Eine erhöhte CB2-Rezeptorexpression findet sich ebenso ab Tag 4. Im Zuge einer genetischen Ablation des CNR2-Gens finden sich mehr Microglia und Astrozyten im kontralateralen Spinalhorn nach Nervenverletzung, begleitet von schwerer kontralateraler Allodynie. Dabei schützt eine Überexpression an CB2-Rezeptoren vor Allodynie nach Nervenverletzung und verhindert die Aktivierung glialer Zellen im Rückenmark.

Es konnte gezeigt werden, dass eine exogene Verabreichung von 2-AG Microglia-Migration stimuliert, wohingegen ein CB2-Antagonist Microglia-Migration hemmt. Diese Erkenntnisse führen zu der Annahme, dass das Endocannabinoidsystem stark mit glialer Zellkommunikation auf Rückenmarksebene verwoben ist.

Ein therapeutisches Eingreifen durch Veränderungen im Endocannabinoidsystem könnte somit sowohl durch eine Beeinflussung neuronaler Hyperaktivität aber auch glialer Zellaktivierung eine Auswirkung auf diverse Schmerzzustände ermöglichen.

<u>Supraspinale Mechanismen:</u>

Die Bestätigung, dass Cannabinoide durch Wirkung an supraspinaler Zentren Auswirkungen auf das Schmerzgeschehen haben, gelang durch Injektion von CB1-Liganden in Gebiete, die in Verbindung zum Schmerzempfinden stehen (die rostroventrale Medulla, den dorsalen Raphekern, dem periäquaduktalen Grau und der Amygdala) mit folgender Verbesserung der Analgesie.

Daraufhin erfolgte die Erforschung der Beteiligung von endogenen Liganden. Es konnte die Mobilisation von AEA nach elektrischer Stimulation dieser Bereiche oder nach peripherer Formalininstillation nachgewiesen werden. Die Menge an AEA in diesen Regionen lässt sich durch Inhibition von FAAH steigern, was in einem antinozizeptiven Effekt bei *akutem* Schmerzen resultiert. Vermutlich durch Desinhibition von absteigendenden inhibitorischen Signalen vom Hirnstamm zum Rückenmark, was zu einer Hemmung der Schmerzweiterleitung auf spinaler Ebene führt.

Supraspinale Endocannabinoidwirkungen werden dafür verantwortlich gemacht, bei Stress-induzierter Analgesie antinozizeptiv zu wirken, hier ist v.a. die Mobilisation von Endocannabinoiden im periäquaduktalen Grau, wie z.B. 2-AG und AEA zu nennen. 2-AG wird dabei eine Schlüsselrolle durch die Aktivität am CB1-Rezeptor zugeschrieben. Trotz der

anzunehmenden Beteiligung von Endocannabinoiden im Bereich der supraspinalen antinozizeptiven Effekte und den damit verbundenen potentiellen Therapiemöglichkeiten, muss an die unerwünschten psychoaktiven Effekte erinnert werden, die durch den CB1-Rezeptor vermittelt werden.

Auch beim *neuropathischen* Schmerzmodell konnte im supraspinalen Bereich ein erhöhter Level an Endoannabionoiden nachgewiesen werden. Zugleich wurde aber eine Desensibilisierung von CB1-Rezeptoren am 10. Tag bemerkt, genau zu dem Zeitpunkt, an dem die Schmerzempfindung am stärksten ausgeprägt war. Diese Desensibilisierung wird durch ständige Ligandenexposition verursacht und lässt schlussfolgern, dass eine solche ständige Endocannabinoid-Konzentrationserhöhung im Hirn besteht. Ob bei einer deshalb regelhaft stattfindenden CB1-Downregulierung hier ein therapeutischer Eingriffspunkt sinnvoll ist, bleibt weiterhin abzuklären.

Desweiteren besteht die Möglichkeit auf supraspinaler Ebene die affektive Komponente von Schmerzempfindungen zu beeinflussen, die v.a. im Frontalhirn und durch das limbische System vermittelt wird und von den sensorischen Aspekten getrennt werden kann.

1.6 Immunmodulation durch Cannabinoide

Sowohl die Endocannabinoidproduktion als auch die -freisetzung von und durch Immunzellen lässt auf Beteiligung bei der Regulation des Immunsystems schließen. Die Synthese und Aufnahme, aber auch der Abbau von Endocannabinoiden erfolgt durch Makrophagen und andere Leukozyten. Aber auch in Thrombozyten konnte die Akkumulation des Endocannabinoids 2-AG nachgewiesen werden, ebenso wie die Aufnahme von AEA durch Mastzellen.

Durch Endocannabinoide wird wie oben beschrieben, die Modulation der cAMP-Signalkaskade reguliert:

Durch die Aktivierung sowohl des CB1- als auch des CB2-Rezeptors findet eine negative Beeinflussung der Adenylatcyclase statt, deren Funktion ist, positiv auf die Regulation von Immunzellen zu wirken. Dadurch können frühzeitige Vorgänge bei der Immunzellaktivierung antagonisiert werden und Endocannabinoide eine Lymphozytenregulation bewirken. Durch CB1- und CB2-Rezeptoren kann die MAPK-Aktivität simuliert werden, desweiteren konnte gezeigt werden, dass Endocannabinoide über den CB2-Rezeptor den MAPK-Signalweg induzieren können. Diese Vorgänge spielen eine Schlüsselrolle bei der Immunhomöostase und

-regulation. Wichtig für die immunmodulatorischen Effekte durch Endocannabinoide scheint v.a. die CB2-Rezeptoraktivierung, denn antiinflammatorische CB2-vermittelte Effekte bestehen bei diversen pathologischen Zuständen und Krankheiten wie inflammatorischer Schmerz, Herzinfarkt, Schlaganfall, Leberdurchblutungsstörungen, entzündlichen Leber- und Darmerkrankungen und Atherosklerose.
Diese Effekte auf das Immunsystem scheinen instationär zu sein, dass bei benötigter Aktivierung die inhibitorischen Effekte überwunden werden können. Eine Cannabinoidrezeptordownregulation während stattfindender Immunzellaktivierung unterstreicht dies (Pandey, Mousawy et al. 2009).

Im ZNS arbeiten T-Lymphozyten, Oligodendrozyten, Astrozyten und Microglia zusammen. Das Endocannabinoidsystem hat dabei eine wichtige Rolle im Zellnetzwerk für Kommunikation in und zwischen dem Nerven- und Immunsystem während neuroinflammatorischer Geschehen inne. Diese inflammatorischen Geschehen sind Teil vieler akuter und chronischer neurodegenerativer Autoimmunkrankheiten. Die 2-AG-Konzentration ist dabei erhöht. Microglia und Astrozyten produzieren die Substanz nach Aktivierung über P2X7-Rezeptoren. Während 2-AG nur eine Rolle während kurzandauernder und lokaler Schäden zugeschrieben wird, hat AEA die Funktion zur Mitregulierung des generellen Zustands.
Als Hinweis auf die Beteiligung des Endocannabinoidsystems seien hier weitere Erkenntnisse aufgeführt:
Die Neuroprotektion bei MS durch Endocannabinoide ist gestört durch den erhöhten IFN-γ-Gehalt durch die Dysfunktion von P2X7-Rezeptoren. Weiterhin kam man zu der Erkenntnis, dass bei fehlendem CB1-Rezeptor ein deutlich erhöhter Schaden verursacht wird und bei Homozygoten des CB2-Polymorphismus 188-189 GG/GG eine erhöhte Prädisposition für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen beobachtet werden konnte (Pandey, Mousawy et al. 2009).

Generell sind Effekte der Endocannabinoide auf T- und B-Zellproliferation und –apoptose, Makrophagen-vermittelte Tötung sensibilisierter Zellen, inflammatorische Zytokinproduktion, Immunzellaktivierung durch inflammatorische Stimuli, Chemotaxis und inflammatorische Zellmigration bekannt. Diese kommen vermutlich durch CB2-Rezeptoraktivierung und folgende Inhibition der cAMP-Kaskade zustande. Die Effekte finden aber auch auf Zellkern-Ebene statt. Hier sind z.B. die Phosphorylierung von NFκB, welches die Transkription von apoptotischen Genen steigert, PPARγ-abhängige Inhibition von nuclear factor von aktivierten

T-Zellen (NF-AT) und Eingreifen in den Zellzyklus durch Aktivierung von p21waf-1/cip-1 und Induktion eines G1/S-Arrests zu nennen (Pandey, Mousawy et al. 2009).

Im Folgenden Zusammenschau nach Immunzellen (Pandey, Mousawy et al. 2009):

Lymphozyten

- AEA: Inhibition DNA-Synthese bei T- und B-Zellen, Apoptose-Induktion
- 2-AG: immunmodulatorische Effekte bei Lymphozytenproliferation, mixed-Lymphozytenantwort und Antikörper-bildender Zellantworten (sowohl T-Zell-abhängig, als auch -unabhängig)
- Hohe Expressionsraten an CB-Rezeptoren auf B-Zellen
- Verhinderung einer Antikörperproduktion durch (Endo-)Cannnabinoide in micromolaren Konzentrationen, aber auch durch Beeinflussung von TH-Zell-abhängiger Zytokinproduktion durch Endocannabinoide
- Stimulierung einer B-Zell-Migration via CB2-Rezeptor, sowie CB2-vermittelte B-Zell-Differenzierung (direkter Effekt oder via T-Zellen) und Makrophagen
- Downregulation von CD4+T-Zellen, Anandamid inhibiert die Adenylatcyclaseaktivität bei Splenozyten und Thymozyten
- Annahme, dass über die Beeinflussung der PPARγ-Aktivität auch Einfluss auf T-Zellen ausgeübt wird
- Effekt auf T-Zell-Zytokine: sowohl Inhibition aber Induktion möglich

Makrophagen

- AEA: Inhibition von Makrophagen-induziertem Zelltod und der Expression von proinflammatorischen Mediatoren, vermittelt durch den CB2-Rezeptor
- 2-AG: verringerte IL-6-Produktion, aber verstärkte NO-Produktion, vermehrte Adhäsionsfähigkeit an VCAM-1 und Fibronektin, a.e. via CB2-Rezeptor, G_i-G_0-Proteine und den Phosphatidylinositol-3-Kinase-Signalweg
- Verringerte Chemotaxis: starke Wirkung auf Makrophagenmigration via CB2-Rezeptor

Mastzellen

- Expression sowohl von CB1- als auch CB2-Rezeptoren
- PEA: Downregulation der Mastzellaktivierung
- AEA: Antagonisierung der Mastzellaktivierung, Histaminfreisetzung durch andere Endocannabinoide nicht CB-Rezeptor-vermittelt

- Anti-IgE-vermittelte Histaminfreisetzung durch synthetische Liganden: kein suppressiver Effekt von AEA oder PEA, aber aufgehobene 2-AG vermittelte Suppression von Histaminfreisetzung durch CB2-Antagonist,
- weitere Hinweise für Rezeptor-abhängige Mastzellaktivierung durch Cannabinoide

Dendritische Zellen

- Expression von sowohl CB1- als auch CB2-Rezeptoren auf menschlichen dendritischen Zellen
- Regulation von Wachstum und Reifen durch Endocannabinoide
- Erhöhter Gehalt an 2-AG während einer Aktivierung durch LPS, aber keine erhöhte Menge an CB-Rezeptoren oder FAAH
- 2-AG: Chemotaxis für die Rekrutierung von DCs bei der angeborenen Immunantwort und Fähigkeit, eine Immunantwort mit TH1-Shift zu initiieren
- Apoptoseinduktion durch endogene und exogene Cannabinoide, sowohl CB1- als auch CB2-vermittelt

Natürliche Killerzellen

- Suppression von NK-Zell-Zytolyse
- Expression von konstitutiv sezernierten Zytokinen wie IL-8, MIP1-α, MIP1-β, RANTES, TNFα, GM-CSF und IFN-ɣ

Neutrophile Zellen:

- Freisetzung von nicht-zytotoxisch wirksamen Lysosymen durch Cannabinoide
- AEA: keine Blockade der Superoxidfreisetzung, aber durch synthetische Liganden, Funktion unabhängig von Cannabinoidrezeptoren

1.7 Beteiligung der Immunzellen am Schmerzgeschehen

Um eine Verbindung zwischen dem Immunsystem und dem Schmerzgeschehen aufzuzeigen, soll eine kurze tabellarische Übersicht die Beteiligung der diversen Immunzellen bei chronischen Schmerzzuständen wiedergeben (Marchand, Perretti et al. 2005).

Tab. 4: Übersicht über die Beteiligung der verschiedenen Immunzellen und deren Wirkungen in verschiedenen Schmerzmodellen; TNFα = tumor necrosis factor α, IL-1β = Interleukin 1β, NGF = nerve growth factor, NO = nitric oxide, DRG = dorsal root ganglion, SCI = spinal cord injury, ED = Encephalitis disseminata

Schmerzgeschehen	Beteiligter Zelltyp	Effekt
„Acute pain"	Keiner	Keiner
Periphere Mechanismen „Inflammatory pain"	Mastzellen	Degranulation, Zytokinausschüttung Erythema, Hyperalgesie auf Hitze
	Makrophagen	Produktion von inflammatorischen Mediatoren: pro-inflammatorische Zytokine TNFα, IL-1β, NGF, NO, Prostanoide Hyperalgesie, Rekrutierung und Aktivierung anderer Zellen
	Neutrophile	Produktion von inflammatorischen Mediatoren: Lipoxygenase Produkte, NO, Zytokine, Chemokine Hyperalgesie
	Lymphozyten	Produktion von inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen
Periphere Mechanismen „Neuropathic pain"	Mastzellen	Degranulation, Zytokinausschüttung Erythema
	Neutrophile	Thermische Hyperalgesie
	Schwann-Zellen	NGF und TNF über IL-1β-Produktion durch Makrophagen
	T-Zellen	Thermische und mechanische Allodynie (schwache Beeinflussung)
	Makrophagen und T-Zellen	Rekrutierung zum Hinterhornganglion (DRG)
Zentrale Mechanismen „Neuropathic pain"	Microglia	Taktile Allodynie, thermische Hyperalgesie
	Makrophagen und T-Zellen	wenig erforscht
Zentrale Mechanismen	SCI: Neutrophile,	Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, die beim Schmerz

"Pain states because of central injuries"	Monozyten/Makrophagen, Lymphozyten, Microglia	aufgrund einer peripheren Nervenverletzung auftreten
	ED: T- und B-Lymphozyten Mastzellen, Makrophagen, Microglia und Astrozyten	Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, die beim Schmerz aufgrund einer peripheren Nervenverletzung auftreten

1.8 Einzelbasenpaaraustausche (Single Nucleotide Polymorphisms)

1.8.1 Definition

Das Wort Polymorphismus bedeutet, dass eine Mutation auf das Erbgut aller Individuen zusammen, mit einer Häufigkeit von größer oder gleich einem Prozent auftritt. Der am häufigsten auftretende Polymorphismus ist der Single Nucleotide Polymorphism (SNP), der davon circa 80% ausmacht (Carrasquer, Nebane et al. 2010).

Single Nucleotide Polymorphism bedeutet den möglichen Austausch eines einzelnen Basenpaars auf dem DNA-Strang. Dabei kann es vorkommen, dass dieses Basenpaar auf einem für ein Gen kodierenden Teil (Exon) oder auf einem nicht-kodierenden Teil (Intron) liegt. Da im menschlichen Erbgut mehr Introns als Exons vorkommen, bleibt ein Austausch meist ohne Folgen. Wenn der Austausch aber innerhalb eines Exons vorliegt, resultiert darin in manchen Fällen eine Änderung der Aminosäuresequenz durch die Veränderung der Basenfolge der von der veränderten DNA abgelesenen RNA. Dass dies nur in manchen Fällen geschieht, hängt mit der Stelle, an dem die Mutation stattfindet zusammen, da immer drei Basen für eine Aminosäure kodieren („Triplets"), aber manche Aminosäuren durch mehrere Tripletts erzeugt werden können, die sich dann am ehesten an der zweiten und dritten Basenstelle unterscheiden. Dies bezeichnet man als sog. degenerierten genetischen Code.

Zum allgemeinen Verständnis werden SNPs folgendermaßen verzeichnet:

Der Wildtyp, also die Aminosäure mit der größten Allelfrequenz wird vorangestellt, dann folgt eine Ziffer, die die Stelle des Aminosäureaustauschs im Gen angibt und der zweite Buchstabe gibt an, welche Aminosäure dort als Polymorphismus vorkommen kann.

Falls aufgrund des degenerierten genetischen Codes tatsächlich ein solcher Austausch stattfindet, kann dieser funktionslos sein oder Folgen für die Funktion eines bestimmten Proteins haben. Dabei können unter Umständen schwere Stoffwechselstörungen resultieren, die mit dem Leben unvereinbar sind. Gewiss ist zu bedenken, dass solche letal endenden Punktmutationen keine Häufigkeit von 1% in der Gesamtbevölkerung erreichen können.
Nach der Darlegung dieser Tatsachen ist nachzuvollziehen, warum das medizinische Interesse an der Erforschung von SNPs und deren jeweilige Auswirkungen auf Funktionen des menschlichen Körpers sehr groß ist.

1.8.2 CB2-SNP mit Auswirkung auf Immunmodulation

Laut Literaturlage existiert für den CB2-Rezeptor eine Vielzahl an Single Nucleotid Polymorphismen.
In diversen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass der CB2-Rezeptor eine wichtige Rolle bei der Schmerzwahrnehmung hat. Dabei kann durch eine Beeinflussung via CB2-Rezeptor eine Modulierung von akutem, chronisch-inflammatorischem, postoperativem, Tumor- als auch neuropathischem Schmerz möglich werden (Yang, Wang et al. 2012). Wie bereits erwähnt, existiert dabei eine enge Verbindung zu immunmodulatorischen Auswirkungen durch CB2-Rezeptoraktivierung (Romero-Sandoval, Horvath et al. 2008).
Bisher sind hauptsächlich zwei SNPs des CB2-Rezeptors bekannt, die eine Auswirkung auf die durch Endocannabinoide stattfindende Immunmodulation haben. Diese tragen die Reference SNP Cluster IDs rs2501432 und rs2229579. Der jeweilige Austausch eines Basenpaars hat hier einen Aminosäurewechsel nach sich gezogen, auf diesen sich aber kein Funktionsverlust des Cannabinoidrezeptors eingestellt hat (Sipe, Arbour et al. 2005; Carrasquer, Nebane et al. 2010).
Bei rs2501432 befindet sich am CB2-R cDNA-Locus 188 und 189 anstatt der Basen Guanin (G) jeweils eine Adeninbase (A). So wurde durch den genetischen Code die Arginin-Aminosäure (Triplet: CAA) durch die Aminosäure Glutamin (Triplet: CGG) an der Position 63 ersetzt (Q63R). Dabei ist jeder Genlocus durch den humanen diploiden Chromosomensatz doppelt vorhanden, kann aber verschiedene Varianten aufweisen, welche als Allele bezeichnet werden. Bezüglich des rs2501432 trat bei GG/GG homozygoten Individuen eine zweifach geringere Proliferationsinhibition von T-Lymphozyten durch Endocannabinoide auf, zudem konnte gezeigt werden, dass bei Patienten, die an einer Autoimmunerkrankung litten, eine erhöhte Prävalenz des GG/GG homozygoten Genotyps vorlag.

Es interessierte uns eine mögliche Korrelation zwischen besonderem Vorteil einer Cannabis-vermittelten Schmerztherapie und der Veränderung der Zahl verschiedener Immunzellen im Sinne einer stattfindenden Immunmodulation in Bezug auf die Mutationsvariante rs2501432 des Cannabinoidrezeptors 2.

1.9 Fragestellung

Aufgrund oben genannter Erkenntnisse soll sich diese Arbeit mit der Fragestellung molekularer Mechanismen einer Cannabis-vermittelten Schmerztherapie befassen.

Wenn während einer längerfristigen Dronabinoltherapie eine Immunmodulation stattfindet, spiegelt sich diese in einer Veränderung der Zelloberflächenmarker wieder?
Besteht dabei ein Unterschied hinsichtlich des Vorhandenseins des SNPs rs2501432?
Kann man eine Verbindung zwischen der Veränderung der Zelloberflächenmarker und der Wirkung auf chronische Schmerzen durch Einnahme des Dronabinolpräparats herstellen?

2 Material und Methoden

2.1 Vorangegangene Studie

Die Daten, die als Grundlage dieser Arbeit dienen, stellen eine Weiterführung klinischer Untersuchungen dar, die als Grundlage zweier anderer Dissertationen diente. Es sei hiermit auf eine Verbindung durch Untersuchung desselben Patientengutes zu den Dissertationen von El Hindy und Wilhelm-Buchstab 2007 hingewiesen:

Wilhelm-Buchstab T: Untersuchung zur analgetischen Wirksamkeit von Δ9-Tetrahydrocannabinol (Dronabinol) bei Patienten mit chronischen Schmerzen, die mit einem medikamentös-analgetischen Schema der Stufe II oder III nach WHO behandelt werden. Med. Dissertation, Universität Ulm (2008)

El-Hindy, N: Hat Dronabinol bei Patienten mit chronischen Schmerzen, die mit einem medikamentös-analgetischen Schema der Stufe II oder III nach WHO behandelt werden, eine additive, analgetische Wirkung? Med. Dissertation, Universität Ulm (2008)

Bei der für diese Dissertationen zugrunde liegenden Studie wurden 35 Patienten mit Cannabispräparaten behandelt. Es wurden dabei folgende Fragestellungen behandelt: Analgestische Wirksamkeit von Δ^9-Tetrahydrocannabinol (Dronabinol) bei Patienten mit chronischen Schmerzen, die nach einem medikamentös-analgetischen Schema der Stufe 2 oder 3 nach WHO behandelt werden und mögliche additive, analgetische Wirkung bei diesen Patienten.

Dabei wurde zunächst ein Dosierungsschema des Medikaments im Hinblick auf die Verträglichkeit herausgearbeitet und anschließend eine mögliche analgetische Wirksamkeit untersucht.

Einige der ausgewählten Patienten profitierten besonders von der Dronabinoltherapie, dass sich der damalige Schmerztherapeut, Prof. Dr. med. W. Seeling, zu einer Fortführung der Therapie im Einzelfall entschied. Die aus dieser Fortführung resultierende Dauer der einzelnen Therapien ist deshalb sehr unterschiedlich. Meist erfolgte die Einstellung der weitergeführten Therapie nach Absage der Kostenübernahme durch die Krankenkasse, wegen ungenügender Wirksamkeit nach einem Auslassversuch (ALV) trotz Wirksamkeit während der ersten Einnahmeperiode, oder wurde das Medikament nach einer Reduktion der übrigen

Schmerzmedikation, wenn weitere Erfolge dahingehend stagnierten, wieder ausgeschlichen. Die Dosierungen wurden auf den jeweiligen Patienten angepasst. Die Patienten führten den damals erstellten Fragebogen zur Evaluation des Therapieerfolgs weiter, zudem erfolgte zu jeder Visite eine Blutentnahme mit Bestimmung der Zelloberflächenmarker im Labor von Frau Prof. Dr. rer. nat. Schneider.
Das Aktenzeichen des Votums der Ethikkommission lautet Nr. 55/2001.

2.2 Schmerztagebuch

Für die ursprüngliche Studie (im Folgenden „Pilotstudie" genannt) wurde für jeden Patienten ein Prüfbogen mit den wichtigen Daten angelegt: medikamentöse Therapie, Anamnese, klinischer Befund, Vitalparameter, Labordiagnostik. Der Studienablauf der „Pilotstudie" wurde in insgesamt 5 Phasen eingeteilt:

- A: Aufnahmetag
- B: Studienbeginn; Datenerhebung unter stabiler Weiterführung der bisherigen Medikation zu Hause
- C: stationäre Phase; stationäre Aufdosierung des Medikaments
- D: zweite, ambulante Phase; Datenerhebung unter Weiterführung der bisherigen Medikation und des Medikaments zu Hause
- E: Ende der Studie

Während der weiterführenden Therapie wurden weiterhin diese Daten erhoben, die während Medikamenteneinnahme zu Hause festgehalten wurden (Phase D): Schmerz- und Befindlichkeitstagebuch. Zu jedem Wiedervorstellungstermin beim Schmerztherapeut, der in etwa in einem Intervall von 4 Wochen stattfand, wurden die Patienten angehalten, diese Fragen zu beantworten.
Es wurde die jeweilige Schmerzstärke auf einer numerischen Ratingskala (0 = kein Schmerz bis 10 = stärkster vorstellbarer Schmerz) um 7 Uhr, 11 Uhr, 15 Uhr und 19 Uhr erfragt. Zwischen 21 und 23 Uhr sollten die Patienten die Erträglichkeit des Schmerzes im Tagesverlauf einordnen. Die Patienten konnten Werte zwischen -2 bis +2 angeben.

Tab. 5: Eintragung ins Schmerztagebuch über die Erträglichkeit des Schmerzes; VRS = verbale Ratingskala

	VRS
Ich war so gut wie schmerzfrei	-2
Meine Schmerzen waren gut erträglich	-1

Meine Schmerzen waren gerade noch erträglich	0
Meine Schmerzen waren schlecht zu ertragen	1
Meine Schmerzen waren sehr schlecht zu ertragen	2

Ebenso sollte die Schlafqualität der vorangegangenen Nacht beurteilt werden.

Tab. 6: Eintragung in das Schmerztagebuch über die Schlafqualität; VRS = verbale Ratingskala

Ich habe in der vergangenen Nacht	VRS
Sehr gut geschlafen	-2
Gut geschlafen	-1
Mäßig gut geschlafen	0
Schlecht geschlafen	1
Sehr schlecht geschlafen	2

Es sollte auch über die Wachphasen in der Nacht berichtet werden.

Tab. 7: Eintragung in das Schmerztagebuch über die Wachphasen in der Nacht

Ich bin wegen Schmerzen		Mal aufgewacht
Ich bin unabhängig von Schmerzen		Mal aufgewacht
Ich habe in dieser Nacht		Stunden geschlafen

Eine Aussage zum Zustand nach dem Nachtschlaf am nächsten Morgen sollte angegeben werden.

Tab. 8: Eintragung in das Schmerztagebuch über den Zustand nach dem Nachtschlaf; VRS = verbale Ratingskala

Ich bin heute Morgen	VRS
Völlig ausgeschlafen und aktiv	-2
Ausgeschlafen aber nicht sehr aktiv	-1
Einigermaßen ausgeschlafen, antriebsarm	0
Nicht ausgeschlafen, antriebslos	1
Völlig unausgeschlafen, zerschlagen, antriebslos	2

Außerdem sollten zwischen 21 und 23 Uhr Aussagen über Übelkeit, Appetit und Stimmung im Tagesverlauf getätigt werden, sowie ggf. die Anzahl bei Erbrechen und die Häufigkeit des Stuhlgangs angegeben werden.

Tab. 9: Eintragung in das Schmerztagebuch über Übelkeit während des Tages

Keine	Gering	Mäßig stark	Stark	Sehr stark
-2	-1	0	1	2

Tab. 10: Eintragung in das Schmerztagebuch über den Appetit während des Tages

Sehr gut	Gut	Mäßig	Gering	Kein Appetit
-2	-1	0	1	2

Tab. 11: Eintragung in das Schmerztagebuch über die Stimmung während des Tages

Sehr gut	Gut	Mittelmäßig	Ängstlich oder Traurig	Ängstlich und Traurig
-2	-1	0	1	2

Zur Beurteilung der analgetischen Wirkung des Cannabispräparats unter der weitergeführten Therapie wurden die jeweiligen angegebenen Schmerzstärken herangezogen und im Verlauf als Mittelwert der jeweiligen Woche, während der die Daten erfasst wurden, aufgetragen.

2.3 Durchflusszytometrie

2.3.1 Prinzip der Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ist ein Messverfahren, das in der Medizin und Biologie eingesetzt wird, um Zellen anhand ihrer Oberflächenantigene zu differenzieren.

Zur Analyse ihrer Eigenschaften werden die Zellen nacheinander durch einen Mikrokanal der Messkammer (sog. „flow cell") aus Glas oder Quarz geschickt. Dabei wird jede Zelle einzeln von einem Laser beleuchtet, wobei je nach Art der Zelle unterschiedliches Streulicht entsteht. Es gibt sog. Vorwärtsstreulicht (FSC, in Richtung des Laserstrahls) und Seitwärtsstreulicht (SSC, circa im rechten Winkel zum beleuchtenden Laserstrahl), wobei das Vorwärtsstreulicht direkt proportional mit der Größe der Zelle zusammenhängt und das Seitwärtsstreulicht mit den vorhandenen intrazellulären Strukturen korreliert. Beispiele hierfür sind die Größe und Struktur des Zellkerns, die Menge der Vesikel im Zellinnern. Man spricht von der Granularität. Durch Auswertung des entstehenden Streulichts ist also eine genauere Untersuchung der Zellen möglich. Dazu werden die Zellen in einer Grafik, einem Dot-Plot, dargestellt.

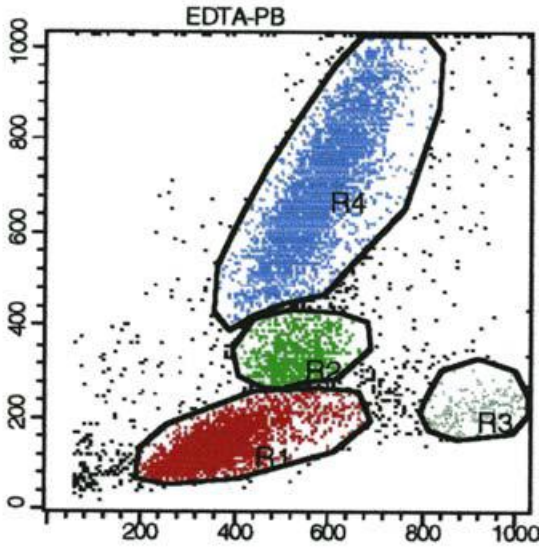

Abb. 2: Dot-Plot-Darstellung mit Auftragung des Vorwärtsstreulichtes (FSC) auf x-Achse und des Seitwärtsstreulichtes (SSC) auf der y-Achse, die „Gates" R1 (Lymphozytenpopulation), R2 und R4 (Monozytenpopulation), R3 (Polymorph nuclear cells)

Man trägt auf der x-Achse das Vorwärtsstreulicht und auf der y-Achse das Seitwärtsstreulicht auf. Zellen, die gemeinsame Eigenschaften in Bezug auf das Streulicht haben, können dadurch in unterschiedliche Populationen unterschieden und in sog. R (für region)-Fenster eingeteilt werden. Die Leukozytensubpopulationen sind so definiert:

R1: Lymphozyten, FSC und SSC gering

R2: Monozyten, FSC hoch und SSC mäßig

R3: Granulozyten, FSC sehr hoch, SSC gering bis mäßig

R4: Monozyten, FSC hoch bis sehr hoch, SSC hoch bis sehr hoch

Um nun die bestimmten Zellpopulationen der R-Fenster einzeln zu untersuchen, kann man sog. „Gates" im Dot-Plot anlegen, die jeweils die Zellen der diversen R-Fenster umfassen und schließlich die einzelnen Populationen (Lymphozyten, Monozyten, Granulozyten) in einem neuen Dot-Plot anzeigen.

2.3.2 Antikörper und Designblätter

Zur Untersuchung bestimmter Eigenschaften von Zellen kann man sich der Möglichkeit der Fluoreszenzmessung mittels Durchflusszytometers bedienen. Dabei werden die interessierenden Merkmale mit fluoreszierenden Antikörpern gegen eben diese markiert und gemessen.

Um nur die Oberflächenantigene von Leukozyten bestimmen zu können, werden zunächst die anderen Zellbestandteile (Erythrozyten und Thrombozyten) einer EDTA-Blutprobe lysiert, die verbleibenden Leukozyten mit den monoklonalen Antikörpern inkubiert. Um überschüssige

Antikörper zu entfernen, erfolgt ein Waschvorgang vor der Messung mit dem Durchflusszytometer. Es gibt verschiedene Markierung der monoklonalen Antikörper, z.B. die FITC- und die PE-Markierung, diese geben eine unterschiedliche Fluoreszierung bei der Messung mit Durchflusszytometer ab. Die FITC-Markierung ist eine Grünfluoreszenz und PE-Markierung eine Rotfluoreszenz. Zur Auswertung werden die Fluoreszierungen als Achsen für eine Dot-Plot-Grafik gegeneinander aufgetragen.

Wie bereits erwähnt, erfolgte die Probenentnahme bei den Patienten im Rahmen der weitergeführten Therapie nicht als Teil einer konzipierten Studie. So ist ein Unterschied von Probe zu Probe in Hinsicht sowohl auf die Verwendung der Antikörper als auch in der Art ihrer Markierung (FITC-Markierung oder PE-Markierung) und aufgrund dessen auch im Hinblick auf die Kombinationen mit anderen Antikörpern gegeben.

Die folgenden vier Tabellen zeigen die diversen Designblätter.

Tab. 12: Designblatt Version 1 und 1b: Anordnung und Kombination der verwendeten monoklonalen Antikörper der verschiedenen Hersteller in den Röhrchen 1-20 (Version 1) oder 1-18 (Version 1b); Antikörper gegen CDx für cluster of differentiation, TLRx für Toll-like Rezeptor, HLA-DR für humanes Leukozyten Antigen, WT 31 für Anti-T-Zellrezeptor (Anti-TCRα/β) , Valpha24 für Anti-NK-T-Zellrezeptor, FITC-Markierung entspricht der Grünfluoreszenz entlang der x-Achse; PE-Markierung entspricht der Rotfluoreszenz entlang der y-Achse

1	Isotyp: **Mouse**	FITC	BD	IgG1	1	**Mouse** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
2	Leucogate: **CD45**	FITC	BD	IgG1	2	**CD14** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
3	**CD4**	FITC	BD	IgG1	3	**CD8** (Kombi)	PE	Immunotech	IgG1
4	**WT31**	FITC	BD	IgG1 Anti-TCR a/b	4	**CD3**	PE	DAKO	
5	**CD57**	FITC	BD	IgM	5	**CD69**	PE	BD	
6	**CD80**	FITC	Immunotech	IgG1	6	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
7	**CD86**	FITC	PharMingen	IgG1	7	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
8	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	8	**Cytotox**	PE	Immunotech	IgG1 K-mouse
9	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	9	**CD56**	PE	BD	IgG1
10	**CD16**	FITC	PharMingen	IgG2a	10	**CD56**	PE	BD	IgG1
11	**CD23**	FITC	Dako		11	**CD19**	PE	Dako	IgG1
12	**CD39**	FITC	Serotech		12	**CD40**	PE	Immunotech	IgG1
13	**CD64**	FITC	Immunotech	IgG1	13	**CD25**	PE	Diaclone	IgG1
14	**CD1a**	FITC	Dako	IgG2a	14	**CD83**	PE	Beckman Coulter	IgG2b
15	**CD95**	FITC	Alexis	IgG3	15	**CD95**	PE	BD	IgG1
16	**CD56**	FITC			16	**CD161**	PE	Pharmingen	
17	**HLA-DR**	FITC	BD	IgG2a	17	**CD123 (1:20)**	PE	Pharmingen	IgG1
18	**6B11 (1:30)**	FITC	Wilson	IgG1	18	**V Alpha 24**	PE	Immunotech	
19	**WT31**	FITC	BD	IgG1 Anti-TCR a/b	19	**CD117**	PE	Immunotech	
20	**TLR 2**	FITC			20	**TLR 4**	PE		

Tab. 13: Designblatt Version 2 und 2b: Anordnung und Kombination der verwendeten monoklonalen Antikörper der verschiedenen Hersteller in den Röhrchen 1-20 (Version 2) oder 1-18 (Version 2b); Antikörper gegen CDx für cluster of differentiation, TLRx für Toll-like Rezeptor, HLA-DR für humanes Leukozyten Antigen, 6B11 für Anti-iNK-T-Zellrezeptor, Valpha24 für Anti-NK-T-Zellrezeptor, FITC-Markierung entspricht der Grünfluoreszenz entlang der x-Achse; PE-Markierung entspricht der Rotfluoreszenz entlang der y-Achse

1	Isotyp: **Mouse**	FITC	BD	IgG1	1	**Mouse** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
2	Leucogate: **CD45**	FITC	BD	IgG1	2	**CD14** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
3	**CD4**	FITC	BD	IgG1	3	**CD8** (Kombi)	PE	Immunotech	IgG1
4	**WT31**	FITC	BD	IgG1 Anti-TCR a/b	4	**CD3**	PE	DAKO	
5	**CD57**	FITC	BD	IgM	5	**CD69**	PE	BD	
6	**CD80**	FITC	Immunotech	IgG1	6	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
7	**CD86**	FITC	PharMingen	IgG1	7	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
8	**Anti HLA-DR**	FITC	I1a Coulter		8	**CD19**	PE	Dako	IgG1
9	**CD23**	FITC	Dako		9	**CD40**	PE	Immunotech	IgG1
10	**CD64**	FITC	Immunotech	IgG1	10	**CD25**	PE	Diaclone	IgG1
11	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	11	**CD56**	PE	BD	IgG1
12	**CD1a**	FITC	Dako	IgG2a	12	**CD83**	PE	Beckman Coulter	IgG2b
13	**CD95**	FITC	Alexis	IgG3	13	**CD95**	PE	BD	IgG1
14	**CD56**	FITC	BD	IgG1	14	**CD161**	PE	Pharmingen	
15	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	15	**CD56**	PE	BD	IgG1
16	**HLA-DR**	FITC	BD	IgG2a	16	**CD123 (1:20)**	PE	Pharmingen	IgG1
17	**CD25**	FITC	DAKO		17	**CD69**	PE	BD	
18	**6B11 (1:30)**	FITC	Wilson	IgG1	18	**V Alpha 24**	PE	Immunotech	
19	**CD16**	FITC	PharMingen		19	**CD56**	PE	BD	IgG1
20	**TLR 2**	FITC			20	**TLR 4**	PE		

Tab. 14: Designblatt Version 3: Anordnung und Kombination der verwendeten monoklonalen Antikörper der verschiedenen Hersteller in den Röhrchen 1-20; Antikörper gegen CDx für cluster of differentiation, TLRx für Toll-like Rezeptor, HLA-DR für humanes Leukozyten Antigen, WT 31 für Anti-T-Zellrezeptor (Anti-TCRα/β), Valpha24 für Anti-NK-T-Zellrezeptor, FITC-Markierung entspricht der Grünfluoreszenz entlang der x-Achse; PE-Markierung entspricht der Rotfluoreszenz entlang der y-Achse

1	Isotyp: **Mouse**	FITC	BD	IgG1	1	**Mouse** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
2	Leucogate: **CD45**	FITC	BD	IgG1	2	**CD14** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
3	**CD4**	FITC	BD	IgG1	3	**CD8** (Kombi)	PE	Immunotech	IgG1
4	**WT31**	FITC	BD	IgG1 Anti-TCR a/b	4	**CD3**	PE	DAKO	
5	**CD57**	FITC	BD	IgM	5	**CD69**	PE	BD	
6	**CD80**	FITC	Immunotech	IgG1	6	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
7	**CD86**	FITC	PharMingen	IgG1	7	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
8	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	8	**Cytotox**	PE	Immunotech	IgG1 K-mouse
9	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	9	**CD56**	PE	BD	IgG1
10	**CD16**	FITC	PharMingen	IgG2a	10	**CD56**	PE	BD	IgG1
11	**CD23**	FITC	Dako		11	**CD19**	PE	Dako	IgG1
12	**CD39**	FITC	Serotech		12	**CD40**	PE	Immunotech	IgG1

13	**CD64**	FITC	Immunotech	IgG1	13	**CD25**	PE	Diaclone	IgG1
14	**CD1a**	FITC	Dako	IgG2a	14	**CD83**	PE	Beckman Coulter	IgG2b
15	**CD95**	FITC	Alexis	IgG3	15	**CD95**	PE	BD	IgG1
16	**CD56**	FITC			16	**CD161**	PE	Pharmingen	
17	**HLA-DR**	FITC	BD	IgG2a	17	**CD123 (1:20)**	PE	Pharmingen	IgG1
18	**CD163**	FITC		IgG1	18	**V Alpha 24**	PE	Immunotech	
19	**WT31**	FITC	BD	IgG1 Anti-TCR a/b	19	**CD117**	PE	Immunotech	
20	**TLR 2**	FITC			20	**TLR 4**	PE		

Tab. 15: Designblatt Version 4: Anordnung und Kombination der verwendeten monoklonalen Antikörper der verschiedenen Hersteller in den Röhrchen 1-18; Antikörper gegen CDx für cluster of differentiation, TLRx für Toll-like Rezeptor, HLA-DR für humanes Leukozyten Antigen, 6B11 für Anti-iNK-T-Zellrezeptor, Valpha24 für Anti-NK-T-Zellrezeptor, FITC-Markierung entspricht der Grünfluoreszenz entlang der x-Achse; PE-Markierung entspricht der Rotfluoreszenz entlang der y-Achse

1	Isotyp: **Mouse**	FITC	BD	IgG1	1	**Mouse** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
2	Leucogate: **CD45**	FITC	BD	IgG1	2	**CD14** (Kombi)	PE	BD	IgG2a
3	**CD8**	FITC		IgG1	3	**CD4** (Kombi)	PE	Caltag	IgG1
4	**WT31**	FITC	BD	IgG1 Anti-TCR a/b	4	**CD3**	PE	DAKO	
5	**CD57**	FITC	BD	IgM	5	**CD69**	PE	BD	
6	**CD80**	FITC	Immunotech	IgG1	6	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
7	**CD86**	FITC	PharMingen	IgG1	7	**CD2**	PE	Immunotech	IgG1
8	**Anti HLA-DR**	FITC	I1a Coulter		8	**CD19**	PE	Dako	IgG1
9	**CD23**	FITC	Dako		9	**CD40**	PE	Immunotech	IgG1
10	**CD64**	FITC	Immunotech	IgG1	10	**CD25**	PE	Diaclone	IgG1
11	**CD3**	FITC	Immunotech	IgG1	11	**Cytotox**	PE	Immunotech	IgG1 K-mouse
12	**CD1a**	FITC	Dako	IgG2a	12	**CD83**	PE	Beckman Coulter	IgG2b
13	**CD95**	FITC	Alexis	IgG3	13	**CD95**	PE	BD	IgG1
14	**CD56**	FITC	BD	IgG1	14	**CD161**	PE	Pharmingen	
15	**CD3**	FITC	Dako	IgG1	15	**CD56**	PE	BD	IgG1
16	**CD39**	FITC	BD	IgG2a	16	**CD123**	PE	BD	IgG1
17	**CD25**	FITC	BD		17	**CD69**	PE	BD	
18	**6B11 (1:30)**	FITC	Wilson	IgG1	18	**V Alpha 24**	PE	Immunotech	

Die verwendeten monoklonalen Antikörper richteten sich gegen folgende Oberflächenmarker, die sog. cluster of differentiation (CD) (Weizmann Institute of Science ; Murphy, Janeway et al. 2009):

CD1a

- Antigen-präsentierendes Protein, das Lipid- und Glykolipidantigene bindet und T-Zellen und NK-T-Zellen präsentiert, liegt außerhalb der MHC-Region
- MHC-Klasse-I-ähnliches Moleküle, bildet Heterodimere mit β_2-Mikroglobulin

- Expression v.a. auf: kortikalen und reifen Thymozyten, epidermalen Langerhans-Zellen, dendritischen Zellen, Monozyten (nach Stimulation mit GM-CSF), bestimmten T-Zell-Leukämien, weitere andere Gewebe
- Vorkommen: auf der Plasmamembran, in Endosomen
- Beinhaltet eine Ig-ähnliche Domäne
- 43-49kDa

CD2

- Adhäsionsmolekül, das an CD58 (LFA-3) und CD48/BCM1 bindet und somit Zelladhäsionen zwischen T-Zellen und anderen Zellen vermittelt, („antigenunspezfische Zelladhäsion")
- Expression: von T-Zellen, Thymozyten, NK-Zellen
- Vorkommen: Plasmamembran, extrazellulär, im Zellkern
- 50 kDa
- Andere Bezeichnungen: T11, LFA-2
- Beinhaltet Ig-ähnlich C2-Domäne

CD3

- Die Untergruppen CD3-gamma, -delta, -epsilon und –zeta bilden zusammen mit den Heterodimeren des T-Zell-Rezeptors (TCR) den T-Zell-Rezeptor-CD3-Komplex; dieser ist beteiligt an der Übertragung von Antigenerkennung auf intrazellulären Signalkaskaden;
- Wird exprimiert auf Thymozyten und T-Zellen und NK-Zellen
- Vorkommen: Plasmamembran
- Der Rezeptor besteht aus vier Polypeptidketten: eine delta-, eine gamma- und zwei epsilon-Ketten: γ: 25 kDa, δ: 21kDa, ε: 20kDa,
- Zum TCR/CD3-Komplex gehören weiterhin zwei zeta-Ketten: ζ:16kDa
- Enthält eine Immunglobulin-ähnliche Domäne extrazellulär, die ζ-Gruppe nur eine kurze extrazelluläre Domäne
- Andere Bezeichnungen: T3

CD4

- Corezeptor für MHC-Klasse-II-Antigen/TCR-Interaktionen, Regulation von T-Zell-Aktivität, bindet an das Protein gp120 von HIV-1 und HIV-2
- Expression auf T-Zellen: TH1- und TH2-Zellen (etwa 2/3 der peripheren T-Zellen), Monozyten, Makrophagen und Granulozyten, von einigen Gruppen von Thymozyten

    - TH1-Zellen: Stimulierung in Makrophagen zur Fusion von Lysosomen mit Vesikeln, in denen Bakterien sind, sowie Costimulation von B-Zellen zur Bildung von Antikörpern
    - TH2-Zellen: Aktivierung von naiven B-Zellen zur Antikörperproduktion
- Vorkommen: Endoplasmatisches Retikulum, Plasmamembran, Endosomen
- Ein Glykoprotein: 55kDa
- Verwandtschaftsbeziehungen zu Immunglobulin: 4 Ig-ähnliche Domänen in der extrazellulären Komponente
- Andere Bezeichnungen: T4, L3T4

CD8

- Corezeptor für MHC-Klasse-I-Antigen/TCR-Interaktionen, spielt eine Rolle bei der T-Zell-vermittelten Zytotoxizität
- Expression: zytotoxische T-Zellen (etwa ein Drittel aller peripheren T-Zellen), auf einigen Gruppen von Thymozyten
- Vorkommen: extrazellulär, Plasmamembran
- Der Rezeptor besteht aus einem Heterodimer aus einer alpha- und einer beta-Kette oder einem Homodimer aus zwei alpha-Ketten: α: 32-34kDa, β: 32-34kDa
- Verwandtschaftsbeziehungen zu Immunglobulin
- Andere Bezeichnungen: T8, Lyt2,3

CD14

- Corezeptor mit TLR 4 und LY96 Rezeptor zur Erkennung von bakteriellen Lipopolysacchariden. Bindung mit Hilfe von LPB (lipopolysaccharide binding protein): vermittelt so die angeborene Immunantwort auf bakterielle Polysaccharide
- Expression: Monozyten und Makrophagen
- Vorkommen: extrazellulär, Golgi-Apparat, Plasmamembran, Endosomen
- 53-55kDa

CD16

- auf allen FcR-Typ-III+ Zellen exprimiert (Granulozyten, NK-Zellen)
- Kombination mit CD56
    - zytotoxischer NK-Zell-Anteil: $CD56^{dim}/CD16^{bright}$
    - $CD56^{bright}/CD16^{dim/-}$ als unreife Vorstufen und Zytokin-Produktoren mit eher immunmodulatorischer Aufgabe (Amand, Iserentant et al. 2017).

- Bindung an Antikörper-tragende Zielzellen, Induktion der Antikörper-abhängigen zellulären Zytotoxizität (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)
- Durch CD16 kommt es somit zur Stimulation der T-Zellen und damit zur Phagozytose opsonierter Bakterien. Darüber hinaus hat CD16 auch Bedeutung für die Einleitung des Zelltodes
- 26-29kDa

CD19

- Reduziert zusammen mit dem Antigen-Rezeptor von B-Zellen die Schwelle für eine Antigen-Rezeptor-abhängige Stimulation
- Expression: B-Zellen
- Vorkommen: extrazellulär, Plasmamembran
- 95kDa

CD23

- Niedrig affiner Rezeptor für IgE, reguliert IgE-Synthese, wichtige Rolle für B-Zell Wachstum und Differenzierung
- Expression: Reife B-Zellen, aktivierte Makrophagen, eosinophile Zellen, follikuläre dendritische Zellen, Blutplättchen
- Vorkommen: extrazellulär, Plasmamembran
- 45kDa
- Andere Bezeichnung: FcεRII

CD25

- Polypetid-alpha-Kette des IL-2-Rezeptors, mit dem eine T- oder NK-Zelle auf Interleukin 2 reagiert, CD25 positive T-Zellen (T-Regulator-Zellen, Treg) unterdrücken die Aktivierung und Vermehrung von autoreaktiven T-Zellen
- Aufbau des vollständigen IL-2-Rezeptors aus alpha, beta und gamma-Ketten
    - Ruhende T-Zellen Rezeptor exprimieren nur beta und gamma-Kette (wenig Affinität, Aktivierung durch hohe Mengen IL-2 möglich)
    - Durch IL-2 Synthese der alpha-Kette (Hohe Affinität zu IL-2)
- Expression: T-Regulator-Zellen (CD4+ und CTLA-4+(CD152)), unreife B-Zellen und Thymozyten
- 55kDa
- Verwandtschaftsbeziehungen: CCP
- Andere Bezeichnung: Tac

CD39

- Plasmamembranprotein, das die Hydrolysierung von ATP zu ADP vornimmt. Kann im Nervensystem dadurch purinerge Neurotransmission beeinflussen, Verhinderung von Plättchenaggregation durch ADP-Hydrolysierung (wichtig für Aktivierung) zu AMP; Inhibition könnte Anti-Tumor-Effekte generieren
- Expression: Aktivierte B-Zellen, aktivierte NK-Zellen, Makrophagen, dendritische Zellen
- 78kDa

CD40

- Rezeptor für Antigen-bindende Immunzellen:
    - T-Zell-vermittelte Immunglobulinklassen-Wechsel
    - Entwicklung von B-Gedächtniszellen
    - Bindet das CD154 (CD40L), Rezeptor für costimulierende Signale für B-Zellen, fördert Wachstum, Differenzierung und Immunglobulinsekretion von B-Zellen sowie
    - Zytokinproduktion bei Makrophagen und dendritsichen Zellen
- Expression: B-Zellen, Makrophagen, dendritische Zellen, basale Epithelzellen
- 48kDa
- Verwandtschaftsbeziehungen zu TNF-Rezeptor

CD45

- Tyrosinphosphatase, erhöht die Signalvermittlung über den Antigenrezeptor von B- und T-Zellen, entweder durch direkte Interaktion mit den Rezeptorkomplexen oder durch Aktivierung von Src Kinasen; durch alternatives Spleißen entstehen viele Isoformen
- Exprimiert auf allen hämatopoetischen Zellen
- 180-240kDa
- Verwandtschaftsbeziehungen zu Fibronektin-Typ-III
- Andere Bezeichnungen: leukocyte common antigen (LCA), T200, B220, Protein Tyrosine Phosphatase, Receptor Type C

CD56

- Isoform des neuralen Zelladhösionsmoleküls (NCAM), Adhäsionsmolekül, verantwortlich für Zell-Zell-Bindungen oder Zell-EZM (extrazelluläre Matrix)-

Bindungen, spielt eine Rolle bei Zellproliferation, -differentierung und -beweglichkeit, Apoptose und Gewebsaufbau

- Hat in der extrazellulären Domäne 5 Immunglobulin-ähnliche und 2 Fibronektindomänen
- Expression: NK-Zellen, Untergruppe von T-Zellen (CD4 und CD8 positiv)
- 135-220kDa
- Andere Bezeichnungen: NCAM (neural cell adhesion molecule)

CD57

- Beta-1,3-Glucuronyltransferase 1
- Oligosaccharid auf vielen Zelloberflächenglykoproteinen
- Expression: NK-Zellen, Untergruppen von T-Zellen, B-Zellen und Monozyten
- Andere Bezeichnungen: HNK-1, Leu-7

CD64

- Hoch affiner Rezeptor für IgG, bindet IgG3>IgG1>IgG4>>>IgG2, vermittelt Phagozytose, Festhalten von Antigenen; wichtig bei der angeborenen und erworbenen Immunantwort
- Expression: Monozyten, Makrophagen, Neutrophile
- 72kDa
- Verwandtschaftsbeziehung zu Immunglobulin
- Andere Bezeichnungen: FCγRI

CD69

- Calcium-abhängiger Typ II-Transmembranrezeptor der Lektin Superfamilie, wichtig für Lymphozytenproliferation und –funktion, für frühe Lymphozyten-, Monozyten- und Plättchenaktivierung
- Expression: Aktivierte T- und B-Zellen, aktivierte Makrophagen und NK-Zellen
- 22-23kDa
- Andere Bezeichnungen: activation inducer molecule (AIM), early t-cell activation gene P60

CD80

- Membranrezeptor, durch die Bindung von CD28 und CTLA-4 (CD152) zu aktivieren: Mitwirkung an dem kostimulatorischen Signal für T-Zellaktivierung: T-Zell-Proliferation und Zytokinproduktion bei Bindung an CD28, an CTLA-4 Inhibition
- Expression: aktivierte B-, T-Zellen, Makrophagen

- 60kDa
- Andere Bezeichnungen: B7 (jetzt B7.1), BB1

CD83

- Wichtig für Antigenpräsentation und zelluläre Interaktionen nach Lymphozytenaktivierung
- Expression: Dendritische Zellen, Langerhans-Zellen, B-Zellen
- 43kDa
- Andere Bezeichnung: HB15

CD86

- Mitwirkung an dem kostimulatorischen Signal für T-Zellaktivierung: Proliferation und IL-2-Produktion durch Bindung mit CD28 und CD152; entscheidende Rolle bei früher T-Zell-Aktivierung und Kostimulation naiver T-Zellen
- Expression: auf Monozyten, aktivierten B-Zellen und dendritischen Zellen
- Ligand von Cd28 und CTLA-4
- 80kDa
- Andere Bezeichnung: B7.2

CD95

- Vielzahl von Zelllinien, in-vivo unbekannt
- Zentrale Rolle bei programmiertem Zelltod, zusammen mit dem Ligand bildet sich der „death-inducing signaling complex", welcher aus FADD (Fas-associated death domain protein), Kaspase 8 und 10 besteht. Der Rezeptor kann weiterhin NF-κB, MAPK3/ERK1, und MAPK8/JNK aktivieren und wurde in Zusammenhang mit der Übertragung von Proliferations-fördernden Signalen in Fibroblasten und T-Zellen gebracht.
- 45kDa
- TNF-Rezeptor Verwandtschaftsbeziehungen
- Andere Bezeichnungen: Apo-1, Fas, Fas cell surface death receptor

CD117

- Protoonkogen c-kit, Typ 3 Transmembranrezeptor für MGF (mastcell growth factor), reguliert Zellleben und –proliferation, Blutbildung, den Erhalt von Stammzellen, Gametogenese, Mastzellentwicklung, -migration und -funktion
- Expression: Hämatopoetische Vorläuferzellen
- Vorkommen: Plasmamembran, extrazellulär, Lysosomen

- 145kDa
- Andere Bezeichnungen: c-Kit

CD161

- Typ 2 Membranprotein: Zuständig für die Regulation von NK-Zellfunktionen (Zytotoxizität von NK-Zellen).
- Expression: NK-Zellen und T-Zellen (NK-T-Zellen)
- Gilt als Marker für alle Untergruppen von IL-17-produzierenden T-Zellen (Maggi, Santarlasci et al. 2010)
- Extrazelluläre Domäne mit diversen Motiven, die für Typ-C-Lektine charakteristisch sind
- 44kDa
- Andere Bezeichnung: NKRP1, killer cell lektin like receptor B1 (KLRB1)

CD163

- Akute Phase-Rezeptor, der bei der Säuberung und Endozytose von Hämoglobin/Haptoglobin Komplexen durch Makrophagen zuständig: keine oxidative Schädigung durch freies Hämoglobin. Weitere Funktion (angeborenes Immunsystem): Erkennen von Bakterien und lokales Inflammationsgeschehen. Durch Glukokortikoide, IL-6 und IL-10 zu induzieren, durch LPS, IFN-ɣ und TNF zu unterdrücken
- Expression: auf Monozyten und Makrophagen
- Vorkommen: Plasmamembran, extrazellulär
- 130kDa
- Verwandtschaft zu Mucin
- hemoglobin scavenger receptor, Ligand von CD62P

CD123

- α-Kette des IL-3-Rezeptors, „Interleukin 3 receptor subunit alpha"
- Expression: Knochenmarkstammzellen, Granulozyten, Monozyten, Megakaryozyten
- Vorkommen: Plasmamembran
- 70kDa
- Verwandtschaftsbeziehung zu Zytokinrezeptor und Fibronektin-Typ-III
- andere Bezeichnung: IL-3-Rα

WT31

- Der WT31-Antikörper erkennt eine gemeinsame Determinante des T-Zell-Rezeptors für Antigene (Spits, Borst et al. 1985)

6B11

- Antikörper gegen NK-T-Zellen, erkennt die invariante CDR3-loop human canonical Vα24Jα18 TCR-α-chain

Valpha24

- Teil der TCR-α-chain von invarianten NK-T-Zellen

HLA-DR

- Ist das MHC-Klasse-II-Oberflächenmolekül (Glykoprotein)
- Expression: B-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen
- Andere Bezeichnung: human leucocyte antigene gene

TLR2/TLR4

- Rezeptor des angeborenen Immunsystems, Familie der Toll/Interleukin-1-Receptors (TIR)
- Expression: auf Makrophagen und dendritischen Zellen sowie auf eigenen weiteren Zellen, die Krankheitserreger und ihre Produkte wie bakterielle Lipopolysaccharide erkennen. Die Erkennung stimuliert die Zelle, die den Rezeptor trägt, Zytokine zu produzieren und eine Immunantwort einzuleiten
- Bildet Heterodimere mit anderen TLRs und erkennt hochkonservierte und für Pathogene spezifische Moleküle, auch genannt „pathogen-associated molecular patterns" (PAMPs).
- 10 verschiedene TLR Toll/Interleukin-1-Rezeptoren

Tab. 16: TLR-2/-4 und die entsprechenden Mikroorganismen, die sie erkennen (Kawai, Akira 2006)

Toll-like-Rezeptor	Mikroorganismus	Strukturelle Komponente
TLR-2	Gram-positive Bakterien	Lipoteichinsäure, Lipopeptide
	Zytomegalovirus	Glycoprotein gB and gHL
	Leptospirosis interrogans	Atypische Lipopolysaccharide
	Porphyromonas gingivalis	Atypische Lipopolysaccharide
	Herpes simplex Virus	unbekannt
	Varicella zoster Virus	unbekannt
TLR-4	Gram-negative Bakterien	Lipopolysaccharide
	Respiratory syncytial Virus	Fusionsprotein

2.3.3 Auswertung

Zur Auswertung der erstellten Dot-Plots teilt man diese in Quadranten ein. Sie werden nach der Lokalisation benannt: upper left (UL), upper right (UR), lower left (LL) und lower right (LR). Per Computerprogramm können nun die prozentualen Anteile der Zellen in den einzelnen Quadranten ermittelt werden.
So kann eine Tabelle erstellt werden, die die Werte für jeden Marker in den o.g. Quadranten angibt.

2.4 SNP-Bestimmung

Es interessierte uns eine Abhängigkeit zwischen dem Erfolg der Cannabis-vermittelten Schmerztherapie und dem Vorliegen von SNPs des Cannabinoidrezeptors 2 sowie dem Nachweis bestimmter Leukozytensubpopulationen.

2.4.1 Auswahl betrachteter SNP

Dabei beschränkten wir uns auf eine Mutation, ein sog. Single Nucleotide Polymorphism, bei der durch die Variation in einem einzelnen Basenpaar in dem Bereich des DNA-Strangs, auf dem das Gen für den Cannabinoidrezeptor 2 kodiert ist, ein Aminosäurewechsel stattgefunden hat. Laut Literaturlage folgt auf diesen Aminosäureaustausch aber kein Funktionsverlust des Cannabinoidrezeptors 2, wohl ist aber eine Beeinflussung der Funktion bekannt. Der SNP rs2501432 wurde laut Literatur bereits mehrfach mit Immunmodulation in Verbindung gebracht (Sipe, Arbour et al. 2005). Bei dem untersuchten CB2-188-189 GG/GG Polymorphismus wurde Arginin durch Glutamin an der Position 63 ersetzt (Q63R). Bei GG/GG homozygoten Individuen trat eine zweifach geringere Proliferationsinhibition von T-Lymphozyten durch Endocannabinoide auf, zudem konnte gezeigt werden, dass bei Patienten, die an einer Autoimmunerkrankung litten, eine erhöhte Prävalenz des GG/GG homozygoten Genotyps vorlag.

2.4.2 Prinzip der DNA-Isolierung

Wie bereits weiter oben erwähnt, waren wir bei unserer Arbeit bezüglich der Möglichkeiten der nachträglichen Informationsgewinnung eingeschränkt. Dies lag vor allem an der zeitlichen Differenz zwischen der ursprünglichen Studie als auch der stattgehabten

Fortsetzungen der Dronabinoltherapien bei denjenigen Patienten, die davon besonders profitierten und unseren Auswertungen.

Es folgte schließlich zunächst eine DNA-Isolierung aus konservierten EDTA-Blutproben. Dazu wurde das Maxwell System benutzt, mit dessen Hilfe aus mehreren Proben gleichzeitig DNA extrahiert werden kann.
Um den Partikelprozessor nutzen zu können, werden die Proben folgendermaßen vorbereitet: es wird ein Probenvolumen von 300µl benötigt, weshalb unsere EDTA-Blutproben mit PBS aufgefüllt und durchmischt werden mussten. Anschließend werden 300µl der Proben mit 300µl Lysis-Puffer und 30µl Proteinase K vermischt, um die Zell- und Zellkernwände zu durchbrechen, die Proteine abzubauen und schließlich die Nukleinsäure freizusetzen. Das Gemisch wird für 20 Minuten bei 56°C inkubiert. Mitgelieferte Kartuschen werden reihenweise in das Probenrack gestellt, die erste Kammer der jeweiligen Kartusche wird mit dem vorbereiteten Ansatz befüllt. Sog. Elution-Tubes, in die zum Schluss die isolierte DNA gelangt, werden jeweils an die letzte Position des Racks gestellt und mit 50µl des Elution-Puffers befüllt. Außerdem muss ein Stößel pro Kartusche an die entsprechende Position gebracht werden. Nach dem Einbringen des gesamten Racks in den Partikelprozessor, wird dieser mit dem Programm „DNA, Blut" gestartet. Das Prinzip der DNA-Gewinnung erfolgt nach dem magnetic-beads Verfahren.

2.4.3 Prinzip der DNA-Quantifizierung

Mit Hilfe des Nano-Drop Spektralphotometers wird die Menge an gewonnener DNA quantifiziert. Es wird dazu ein Volumen von 1µl benötigt, dieses wird durch die Oberflächenspannung zwischen zwei Oberflächen, Enden einer Fiberoptik, die einen definierten Abstand voneinander haben, gehalten. Der Abstand zwischen diesen zwei Oberflächen wird während eines Messzyklus' zwischen 1 und 0,2 mm variiert, um einen dynamischen Bereich herzustellen, womit die Notwendigkeit für die Herstellung und Messung von Verdünnungen entfällt. Durch direktes Andocken der Probe an die Optik des Spektralphotometers werden Interferenzen durch einfallendes Licht oder durchfallendes Licht vermieden. Nach einer Messung werden beide optischen Oberflächen saubergewischt und sind wieder einsatzbereit.
Auf diese Weise kann die Menge an gewonnener DNA in Erfahrung gebracht werden. Zudem kann eine Aussage zur Qualität der DNA gemacht werden.

2.4.4 Prinzip der DNA-Sequenzierung

Für die Sequenzierung der erhaltenen DNA ging eine Probe an Frau Prof. Dr. Meliha Karsak, welche die Sequenzierung des Genabschnitts mit den polymorphen SNP-Bereichen in Kooperation mit dem Cologne Center for Genomics (CCG) in Köln unter Leitung von Prof. Dr. Peter Nürnberg (http://cecad.uni-koeln.de/Prof. Dr-Peter-Nuernberg.81.0.html) durchgeführt hat.

2.5 Statistik

Es soll zunächst auf die statistischen Tests eingegangen werden: dabei ist anzumerken, dass es sich um eine explorative Datenanalyse handelt, d.h. einerseits eine deskriptive Beurteilung der Datendiagramme vorgenommen, dabei aber statistische Testverfahren durchgeführt.
Das Signifikanzniveau wurde bei α = 5% ($p < 0{,}05$) gesetzt. Um einer explorativen Datenanalyse jedoch gerecht zu werden, sollten zu signifikanten Unterschiede auch Tendenzen erkannt werden. Hierzu wurden p-Werte zwischen 0,05 und 0,15 als nicht signifikant, aber auf einen Unterschied hindeutend interpretiert, und gingen damit ebenso in die Auswertung ein.

2.5.1 Ausreißertest nach Grubb

Ausreißer sind besonders hohe oder niedrige Werte, die aufgrund von Mess- oder Dokumentationsfehlern, oder aufgrund anderer Besonderheiten entstehen.
Zunächst wurden auffällige Messwerte in den Datensätzen einzeln begutachtet und auf Hinweise nach Mess- und Dokumentationsfehlern geachtet. Desweiteren folgte die Anwendung des Grubb's Ausreißertests, mit dem überprüft werden kann, ob ein Wert unter Annahme einer Normalverteilung mit den Übrigen harmoniert oder nicht.

Dabei wird eine Prüfgröße Z anhand der Formel $Z = \frac{|\text{mean} - \text{value}|}{\text{SD}}$ (*mean* = Mittelwert, *value* = Messwert, *SD* = Standardabweichung der Werte) errechnet. Aus standardisierten Tabellen wird ein sog. kritischer Wert als Bezugswert entnommen. Je nachdem ob dieser kritische Wert vom Messwert übertroffen wird oder nicht, gilt der Messwert als signifikant und als wahrscheinlicher Ausreißer.

Werte, die, wie oben beschrieben, als Mess- oder Dokumentationsfehler bzw. durch andere Besonderheiten nicht ausgeschlossen werden konnten und nach dem Grubb's Ausreißertest signifikant waren, wurden aus dem Datensatz herausgenommen.

2.5.2 Mann-Whitney-U-Test

Der Mann-Whitney-U-Test ist ein nicht-parametrischer Test, mit dem durch die Anwendung des Rangsummenprinzips Unterschiede zwischen zwei kleinen Stichproben statistisch gezeigt werden können. Als Voraussetzung gelten zwei unverbundene Stichproben, die Verteilung der Werte gilt als frei.

Dabei werden die Werte der beiden Datensätze in Ränge sortiert, die dann miteinander verglichen werden. Die entsprechenden Rangplätze der Daten ergeben sich durch Ordnung der Datenwerte der Größe nach (von niedrig nach hoch) über die jeweilige Gruppe. Sind zwei Werte gleich groß, erhalten sie die entsprechende Rangzahl + 0,5. Nach der Zuweisung der Rangzahlen in den beiden Datensätzen erfolgt die Aufsummierung zu den Rangsummen R_1 und R_2. Anschließend werden die beiden Größen U_1 und U_2 berechnet:

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1 \cdot (n_1 + 1)}{2} - R_1, \; U_2 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_2 \cdot (n_2 + 1)}{2} - R_2$$

n_1 steht für die Anzahl der Werte in Datensatz 1, n_2 für die in Datensatz 2. Der niedrigere U-Wert bildet die Prüfgröße. Dieser wird mit einem sog. kritischen Wert aus einer standardisierten Tabelle nach Festlegung des Signifikanzniveaus verglichen. Überschreitet die Prüfgröße diesen Wert nicht, gilt der Unterschied in den Datensätzen als signifikant.

2.5.3 Wilcoxon-Test

Der Wilcoxon-Test ist ebenso ein nicht-parametrischer Test, mit dem durch die Anwendung des Rangsummenprinzips Unterschiede zwischen zwei kleinen Stichproben statistisch gezeigt werden können. Im Unterschied zum Mann-Whitney-U-Test können hier verbundene Stichproben überprüft werden. Die Verteilung der Werte gilt ebenfalls als frei.

Aus den Werten der beiden Stichproben wird eine kombinierte Stichprobe gebildet, dabei werden alle Werte in Ränge sortiert. Es wird nun eine Rangsumme von den Werten der ersten Stichprobe gebildet. Daraus ergibt sich die Prüfgröße. Diese wird mit einem kritischen Wert verglichen, der aus standardisierten Tabellen entnommen werden kann. Ist die Prüfgröße

kleiner als der kritische Wert (Quantil der t-Verteilung), so ist der Unterschied der beiden Stichproben signifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Patientendaten

Außer den Daten, die mit Hilfe des unter 2.2. beschriebenen Tagebuchs erfasst wurden erfolgte die Feststellung der Patientendaten wie Schmerzdiagnose, -charakter und -beschreibung sowie die Medikation vor Studienbeginn (Ausgangsmedikation). Im Verlauf der weitergeführten Therapie wurden schließlich die Scores auf der numerischen Ratingskala (NRS) erhoben und die Veränderungen in der medikamentösen Therapie dokumentiert. Dabei sind im Folgenden nur die Patienten angegeben, bei denen die Dronabinoltherapie einen Benefit erbracht hatte.

3.1.1 Patientin MGH 03

Tab. 17: klinische Daten der Patientin MGH 03 erhoben vor Studienbeginn; HWS = Halswirbelsäule, HWK = Halswirbelkörper

Studienteilnahme von 29.01.02 - 20.02.02	Weiterbehandlung ab 18.11.02
Patientendaten	Weiblich, 49 Jahre, 58kg, 165cm
Schmerzdiagnose	Regionales Schmerzsyndrom im Bereich der unteren HWS (zervikobrachiales, zervikozephales Syndrom) rechts bei Radikulopathie mit neurologischem Defizit bei mediolateralem Bandscheibenvorfall HWK 4/5 und HWK 5/6
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Migränekopfschmerz, Depression, rezidivierend Hörstürze
Schmerzcharakter	Dumpf, pochend, klopfend
Schmerzlokalisation	Arm rechts, Nacken, HWS
Dauer der Symptomatik	Seit 2000

Medikation vor Studienbeginn („Ausgangsmedikation"):

Tab. 18: Medikation der Patientin MGH 03 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, b. Bed. = bei Bedarf

Nicht-Opioid-Analgetika	Flupirtin 100mg p.o. 1-1-1
Opioid-Analgetika	Tramadol long 100mg p.o. 1-1-2
Antidepressiva	Trancylpromin 10mg p.o. 0-0-1,5
Antikonvulsiva	Keine
Laxantia	Keine
Sonstiges	Metoclopramid b. Bed.

Nach Betrachtung des Scores auf der numerischen Ratingskala („Schmerzscore") war initial zunächst eine Linderung der Symptomatik zu erkennen, was zu einer Weiterführung der Dronabinolmedikation führte. Nach einem Auslassversuch zeigte sich diese Verbesserung nicht erneut.

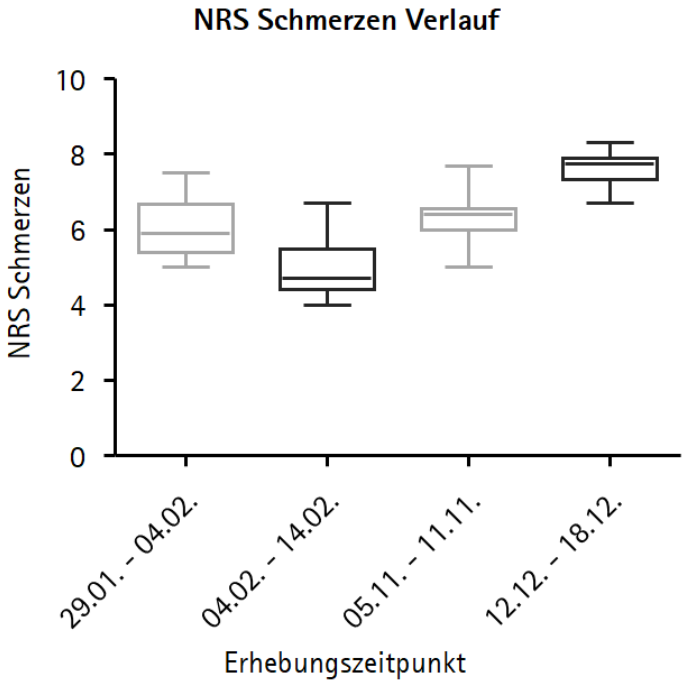

Abb. 3: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin MGH 03 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 19: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patientin MGH 03; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
29.01. bis 04.02.	Ausgangsmedikation
06.02. bis 20.02.	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
21.02. bis 18.11. (Ende des ALV)	Ausgangsmedikation, anderes Antidepressivum: Moclobemid (Aurorix) 300mg p.o. 1-1-0
18.11. bis 19.12.	Beendigung der Dronabinoltherapie aufgrund von Nebenwirkungen (NW) (zentral und gastrointestinal), außerdem keine Erniedrigung des Schmerzscores mehr möglich

3.1.2 Patientin KK 05

Tab. 20: klinische Daten der Patientin KK 05 erhoben vor Studienbeginn; WS = Wirbelsäule

Studienteilnahme von 05.03.02 - 25.03.02	Weiterbehandlung ab 18.11.02
Patientendaten	Weiblich, 57 Jahre, 65kg, 165cm
Schmerzdiagnose	Dysästhesien und Parästhesien beider Beine bei spinalen Durchblutungsstörungen des Rückenmarks, Spinalis-anterior-Syndrom; ischämische Myelopathie mit inkomplettem Querschnitt
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Blasen- und Mastdarmatonie, Plegie im rechten Bein, beginnendes demyelinisierendes Polyneuropathiesyndrom beider Arme, Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie, degenerative WS-Veränderungen, Gonarthrose beidseits
Schmerzcharakter	Kribbeln, Taubheitsgefühl
Schmerzlokalisation	Untere Extremitäten beidseits
Dauer der Symptomatik	Seit 1995

Tab. 21: Medikation der Patientin KK 05 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, ret. = retardiert, Btl. = Beutel, b. Bed. = bei Bedarf

Nicht-Opioid-Analgetika	Flupirtin 100mg p.o. 1-1-1 Rofecoxib (Vioxx) 25mg p.o. 0-0-1 Metamizol 500mg p.o. 1-1-1-1 ASS 100mg p.o. 1-0-0
Opioid-Analgetika	Tilidin ret. 50/4mg p.o. 1-1-1
Antidepressiva	Keine
Antikonvulsiva	Gabapentin 300mg p.o. 1-1-1
Laxantia	Macrogol 1 Btl./d Mikroklyst b. Bed.
Sonstiges	Keine

Die Betrachtung des Scores auf der numerischen Ratingskala zeigte zunächst keine objektive Linderung der Symptomatik. Nach Aussage der Patientin war diese subjektiv aber dennoch vorhanden. Sie gab als Grund ein nachlassendes Taubheitsgefühl in den Fingern als auch eine verringerte Steifigkeit an. Eine Fortführung der Medikation wurde beschlossen.

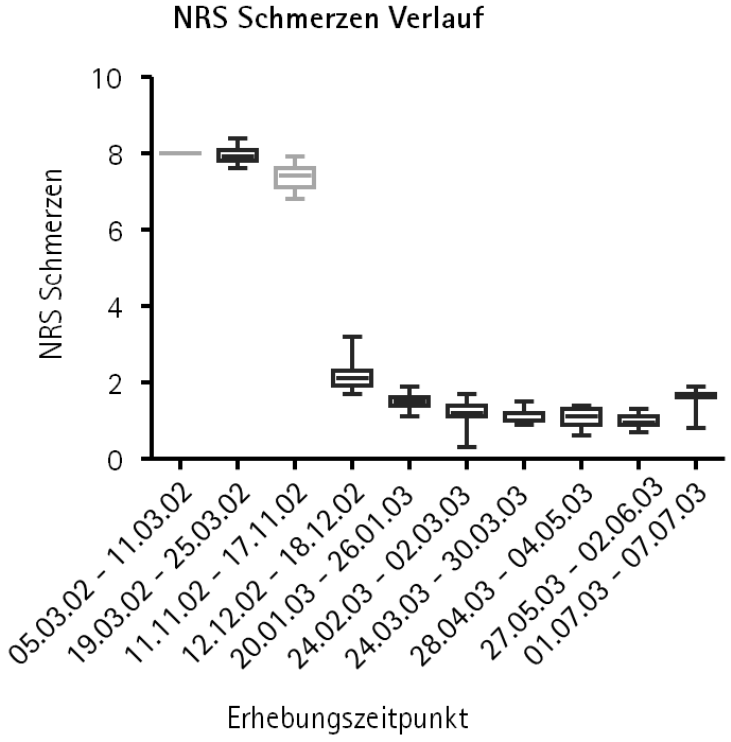

Abb. 4: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin KK 05 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Die Patientin beklagte v.a. Beschwerden im Sinne von Dys- und Parästhesien. Nachdem diese im Verlauf im Gegensatz zu der nozizeptiven Schmerzempfindung nicht zu verbessern waren, wurde die Patientin gebeten, im Schmerztagebuch eine Unterscheidung vorzunehmen. Den Verlauf zeigt das folgende Diagramm.

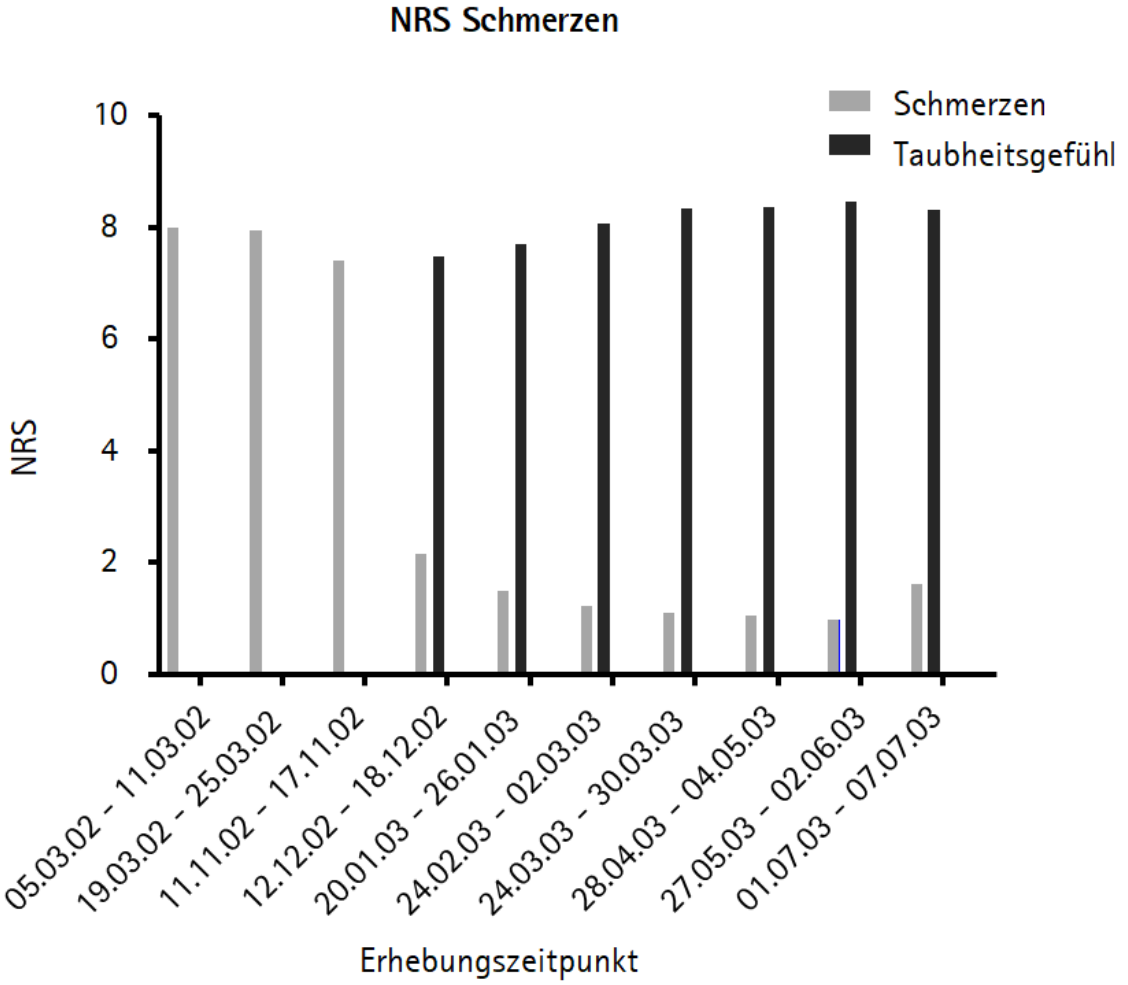

Abb. 5: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin KK 05 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm. Im Vergleich Score für nozizeptiven Schmerz (hellgrau) zu Score für Beeinträchtigung durch Parästhesien/Dysästhesien („Taubheitsgefühl", schwarz)

Tab. 22: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patientin KK 05; p.o. = per os, ret. = retardiert

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
05.03.02 - 11.03.02	Ausgangsmedikation
12.03.02 - 25.03.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
26.03.02 - 26.01.03	Ausgangsmedikation
27.01.03 - 02.03.03	Reduktion Gabapentin 300mg p.o. 1-0-1
03.03.03 - 30.03.03	Beenden von Flupirtin
31.03.03 - 04.05.03	Erhöhung Gabapentin 300mg p.o. 1-1-1

	Reduktion Tilidin ret. 50/4mg p.o. 1-0-1
05.05.03 - 26.05.03	Keine Veränderung
27.05.03 - 02.06.03	Keine Veränderung
03.06.03 - 15.07.03	Keine Veränderung, Ausschleichen von Dronabinol, da keine Verbesserung zu erwarten

3.1.3 Patientin IG 06

Tab. 23: klinische Daten der Patientin IG 06 erhoben vor Studienbeginn

Studienteilnahme von 23.02.02 - 01.04.02	Weiterbehandlung ab 07.11.02
Patientendaten	Weiblich, 52 Jahre, 54kg, 164cm
Schmerzdiagnose	Schmerzen der lumbosakralen Wirbelsäule nach ventraler Spondylodese L4-S1 nach rezidivierenden Bandscheibenvorfällen
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Keine
Schmerzcharakter	Stechend, brennend
Schmerzlokalisation	Lumbosakrale Wirbelsäule, Sakralfuge rechts, Trochanter major rechts, Leiste und Hüfte links, BWS links
Dauer der Symptomatik	Seit 1976

Tab. 24: Medikation der Patientin IG 06 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, ret. = retardiert, b. Bed. = bei Bedarf

Nicht-Opioid-Analgetika	Flupirtin 100mg p.o. 1-1-1 Celecoxib 200mg p.o. 1-0-1
Opioid-Analgetika	Tilidin ret. 150/12mg p.o. 1-1-1 Tilidin Tropfen p.o. 20° b. Bed.
Antidepressiva	Keine
Antikonvulsiva	Keine
Laxantia	Keine
Sonstiges	Metoclopramid Tropfen 7-10mg/d b. Bed.

Nach Betrachtung des Scores auf der numerischen Ratingskala („Schmerzscore") war initial zunächst eine Linderung der Symptomatik zu erkennen, was zu einer Weiterführung der Dronabinolmedikation führte. Diese zeigte sich auch nach einem Auslassversuch.

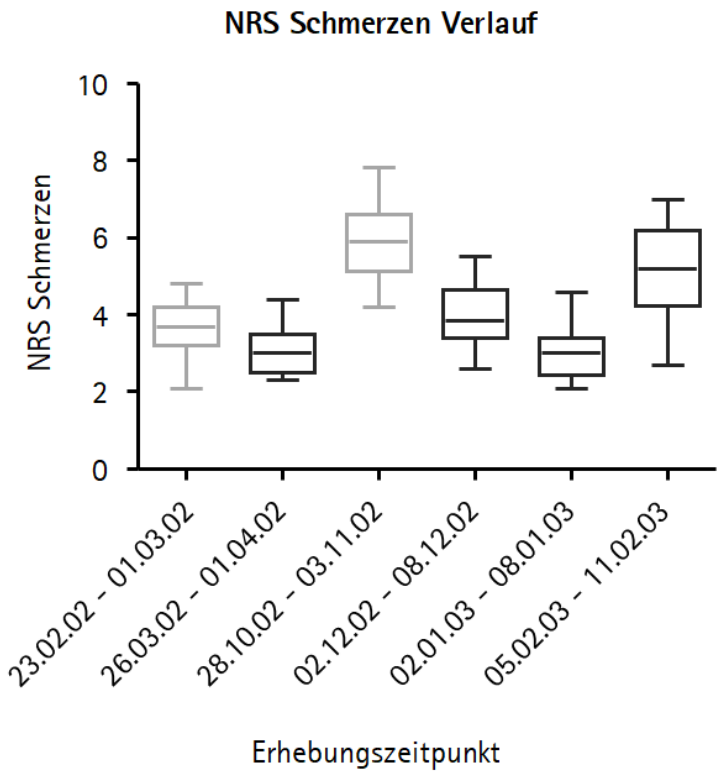

Abb. 6: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin IG 06 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 25: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patientin IG 06; ret. = retardiert, p.o. = per os

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
23.02.02 - 01.03.02	Ausgangsmedikation
19.03.02 - 01.04.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
02.04.02 - 07.11.02	Medikation erhöht auf Tilidin ret. 200/16mg p.o.1-1-1, kein Celecoxib mehr, aber Rofecoxib 25mg p.o. 0-0-1
08.11.02 - 08.12.02	Dronabinol und bisherige Medikation
09.12.02 - 08.01.03	Flupirtin beendet seit ca. 05.12.2002
09.01.03 - 11.02.03	Reduktion Tilidin ret. 100/8mg p.o. 1-1-1
ab 12.02.03	Schmerzexarzerbation an Knochenspanentnahmestelle, weitere Abklärung, keine Reduktion möglich

3.1.5 Patientin GD 09

Tab. 26: klinische Daten der Patientin GD 09 erhoben vor Studienbeginn; Z.n. = Zustand nach

Studienteilnahme von 01.05.02 - 22.05.02	Weiterbehandlung ab 18.09.02
Patientendaten	Weiblich, 62 Jahre, 80kg, 160cm
Schmerzdiagnose	Kniegelenksschmerz nach osteochondraler Flakefraktur des linken Kniegelenks mit Hämarthrose und freiem Gelenkkörper Posttraumatischer Schmerz im Hüftgelenk rechts bei Z.n. beidseitiger Acetabulumfraktur Neuralgie nach N. ischiadicus-Läsion mit überwiegendem peronealem Anteil durch Trauma
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Keine
Schmerzcharakter	Fluktuierender Dauerschmerz, dumpf, drückend
Schmerzlokalisation	Kniegelenk links, Hüftgelenk rechts
Dauer der Symptomatik	Seit 2000

Tab. 27: Medikation der Patientin DG 09 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, ret. = retardiert

Nicht-Opioid-Analgetika	Flupirtin 100mg p.o. 1-1-1
Opioid-Analgetika	Tilidin ret. 50/4mg p.o. 1-1-2
Antidepressiva	Fluoxetin 20mg p.o. 1-0-0
Antikonvulsiva	Gabapentin 300mg p.o. 1-1-1
Laxantia	Keine
Sonstiges	Keine

Nach Betrachtung der Scores auf der numerischen Ratingskala war ein objektiver Profit durch die Dronabinoltherapie zu erkennen, was zu einer Fortsetzung der Dronabinolmedikation führte. Schließlich wurde die Behandlung bei neu aufgetretener Unverträglichkeit beendet.

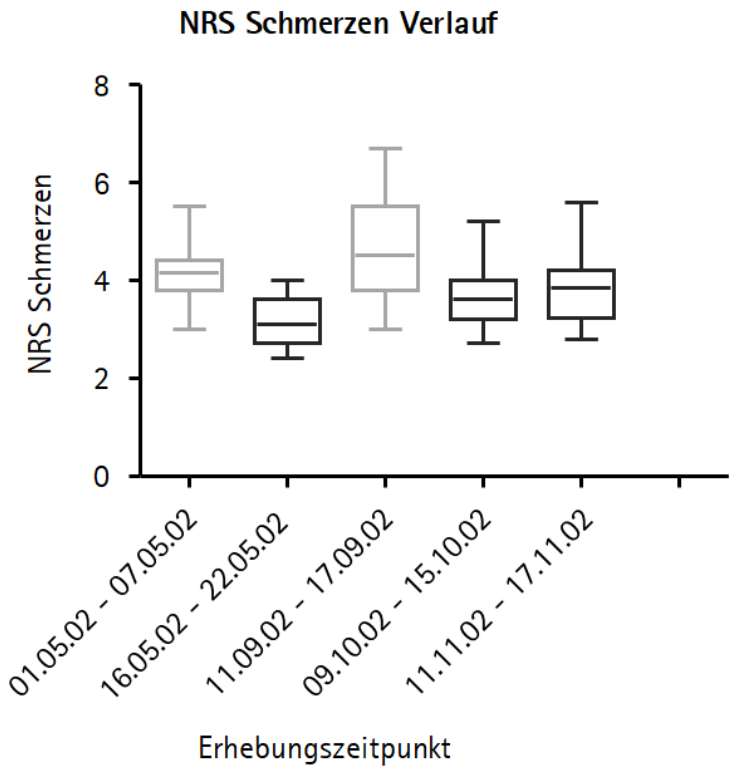

Abb. 7: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin DG 09 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 28: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patientin DG 09; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os, ret. = retardiert

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
01.05.02 - 07.05.02	Ausgangsmedikation
08.05.02 - 22.05.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
23.05.02 - 17.09.02 (Ende des ALV)	Schmerzmedikation wie zu Beginn der Studie
18.09.02 - 16.10.02	Dronabinoltherapie mit 15mg p.o., darunter Reduktion von Tilidin ret. auf 150/12mg p.o./Tag, dann Versuch Reduktion Flupirtin
17.10.02 - 21.10.02	Gabapentin ganz beendet, darunter keine Schmerzverstärkung
22.10.02 - 12.11.02	Plötzliche Unverträglichkeit: „Druck" im Kopf, drei Tage kein Dronabinol, Reevaluation
13.11.02 - 14.11.02	Nach Aussetzen von Dronabinol keine Schmerzverstärkung, weiter mit 5mg p.o. 1-1-1, beklagt starke Müdigkeit
15.11.02 - 20.11.02	Während weiterer Therapie: Müdigkeit, Antriebsarmut, Angst-

	und Panikreaktionen, 4-5h nach Einnahme Druck im Kopf und Gangunsicherheit, des Weiteren Übelkeit und Unwohlsein, subjektiv keine Schmerzerleichterung mehr: Beendigung der Dronabinoltherapie

3.1.6 Patientin CD 11

Tab. 29: klinische Daten der Patientin CD 11 erhoben vor Studienbeginn; HWK = Halswirbelkörper

Studienteilnahme von 22.05.02 - 12.06.02	Weiterbehandlung ab 01.11.02
Patientendaten	Weiblich, 37 Jahre, 60kg, 171cm
Schmerzdiagnose	Schmerzstörung bei Syringomyelie mit Halbseitenschmerz rechts, sensiblem Reizerscheinungen sowie sensiblem und motorischem Defizit. Zervikale Bandscheibenprotrusion HWK 6/7
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Keine
Schmerzcharakter	Starke, akut einsetzende Schmerzen
Schmerzlokalisation	Linke Körperseite
Dauer der Symptomatik	Seit 1994

Tab. 30: Medikation der Patientin CD 11 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os

Nicht-Opioid-Analgetika	keine
Opioid-Analgetika	L-Polamidon p.o. 7,5mg 1-0-1
Antidepressiva	Keine
Antikonvulsiva	Keine
Laxantia	Keine
Sonstiges	Pantoprazol 40mg p.o. 1-0-0

Die Betrachtung der Scores auf der numerischen Ratingskala zeigte einen Benefit. Das subjektive Empfinden der Patientin stimmte damit überein, eine Weiterführung des

Medikaments wurde verabredet. Im weiteren Verlauf traten auch unter Dronabinol erhöhte Schmerzscores auf, wie sie initial auch ohne dieses Medikament bestanden hatten.

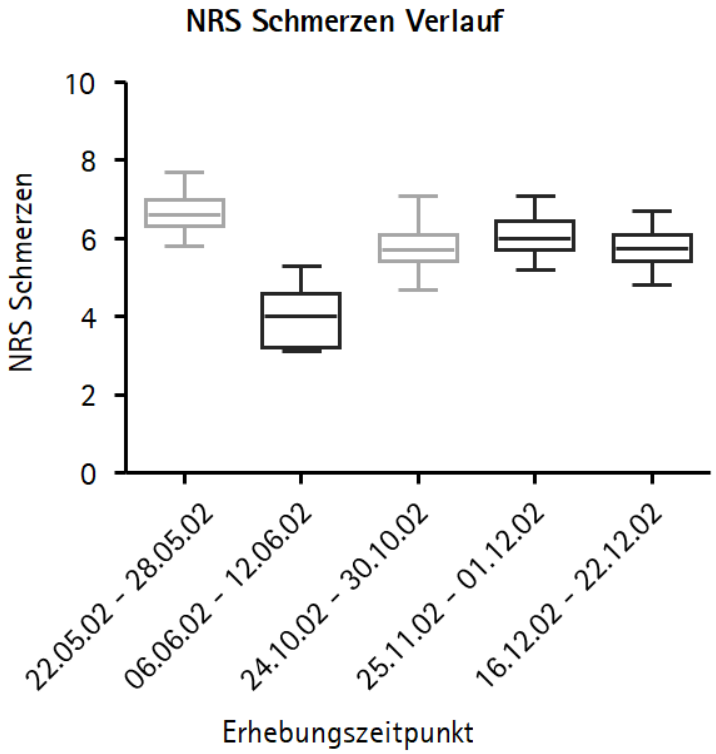

Abb. 8: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin CD 11 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 31: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patientin CD 11; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os; V.a. = Verdacht auf

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
22.05.02 - 28.05.02	Ausgangsmedikation
29.05.02 - 12.06.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
13.06.02 - 31.10.02 (Ende des ALV)	Schmerzmedikation wie zu Beginn der Studie, mittlerweile Veränderung: L-Polamidon p.o. 10mg-0-7,5mg
01.11.02 - 05.12.02	Dronabinoltherapie: 5mg p.o. 1-1-1, darunter starker Hautausschlag, Verstopfung, starke Übelkeit und wenig Schmerzlinderung, vorerst weitere Gabe, dann Reevaluation
06.12.02 - 30.12.02	Unter Dronabinol leichte Besserung, Juckreiz noch vorhanden, aktuell Krankheit, keine orale Ernährung möglich
31.12.02 - 23.01.03	Unter Weiterer Dronabinoltherapie Schmerzscores im oberen Bereich, Juckreiz am gesamten Körper, Schluckschwierigkeiten: Wasser, Suppe, Joghurt, Brei; bei V.a. Opiat-bedingten Pruritus

	zunächst Abdosierung von diesem
ab 24.01.03	Keine weitere Nachverfolgung möglich

3.1.7 Patient HL 14

Tab. 32: klinische Daten des Patienten HL 14 erhoben vor Studienbeginn; HWS = Halswirbelsäule, BWS = Brustwirbelsäule, LWS = Lendenwirbelsäule

Studienteilnahme vom 18.11.02 - 08.12.02	Weiterbehandlung ab 01.02.03
Patientendaten	Männlich, 47 Jahre, 80kg, 172cm
Schmerzdiagnose	Multilokuläres muskuloskelettales Schmerzsyndrom bei noch negativem Tenderpunktscore
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Keine
Schmerzcharakter	Dumpf, drückend
Schmerzlokalisation	Schulter beidseits, HWS, BWS, LWS, Hinterkopf, Augen und Ohren bds. Ellenbogen und Kniegelenke
Dauer der Symptomatik	Seit 1989

Tab. 33: Medikation des Patienten HL 14 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os

Nicht-Opioid-Analgetika	Keine
Opioid-Analgetika	Buprenorphin sublingual 0,216mg p.o. 2-1-1
Antidepressiva	Amitriptylin 12,5mg p.o. 0-0-1
Antikonvulsiva	Keine
Laxantia	Keine
Sonstiges	Metoclopramid p.o. 30mg/d L-Thyroxin 200µg p.o. 1-0-0 Risedronsäure p.o. 30mg/d

Nachdem der Patient HL 14 die Studie beendet hatte, erfolgte ein Auslassversuch (09.12.02 - 31.01.03) mit Anstieg der Schmerzscores auf der numerischen Ratingskala. So fiel die Entscheidung zur Weiterführung der Dronabinoltherapie. Darunter war ein erneuter Rückgang der Scores auf der NRS zu verzeichnen.

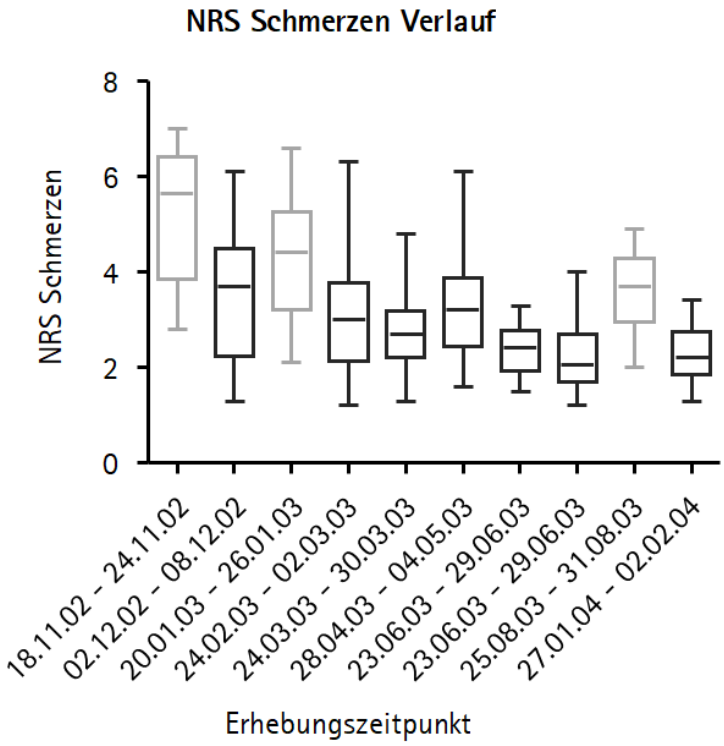

Abb. 9: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) des Patienten HL 14 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 34: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patient HL 14; ALV = Auslassversuch, s.l. = sublingual, p.o. = per os; AL V = Auslassversuch

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
18.11.02 - 24.11.02	Ausgangsmedikation
25.11.02 - 08.12.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
09.12.02 - 13.01.03 (Ende des ALV)	Ausgangsmedikation s.o., Veränderung um Buprenorphin Pflaster (35µg/h transdermal, Wechsel alle 4d) und Buprenorphin s.l. bei Bedarf; Alendronsäure statt Risedronsäure
01.02.03 - 03.03.03	Dronabinol p.o. 5mg 1-1-1 eindosiert, Schmerzen wieder geringer, aktuell Buprenorphin 52µg/h transdermal, Zungenbrennen und Taubheit der Hände/Finger als fragliche Nebenwirkung von Dronabinol
04.03.03 - 31.03.03	Operationswürdiges CTS diagnostiziert; Buprenorphin 52µg/h transdermal weiter, Dronabinol 15mg/d weiter
01.04.03 - 19.05.03	Zwischenzeitlich in der Inneren Medizin: Polyposis intestinii, unklare Konsequenz; Schmerzkontrolle befriedigend, Schmerzscores niedrig, alle 3 bis 4 Wochen wenige Tage

	dauernde Attacken
20.05.03 - 30.06.03	Sehr zufrieden, niedrige Schmerzscores, ALV in einem Monat
01.07.03 - 04.08.03	Weiterhin gute Schmerzkontrolle, ALV Dronabinol in Planung
05.08.03 - 03.09.03	Nach dem ALV deutlicher Anstieg der Schmerzscores, deshalb Entschluss zum off-label-Gebrauch, weiter mit 5mg p.o. 1-1-0
04.09.03 - 10.10.03	Gute Schmerzkontrolle mit Dronabinol 5mg p.o. 1-1-0
11.10.03 - 01.12.03	Weiterhin besser, klagt über Mundtrockenheit und Zungenbrennen, beides auch während des ALV
ab 02.12.03	Keine weitere Nachverfolgung möglich

3.1.8 Patient DS 15

Tab. 35: klinische Daten des Patienten DS 15 erhoben vor Studienbeginn; LWK = Lendenwirbelkörper, HWS = Halswirbelsäule, LWS = Lendenwirbelsäule

Studienteilnahme vom 28.10.02 - 17.11.02	Weiterbehandlung ab 13.01.03
Patientendaten	Männlich, 38 Jahre, 110kg, 176cm
Schmerzdiagnose	Chronischer, nichtradikulärer Schmerz der LWS bei Bandscheibenprotrusion in Höhe L3/4 bis L5/S1 Intermittierende Wurzelreizung bei LWK 4 mit radikulärem Schmerz Spondylolisthesis vera Grad I Chondrose L3/4 und L5/S1 Chronisches HWS-Syndrom nach Trauma
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Adipositas, arterielle Hypertonie
Schmerzcharakter	Ziehend, brennend, pochend
Schmerzlokalisation	HWS, LWS, Bein rechts
Dauer der Symptomatik	Seit 1996

Tab. 36: Medikation des Patienten DS 15 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os

Nicht-Opioid-Analgetika	Celecoxib p.o. 200mg 1-0-1
Opioid-Analgetika	Hydromorphon p.o. 24mg 1-1-1
Antidepressiva	Amitriptylin p.o. 75mg 0-0-1
Antikonvulsiva	Gabapentin p.o. 600mg 1-1-1

Laxantia	keine
Sonstiges	Zentramin (K^+, Ca^{++}, Mg^{++}) Esomeprazol p.o. 40mg 1-0-0 HCT/Triamteren p.o. 1 Tbl./d Magnesium Verla p.o. 2 Tbl. 2-2-2

Nachdem der Patient DS 15 die Studie beendet hatte, erfolgte ein Auslassversuch (18.11.02 - 13.01.03). Die Schmerzscores auf der NRS stiegen wieder an, die Weiterführung der Dronabinoltherapie wurde beschlossen. Die Schmerzscores waren im Verlauf weiterhin niedrig, es gelang während der weitergeführten Therapie eine deutliche Reduktion der Schmerzmedikation, s.u.

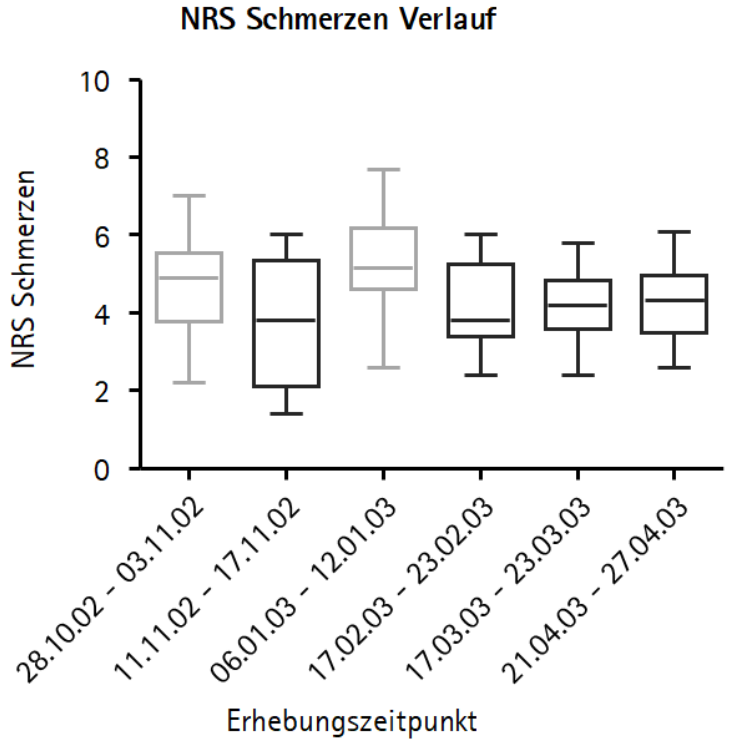

Abb. 10: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) des Patienten DS 15 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 37: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patient DS 15; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
28.10.02 - 03.11.02	Ausgangsmedikation
04.11.02 - 17.11.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
18.11.02 - 13.01.03	Ausgangsmedikation s.o.

(Ende des ALV)	
14.01.03 - 23.02.03	Dronabinol p.o. 5mg 1-1-1, Wirkung gut, aber nicht so wie während initialer Studie: Haushaltsführung selbst, aktuell Erkältung, aber Reduktion der Schmerzscores
24.02.03 - 24.03.03	Erhöhung Dronabinol p.o. 5mg 1-1-2, Reduktion Hydromorphon eine Woche lang 24-16-24mg, zwei Wochen lang 16-16-24mg, eine Woche lang 16-16-16mg, Zentramin abgesetzt Gabapentin versehentlich auf 400-400-400mg reduziert Schmerzverstärkung: Schmerzscore gleich, aber Schmerzerträglichkeit deutlich schlechter: aktuell Frühjahrsputz
25.03.03 - 29.04.03	Keine Änderungen, Hydromorphon weiter 16mg 1-1-1 Gabapentin 400mg 1-1-1 Status idem, keine Verbesserung der Schmerzscores Dronabinol ausschleichen

3.1.9 Patientin IC 17

Tab. 38: klinische Daten der Patientin IC 17 erhoben vor Studienbeginn; HWS = Halswirbelsäule, BWS = Brustwirbelsäule, LWS = Lendenwirbelsäule, OSG = oberes Sprunggelenk, USG = unteres Sprunggelenk

Studienteilnahme vom 04.11.02 - 25.11.02	Weiterbehandlung ab 23.01.03
Patientendaten	Weiblich, 53 Jahre, 68kg, 165cm
Schmerzdiagnose	Multilokuläres, muskuloskelettales Schmerzsyndrom
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Toxische Leberschädigung durch Medikamenteneinnahme, paroxysmale Tachykardien mit Extrasystolie
Schmerzcharakter	Fluktuierender Dauerschmerz, dumpf, drückend bis stechend, spitz
Schmerzlokalisation	HWS, BWS, LWS, Schulter links, Knie beidseits, kleine Gelenke, Ellenbogen, Handgelenke, OSG, USG
Dauer der Symptomatik	Seit November 2002

Tab. 39: Medikation der Patientin IC 17 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, b. Bed. = bei Bedarf, Btl. = Beutel

Nicht-Opioid-Analgetika	Rofecoxib p.o. 25mg 1-0-0
Opioid-Analgetika	Buprenorphin s.l. 0,216mg 1-0-1 Buprenorphin s.l. 0,216mg b. Bed.
Antidepressiva	Keine
Antikonvulsiva	Keine
Laxantia	Macrogol 1 Btl. 1-1-1
Sonstiges	Pantoprazol p.o. 20mg 1-0-0 Methotrexat 7,5mg/Woche Hydroxychloroquin p.o. 200 1-0-1 Prednisolon p.o. 5mg 1-0-0 Cycloöstrogenol p.o. 1 Tbl. 1-0-0

Nachdem die Patientin IC die Studie beendet hatte, erfolgte ein Auslassversuch. Die Scores auf der NRS erreichten das Vorniveau, so wurde Weiterführung der Dronabinoltherapie entschieden. Die Schmerzscores waren im weiteren Verlauf im Bereich der, die während der initialen Studie erhoben worden waren. Zu zwei Zeitpunkten kann man auch unter der Therapie eine Erhöhung der Schmerzscores sehen. Diese korrelieren nach Angaben der Patientin mit sog. „Krankheitsschüben".

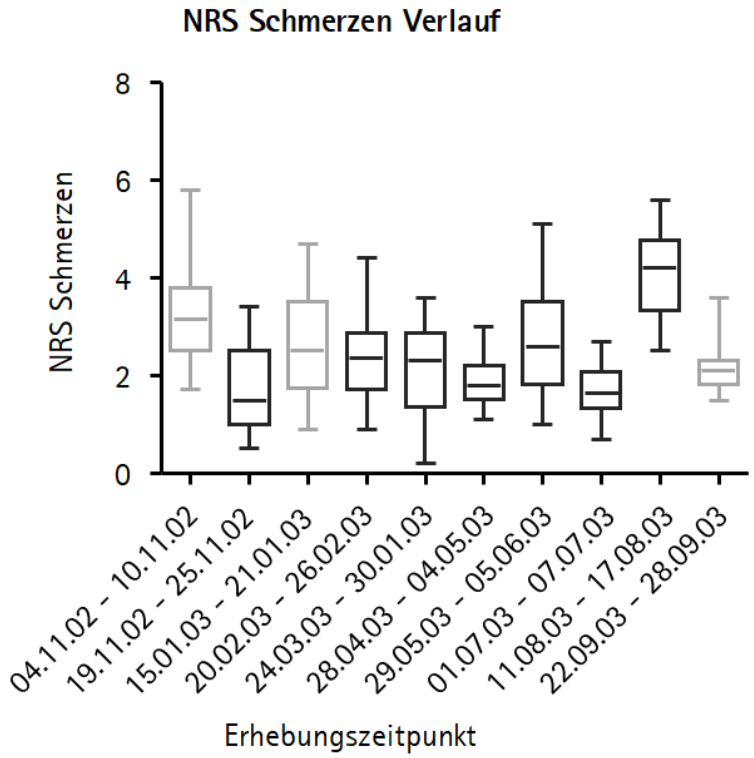

Abb. 11: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) der Patientin IC 17 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 40: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patientin IC 17; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os, o.B. = ohne Befund

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
04.11.02 - 10.11.02	Ausgangsmedikation ohne Hydroxychloroquin, Amitriptylin p.o. 25mg 0-0-1
19.11.02 - 25.11.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
15.01.03 - 21.01.03 (Ende des ALV)	Ausgangsmedikation
20.02.03 - 26.02.03	Dronabinol p.o. 5mg 1-1-1: Schwindel Umstellung auf Buprenorphin transdermal da Übelkeit Neu aufgetretener Hypertonus: Bisoprolol p.o. 5mg 1-0-0
24.03.03 - 30.03.03	Mit Buprenorphin transdermal keine Übelkeit mehr Blutdruck-Einstellung mit Bisoprolol 2,5mg o.B. Sonstige Medikation idem
28.04.03 - 04.05.03	Keine Änderungen
29.05.03 - 05.06.03	Zwischenzeitlich „Schub", aktuell wieder gut erträgliche

	Schmerzen
01.07.03 - 07.07.03	Betablocker mittlerweile abgesetzt Schmerzmedikation idem
11.08.03 - 17.08.03	Zwischenzeitlich wieder „Schub" gehabt: Prednisolon erhöht Dronabinol vorerst weiter
22.09.03 - 28.09.03	Schmerzen in den letzten Wochen gut erträglich, „Schübe" über den Sommer, aber auch ohne Dronabinol mit Buprenorphin gut beherrschbar

3.1.10 Patient SO 20

Tab. 41: klinische Daten des Patienten SO 20 erhoben vor Studienbeginn; HWS = Halswirbelsäule

Studienteilnahme vom 21.11.02 - 11.12.02	Weiterbehandlung ab 23.01.02
Patientendaten	Männlich, 51 Jahre, 66kg, 172cm
Schmerzdiagnose	Schmerzsyndrom des rechten oberen Quadranten nach Arbeitsunfall; HWS-, Schulterarmsyndrom, Spannungskopfschmerz
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Arterielle Hypertonie
Schmerzcharakter	Anfallsartig, ziehend, drückend
Schmerzlokalisation	Schädel, Hals, Thorax, Schulter und Arm der rechten Seite
Dauer der Symptomatik	Seit November 2002

Tab. 42: Medikation des Patienten SO 20 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, b. Bed. = bei Bedarf, Btl. = Beutel

Nicht-Opioid-Analgetika	Keine
Opioid-Analgetika	Hydromorphon p.o. 20mg 1-0-1 Morphin unret. p.o. 40mg b. Bed.
Antidepressiva	Amitriptylin p.o. 75mg 0-0-1
Antikonvulsiva	Gabapentin p.o. 300mg 1-1-2
Laxantia	Macrogol 6 Btl./d
Sonstiges	Pantoprazol p.o. 40mg 0-0-1 Clonidin p.o. 150 µg 1-0-0 Quinapril/HCT p.o. 20mg 0-0-1

	Moxonidin p.o. 0,4mg 0-1-0

Nachdem der Patient SO die Studie beendet hatte, erfolgte ein Auslassversuch (12.12.02 - 22.01.02). Unter der Dronabinoltherapie war während der initialen Studie eine deutliche Besserung in den Schwankungen bezüglich der Schmerzen zu erkennen, zudem waren die Durchbruchschmerzen für den Patient besser erträglich, dass er kaum noch Morphin als Bedarfsmedikation einnehmen musste. Die Blutdruckwerte stabilisierten sich. Bezüglich der andauernden Müdigkeit ergab sich eine Besserung, die Nachtruhe blieb aber anhaltend gestört im Sinne einer späten Einschlafzeit. Die Wetterfühligkeit hatte sich gebessert, der Appetit war gesteigert, Herr O. konnte sogar eine leichte Gewichtszunahme verzeichnen. Schmerzscores auf der NRS nach dem ALV erreichten das Niveau wie vor Beginn der Dronabinoltherapie. So entschied sich der Therapeut zur Weiterführung dieser.

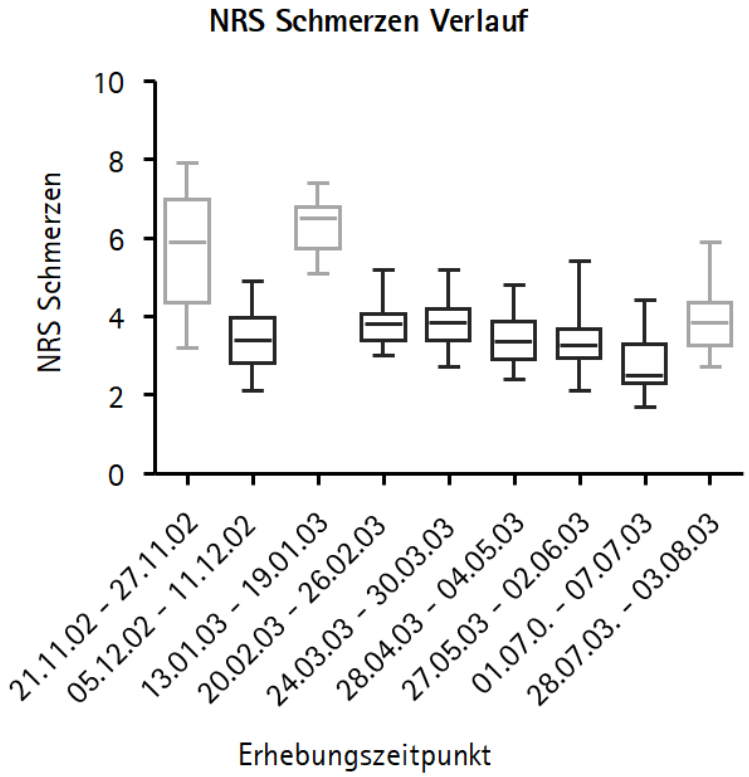

Abb. 12: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) des Patienten SO 20 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 43: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patient SO 20; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os, unret. = unretardiert

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
21.11.02 – 27.11.02	Initiale Schmerzmedikation
28.12.02 – 11.12.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
12.12.02 - 22.01.03 (Ende des ALV)	Ausgangsmedikation
23.01.03 – 28.02.03	Bessere Blutdruckeinstellung möglich, Quinapril/HCT und Clonidin beendet Nachtschlaf weiterhin schlecht Hydromorphon p.o. 16mg 1-0-1 Dronabinol p.o. 5mg 2-1-2
01.03.03 – 31.03.03	Nachtschlaf weiterhin schlecht, Schmerzscores abfallend, aber weniger Medikation: Hydromorphon p.o. 8mg 1-0-2, Dronabinol 5-5-10mg
01.04.03 – 05.05.03	Hydromorphonreduktion nicht gelungen, weiterhin 8mg p.o. 2-0-2, damit aber gut, während Prüfbogen nur einmal Morphin unret. gebraucht
06.05.03 – 03.06.03	Status idem, Schmerzscores im unteren Bereich, nach kleinen Betätigungen stärkste Schmerzen, keine weitere Reduktion der Opiate, Dronabinol auf 5mg p.o. 1-0-2
04.06.03 – 08.07.03	Weiterhin gute Schmerzkontrolle, Schmerzattacken sistieren, verstärkte Lichtempfindlichkeit, Ein- und Durchschlafstörungen, Versuch mit Tranxilium (Clorazepat) zur Schlafverbesserung Ausschleichen von Dronabinol
09.07.03 – 05.08.03	Dronabinol ausgeschlichen, Schmerzscores wie mit Medikation, aber deutlich mehr Morphin unret. und mehr Durchbruchschmerzen, noch schlechterer Schlaf, Appetitmangel und Gewichtsverlust
	Weiterführung der Dronabinolmedikation

3.1.11 Patient MK 23

Tab. 44: klinische Daten des Patienten MK 23 erhoben vor Studienbeginn

Studienteilnahme vom 26.02.03 - 18.03.03	Weiterbehandlung ab 29.04.03
Patientendaten	Männlich, 27 Jahre, 80kg, 181cm
Schmerzdiagnose	Schmerz bei spinaler Störung, Wurzelausriss C5 bis Th1, Ruptur des Plexus brachialis
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Keine
Schmerzcharakter	Fluktuierender Dauerschmerz
Schmerzlokalisation	Rechte Schulter, Arm und Hand
Dauer der Symptomatik	Seit Unfall 2001

Tab. 45: Medikation des Patienten MK 23 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, b.Bed. = bei Bedarf, Btl. = Beutel

Nicht-Opioid-Analgetika	Ketamin S 25mg p.o. 1-1-1-0
Opioid-Analgetika	Morphin ret. 100mg p.o. 2-2-2 Morphin unret. 40mg p.o. b. Bed.
Antidepressiva	Amitriptylin 50mg p.o. 1-0-2-0
Antikonvulsiva	Gabapentin 600mg p.o. 1-1-1-1 Oxcarbazepin 600mg p.o. 1-1-1-1
Laxantia	Macrogol 1 Btl. 1-1-1
Sonstiges	Pantoprazol p.o. Clonidin 150mg p.o.

Nachdem der Patient MK 23 die Studie beendet hatte, erfolgte ein Auslassversuch (19.03.03 - 29.04.03). Obwohl die Schmerzscores auf der NRS aussahen, wie am Ende der Dronabinoltherapie, entschied sich der Therapeut zur Weiterführung solcher, um längerfristig den Umfang der Schmerzmedikation zu reduzieren. Ein Hinweis auf ein Gelingen dieses Vorhabens war die deutliche Verminderung des Gebrauchs der Bedarfsmedikation an unretardiertem Morphin während der Studie.

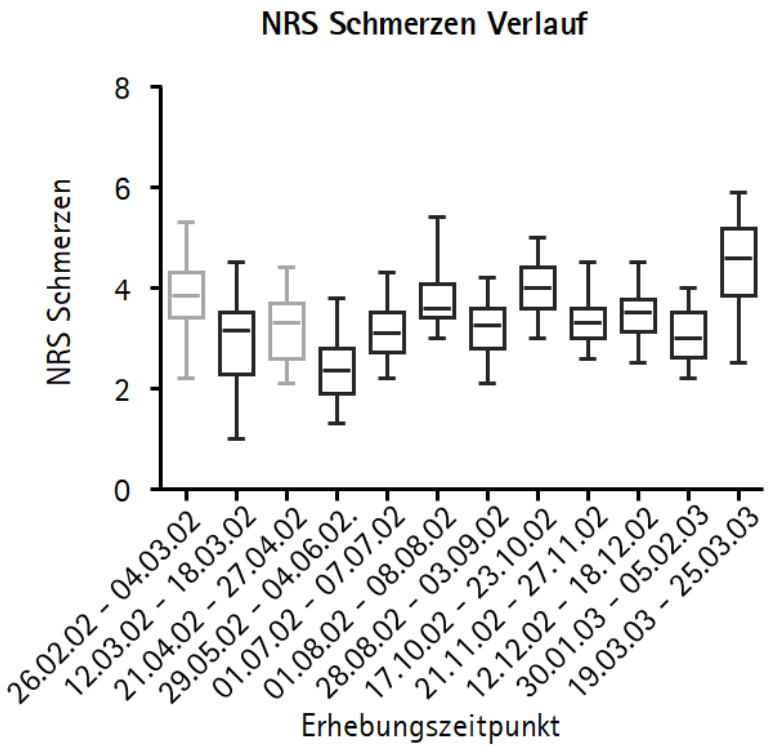

Abb. 13: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) des Patienten MK 23 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 46: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patient MK 23; ALV = Auslassversuch, unret. = unretardiert, ret. = retardiert, LWS = Lendenwirbelsäule

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
26.02.02 – 04.03.02	Ausgangsmedikation
12.03.02 – 18.03.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
21.04.02 – 27.04.02 (Ende des ALV)	Ausgangsmedikation
29.05.02 – 04.06.02	Reduktion Amitriptylin 50-0-75mg Ketamin S beendet
01.07.02 – 07.07.02	Clonidin beendet Pantoprazol beendet Reduktion Amitriptylin 0-0-75mg
01.08.02 – 08.08.02	Reduktion Dronabinol auf 5-5-5mg Reduktion Gabapentin 600-600-600mg
28.08.02 – 03.09.02	Versuch Reduktion Gabapentin 300-300-300mg
17.10.02 – 23.10.02	Amitriptylin 0-0-50mg Reduktion Gabapentin 300-300-300mg erst jetzt möglich

	Reduktion Oxcarbazepin 600-600-600mg Braucht mittlerweile kein unret. Morphin mehr
21.11.02 – 27.11.02	Gabapentin 300-300-300mg Oxcarbazepin 600-600-600mg Amitriptylin beendet
12.12.02 – 18.12.02	Reduktion Versuch Oxcarbazepin 600-0-600mg nicht geklappt, Schmerzverstärkung, weiter 600-600-600mg
31.01.03 – 05.02.03	So belassen, da Prüfungssituation
19.03.03 – 25.03.03	Reduktion Morphin ret. 100-100-100-100mg Versuch Reduktion Gabapentin 0-0-300mg: nicht geklappt (LWS-Blockierung)

3.1.12 Patient MG 31

Tab. 47: klinische Daten des Patienten MG 31 erhoben vor Studienbeginn

Studienteilnahme von 13.08.03 - 02.09.03	Weiterbehandlung ab
Patientendaten	45 Jahre, 173cm, 57kg, männlich
Schmerzdiagnose	Viszeraler Oberbauchschmerz bei chronischer Pankreatitis
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	Migräne ohne Aura
Schmerzcharakter	Wechselnder Dauerschmerz
Schmerzlokalisation	Oberbauch
Dauer der Symptomatik	Seit 1997

Tab. 48: Medikation des Patienten MG 31 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os, b. Bed. = bei Bedarf; IE = internationale Einheiten

Nicht-Opioid-Analgetika	Keine
Opioid-Analgetika	Tramadol long 100mg p.o. 1-1-1 Tramadol 25 Tropfen b. Bed.
Antidepressiva	Keine
Antikonvulsiva	Keine
Laxantia	Keine
Sonstiges	Pangrol (40.000 IE) 1-2-2 Milgamma mono (Benfotiamin) 1-0-0

Nach Betrachtung der Schmerzscores war eine Linderung der Symptomatik zu erkennen, ebenso berichtete der Patient über eine Appetitsteigerung, die eine Gewichtszunahme nach sich zog. Nach dem Auslassversuch erreichten die Schmerzen wieder das Vorniveau, dass der Patient MG 31 weitertherapiert wurde.

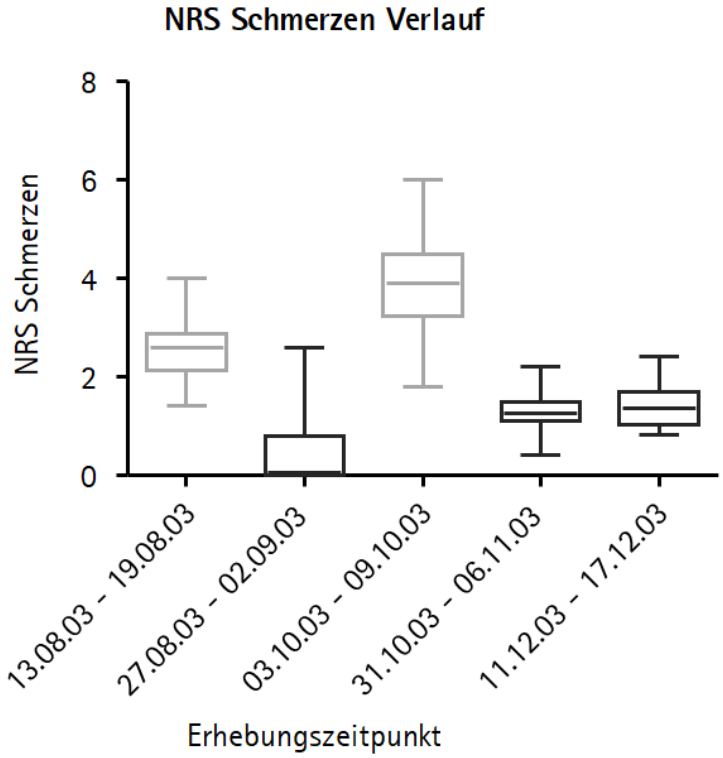

Abb. 14: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0 = kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) des Patienten MG 31 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 49: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patient MG 31; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os; NRS = numerische Ratingskala,

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
13.08.03 - 19.08.03	Ausgangsmedikation
19.08.03 - 02.09.03	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
03.09.03 - 09.10.03 (Ende des ALV)	Schmerzmedikation wie zu Beginn der Studie, Auslassversuch
10.10.03 - 07.11.03	Weiterführung der Dronabinoltherapie mit 5-5-5 mg p.o. Leichte Schmerzzunahme nachts bei beruflicher Belastung, zusätzlich Omeprazol
08.11.03 - 18.12.03	Sehr gute Schmerzkontrolle, NRS unter 2, deutlich weniger Tramadol Tropfen notwendig

3.1.13 Patient KR 38

Tab. 50: klinische Daten des Patienten KR 38 erhoben vor Studienbeginn

Studienteilnahme von 12.08.02 - 02.09.02	Weiterbehandlung ab 09.10.02
Patientendaten	75 Jahre, 171cm, 70kg, männlich
Schmerzdiagnose	Läsion des Plexus lumbosacralis links durch Quetschungstrauma
Schmerzrelevante Nebendiagnosen	
Schmerzcharakter	Drückend und ziehend, Dysästhesien in der Fußsohle
Schmerzlokalisation	Linkes Bein, am Fuß stärkerer Schmerz
Dauer der Symptomatik	Seit 1998

Tab. 51: Medikation des Patienten KR 38 erhoben vor Studienbeginn; p.o. = per os

Nicht-Opioid-Analgetika	Keine
Opioid-Analgetika	Tilidin ret. 50/4mg p.o. 1-1-1
Antidepressiva	Keine
Antikonvulsiva	Gabapentin (Neurontin) 300mg p.o. 1-1-1-1
Laxantia	Keine
Sonstiges	Keine

Nach Betrachtung der Schmerzscores war eine Linderung der Symptomatik zu erkennen. Eine Aufdosierung der Dronabinolmedikation auf 25mg gelang nicht, es erfolgte eine Reduktion auf 15mg, damit waren die Nebenwirkungen erträglich.

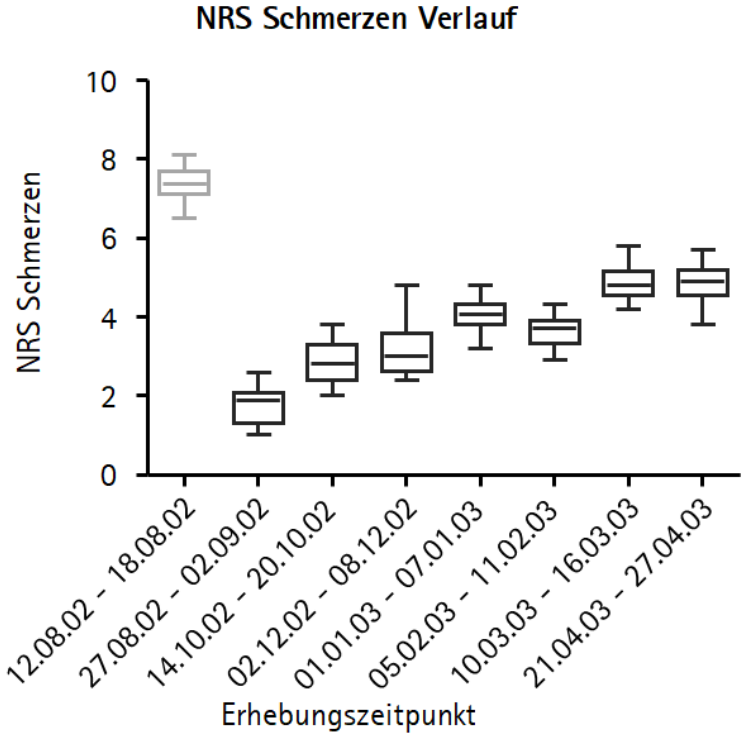

Abb. 15: Scores der numerischen Ratingskala (NRS: 0= kein Schmerz bis 10 = maximal stärkster vorstellbarer Schmerz) des Patienten KR 38 im Verlauf der weitergeführten Therapie als Diagramm; hellgrau = Score zu Zeitpunkten ohne Dronabinoltherapie, schwarz = Score zu Zeitpunkten mit Dronabinoltherapie

Tab. 52: Verlauf der weitergeführten Dronabinoltherapie und Änderung der eingenommenen Medikamente von Patient KR 38; ALV = Auslassversuch, p.o. = per os

Erhebungszeitpunkt	Eingenommene Medikation
12.08.02 - 18.08.02	Ausgangsmedikation
19.08.02 - 02.09.02	Dronabinolstudie und Ausgangsmedikation
02.09.02 - 08.10.02 (Ende des ALV)	Schmerzmedikation wie zu Beginn der Studie, Auslassversuch
09.10.02 - 07.11.02	Reduktion von Gabapentin um 300mg, darunter „klarer" und in Kombination mit Dronabinol nur leichte Schmerzverstärkung
08.11.02 - 09.12.02	Mit Restschmerzen gut zurechtkommend, störend wirkt ein Kältegefühl im linken Bein, passagere Appetitstörung mit Infusionen durch den Internisten behandelt
10.12.02 - 09.01.03	Weiterhin erniedrigte Gabapentinmedikation, soweit

	zufrieden, Versuch der erneuten Medikamentenreduktion
10.01.03 - 12.02.03	Gabapentin beendet, Schmerzscores zeigen kaum eine Veränderung, zunächst keine weitere Reduktion
13.02.03 - 17.03.03	Schmerzscores wieder im mittleren Bereich, keine Reduktion von Tilidin wie beabsichtigt, stattdessen Gabapentin wieder eindosieren: 300mg p.o.1-1-1-, stattdessen Tilidinreduktion
18.03.03 - 28.04.03	Tilidin abgesetzt, keine Schmerzverstärkung, aber Zunahme der Vigilanz: Gabapentin 300mg p.o. 1-1-1 und Dronabinol 5mg 1-1-1 p.o., ab jetzt Versuch Dronabinol auszuschleichen: 5-0-5mg für eine Woche, dann 0-0-5mg
28.04.03 - 13.05.03	Nach Absetzen von Dronabinol wieder Schmerzverstärkung, daher weiterhin 5mg p.o. abends
14.05.03 - 05.08.03	Mit Dronabinol 5-5-5mg p.o. deutlich bessere Schmerzkontrolle, allerdings Dosis selbstständig auf 5-0-5 reduziert, da sonst Antriebslosigkeit, sehr zufrieden, nicht schmerzfrei, aber besserer und längerer Nachtschlaf,
ab 06.08.03	Versuch längere Dronabinoltherapie zu verschreiben

3.2 Vergleich der Therapiegruppen

Alle Messwerte wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine mit Werten, die ohne Dronabinoltherapie erhoben wurden und in der anderen Gruppe fassten wir alle Werte zusammen, die während laufender Dronabinoltherapie gemessen wurden. Dabei war es möglich, in einer Gruppe mehrere Werte des gleichen Patienten einzubringen.

3.2.1 Grubb's Ausreißer-Test

Zunächst wurden besonders auffällige Messwerte betrachtet und auf Mess- oder Dokumentationsfehler überprüft. Wenn solche oder andere besondere pathologische Hintergründe bei entsprechenden Patienten nicht eruiert werden konnten, setzten wir den Grubb's Ausreißertest ein. Dafür fassten wir alle Werte aus den zwei Therapiegruppen zusammen und testeten diese auf Ausreißer. Bei Signifikanz des fraglichen, extremsten Messwertes wurde dieser Wert nach Prüfung der Fraglichkeit schließlich aus dem Kollektiv entfernt. Sofern weitere Messwerte auffällig erschienen, wurde der Testvorgang wiederholt.

3.2.2 Mann-Whitney-U-Test-Analyse

Anschließend wurde mit der Mann-Whitney-U-Test-Analyse überprüft, ob zwischen den Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie ein statistischer Unterschied in Bezug auf die gemessenen Werte der Zellzahlen nachgewiesen werden kann.

3.2.2.1 Ergebnisse für Monozyten

CD1a+PE:

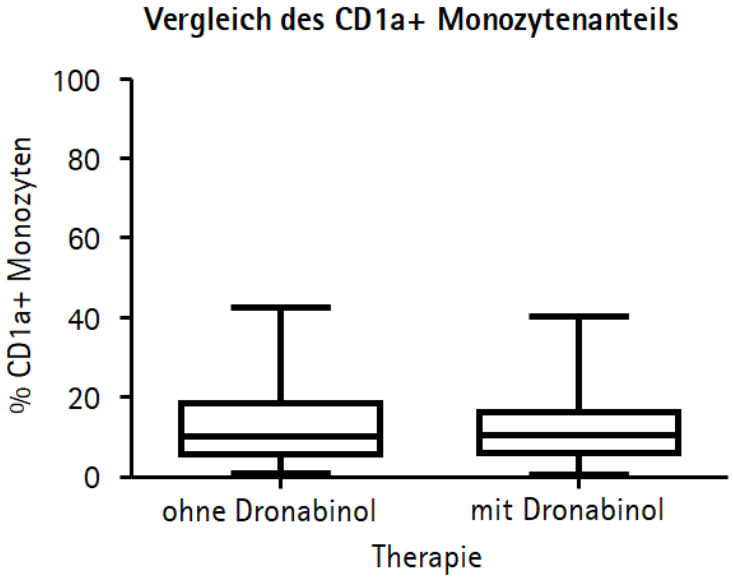

Abb. 16: CD1a: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD1a-exprimierenden Zellen (statistische Kenngrößen siehe Tab. 97)

Tab. 53: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD1a+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,7853
p-Wert < 0,05	nein

Es findet sich kein signifikanter Unterschied in der Expression des CD1a-Oberflächenmoleküls bei einem p-Wert von 0,78.

3.2.2.2 Ergebnisse für T-Lymphozyten

CD4+FITC:

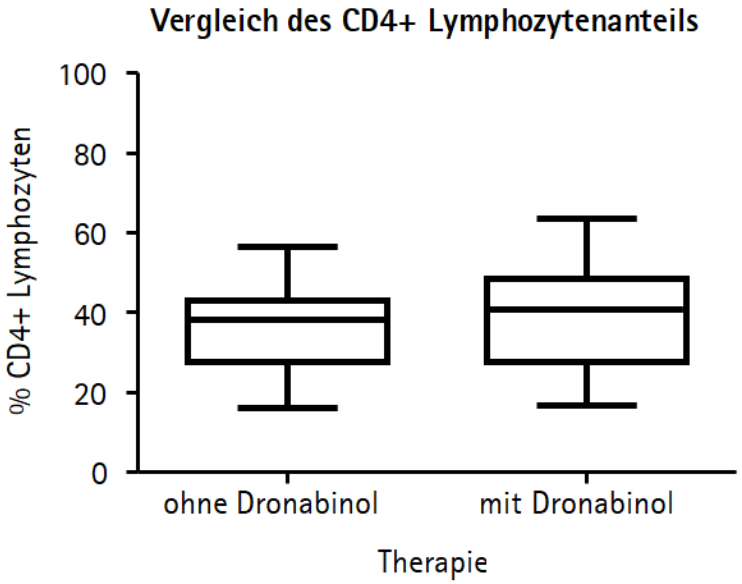

Abb. 17: CD4: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD4-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 98)

Tab. 54: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD4+FITC positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,2554
p-Wert < 0,05	nein

Im Vergleich der Werte mit Dronabinoltherapie gegenüber den Werten ohne eine solche Medikation, ist die Zahl an CD4+ Zellen bei Betrachtung der Minimal- und Maximalwerte erhöht. Ein signifikanter statistischer Unterschied zeigt sich nicht.

CD4+PE:

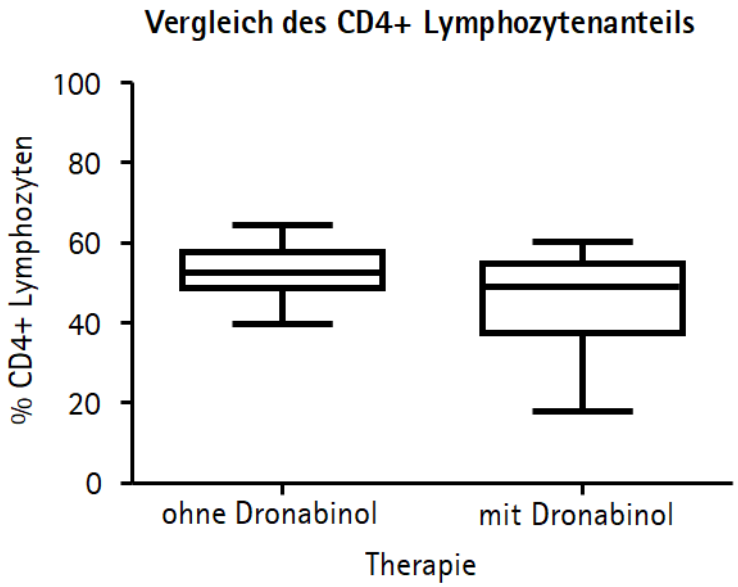

Abb. 18: CD4: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD4-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 99)

Tab. 55: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD4+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,3112
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD4-PE-markierten Zellen liegen in einem Bereich von 39,73% – 64,44% mit einem Median von 52,50%. Die gemessenen Werte der Dronabinoltherapiegruppe zeigen im Vergleich alle (25%-, Median, 75%-Percentile, Minimum und Maximum) niedrigere Werte auf. Nach statistischer Testung findet sich jedoch kein signifikanter Unterschied (p-Wert = 0,31).

CD8+FITC:

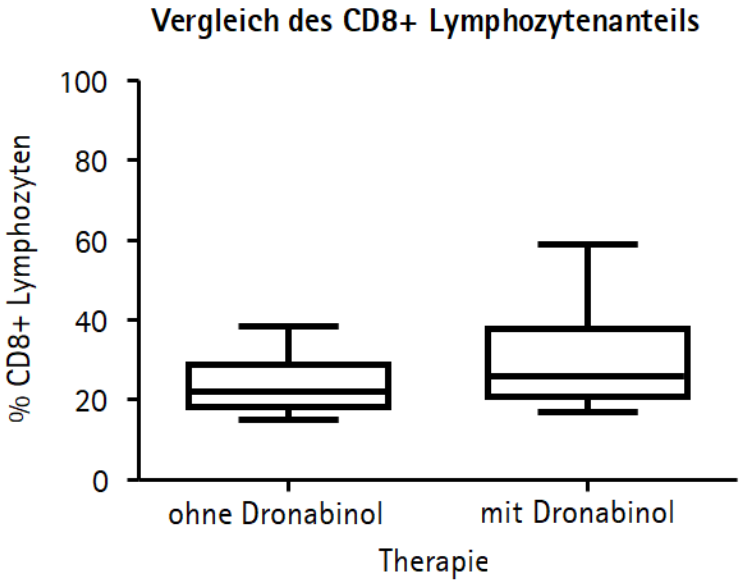

Abb. 19: CD8: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD8-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 100)

Tab. 56: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD8+FITC positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,2027
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD8-FITC markierten Zellen liegen in einem Bereich von 15,02% – 38,35% mit einem Median von 21,93%. Die gemessenen Werte der Dronabinoltherapiegruppe zeigen im Vergleich alle (25%-, Median, 75%-Percentile, Minimum und Maximum) höhere Werte auf. Nach statistischer Testung findet sich jedoch kein signifikanter Unterschied (p-Wert = 0,20).

CD8+PE:

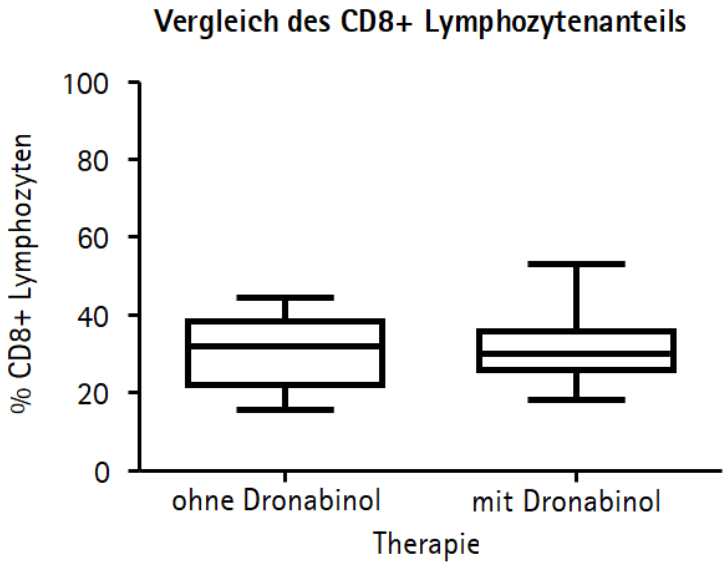

Abb. 20: CD8: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD8-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 101)Tab. 57: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD8+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,9312
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD8-PE markierten Zellen liegen in einem Bereich von 15,60% – 44,44% mit einem Median von 31,93%. Während die Gruppe mit Dronabinol hinsichtlich Median und 75% Percentile insgesamt niedrigere Werte im Vergleich aufzeigt, ist der Maximumwert deutlich erhöht (53,17%). Der Unterschied ist nicht signifikant (p = 0,93).

CD25+FITC:

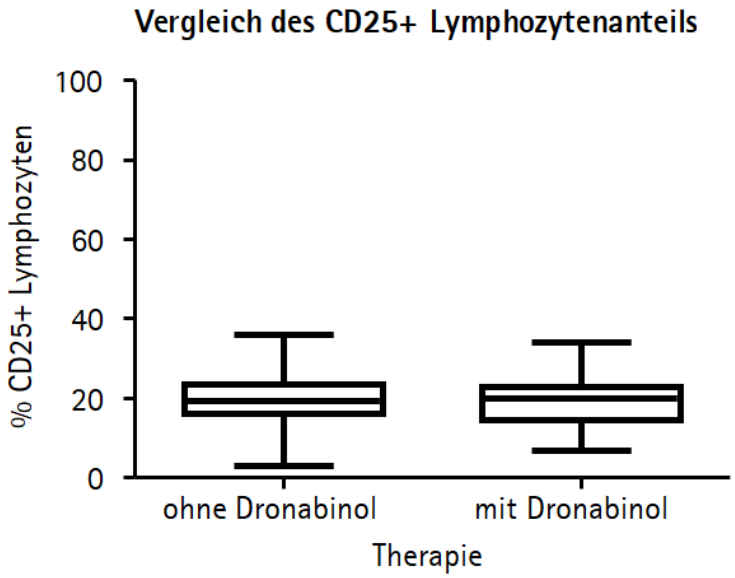

Abb. 21: CD25: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD25-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 102)

Tab. 58: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD25+FITC positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,7959
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD25-FITC markierten positiven Zellen liegen in einem Bereich von 2,84% – 35,87%. Die Zahl CD25+ Lymphozyten unter Dronabinolmedikation weist eine insgesamt geringere Streubreite auf: es finden sich Werte von 6,94% bis 33,92%. Die Mediane sind in etwa gleich (19,46% vs. 19,87%). Es findet sich kein signifikanter Unterschied in der Zellzahl (p = 0,89).

CD25+PE:

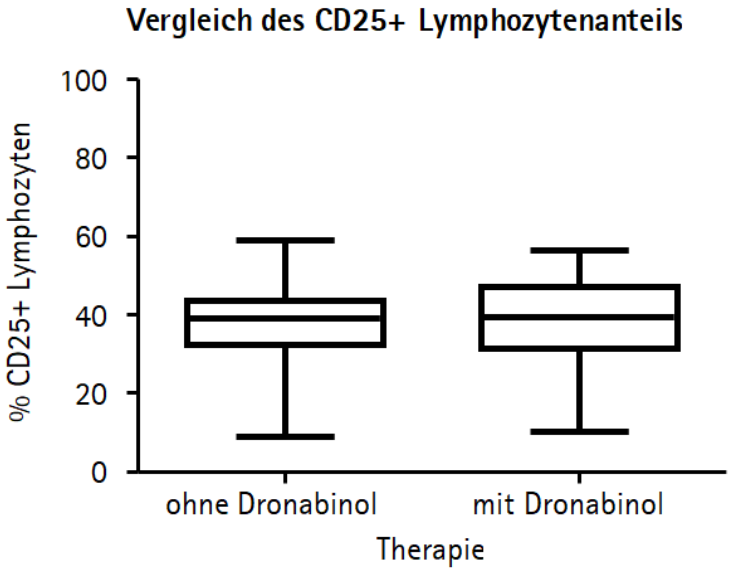

Abb. 22: CD25: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD25-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 103)

Tab. 59: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD25+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,6862
p-Wert < 0,05	nein

Die Zahl CD25-PE markierter Zellen unterscheidet sich nicht signifikant.

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD25-PE markierten Zellen liegen in einem Bereich von 9,01% – 58,77%. Die Zellzahl mit Dronabinolmedikation weist eine insgesamt etwas geringere Streubreite auf: es finden sich Werte von 10,21% bis 56,35%. Die Mediane sind in etwa gleich (38,99% vs. 39,31%). Es findet sich kein signifikanter Unterschied in der Zellzahl (p = 0,68).

3.2.2.3 Ergebnisse für NK-Zellen

CD3+PE:

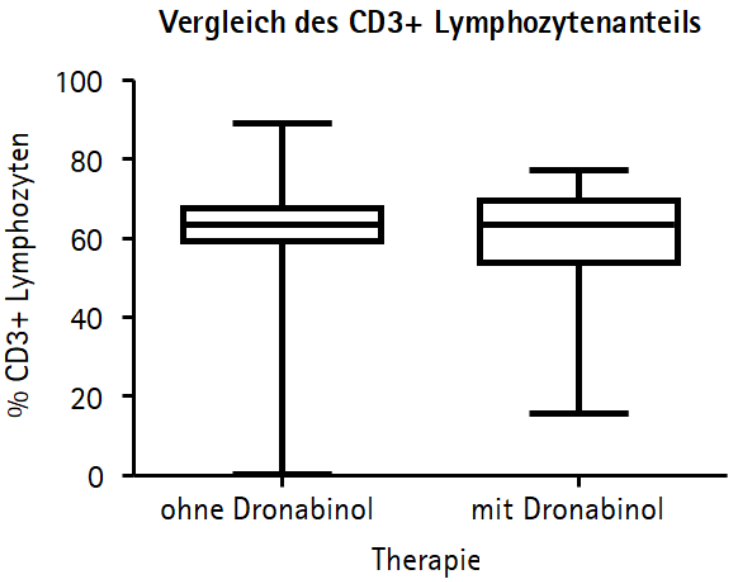

Abb. 23: CD3: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD3-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 104)

Tab. 60: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD3+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,7150
p-Wert < 0,05	nein

Im Vergleich der Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie unterscheidet sich die Streubreite der Werte: 0,41% bis 89,10% vs. 15,69 bis 77,16%. Die Medianwerte liegen etwa gleich. Nach statistischer Auswertung ergibt sich kein signifikanter Unterschied in der Zahl des Oberflächenmoleküls CD3+ Zellen.

CD3/CD56+:

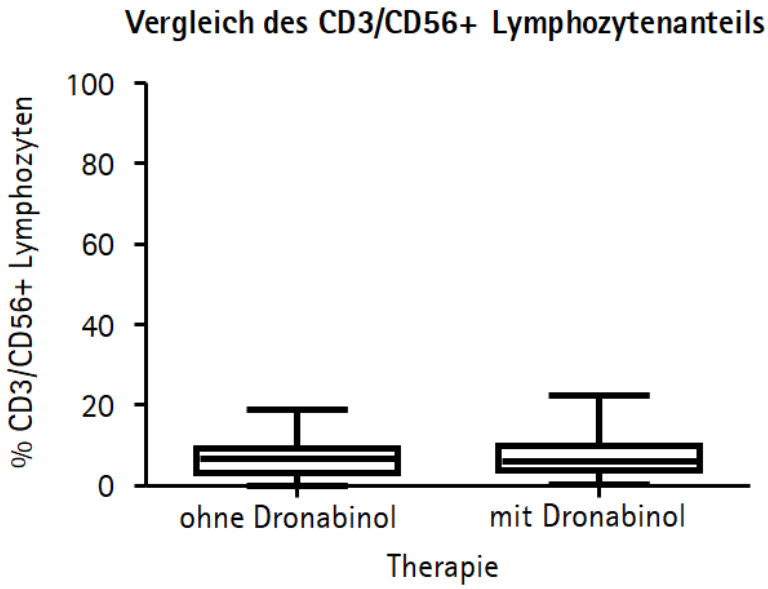

Abb. 24: CD3/CD56 doppelt positive Zellen: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD3 und CD56-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD3 und einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 105)

Tab. 61: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD3/CD56 doppelt positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,7899
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte CD3/CD56 doppelt positiver Zellen liegen in einem Bereich von 0,02% – 18,71% mit einem Median von 6,790%. Die Gruppe mit Dronabinolmedikation liegt dabei hinsichtlich 25% Percentile und 75% Percentile in etwa gleich, der Medianwert etwas niedriger. Der Maximumwert im Vergleich erhöht (22,45%). Der Unterschied ist nicht signifikant (p = 0,79).

CD16/CD56+:

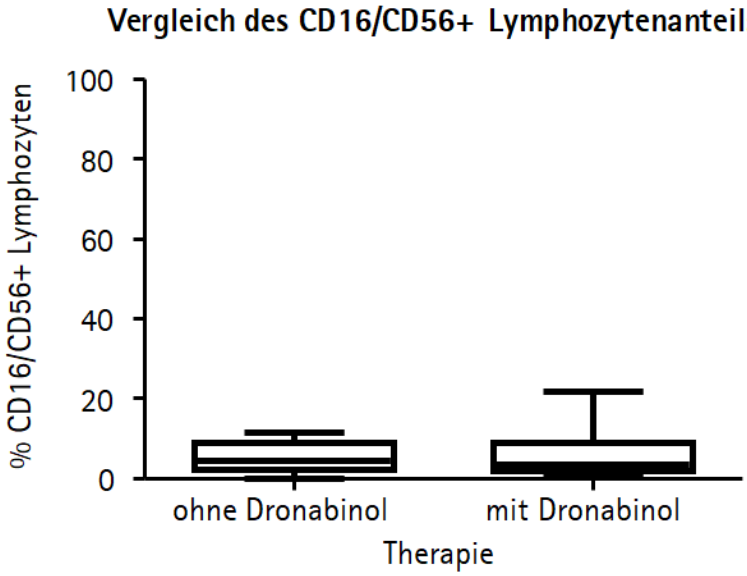

Abb. 25: CD16/CD56 doppelt positive Zellen: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD16 und CD56-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD16 und einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 106)

Tab. 62: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD16/CD56 doppelt positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,8843
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte liegen in einem Bereich von 0,01% – 11,58% mit einem Median von 4,46%. Während die Gruppe mit Dronabinol hinsichtlich 25% Percentile, Median und 75% Percentile insgesamt niedrigere Werte im Vergleich aufzeigt, ist der Maximumwert deutlich erhöht (21,70%). Der Unterschied ist nicht signifikant (p = 0,88).

CD161+FITC:

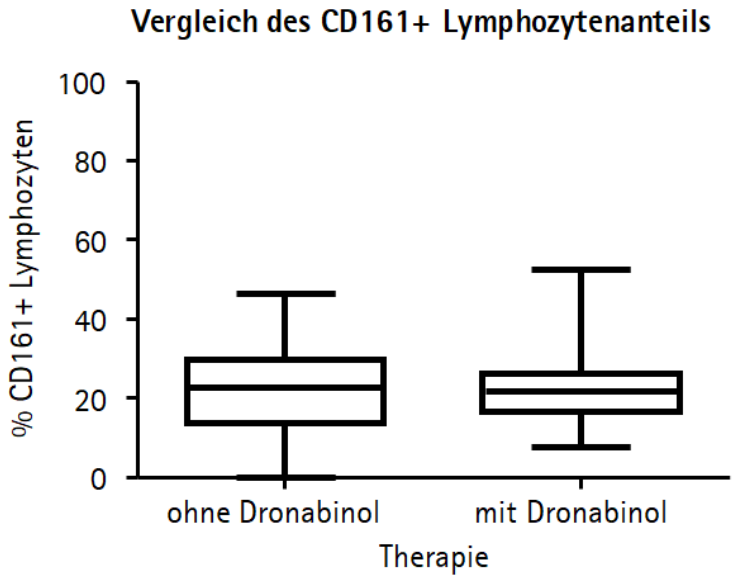

Abb. 26: CD161: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD161-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD56 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 107)

Tab. 63: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD161+FITC positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,9014
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD161+ Zellen liegen in einem Bereich von 0,06% – 46,44%. Der Minimumwert unter Dronabinolmedikation liegt im Vergleich bei 7,55% deutlich höher. Als Maximumwert werden Zellzahlen von 52,41% gemessen. Der Medianwert ohne Dronabinoltherapie ist leicht erhöht (22,67% vs. 21,63%). Insgesamt findet sich kein signifikanter Unterschied in der Expressionsrate (p = 0,90).

CD56/CD161+:

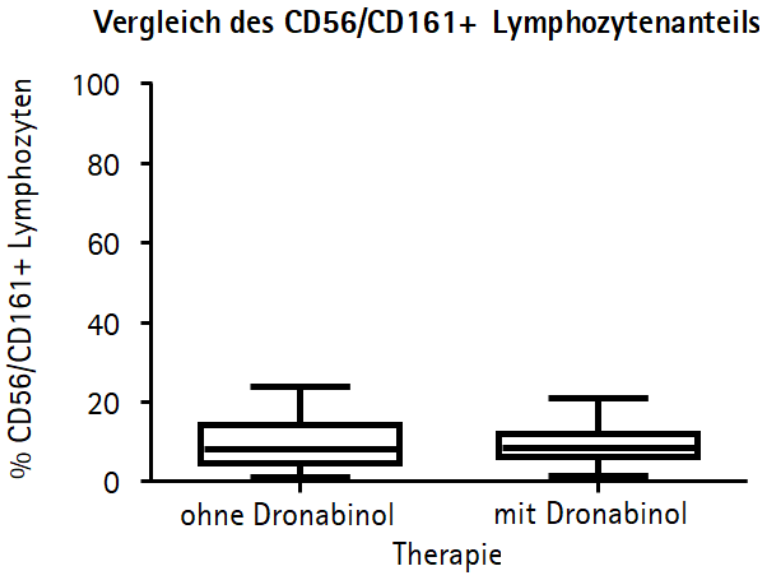

Abb. 27: CD56/CD161 doppelt positive Zellen: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD56 und CD161-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD56 und einem FITC-markierten Antikörper gegen CD161 bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 108)

Tab. 64: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD56/CD161 doppelt positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,8852
p-Wert < 0,05	nein

Die ohne die Dronabinoltherapie gemessenen Werte an CD56/CD161 doppelt-positiven Zellen liegen in einem Bereich von 0,93% – 23,79%. Die gemessene Zellzahl unter Dronabinolmedikation weist eine insgesamt geringere Streubreite auf: es finden sich Werte von 1,40% bis 20,89%. Die Mediane sind in etwa gleich (8,3% vs. 8,4%). Es findet sich kein signifikanter Unterschied in der Expressionsrate (p = 0,89).

CD56+PE:

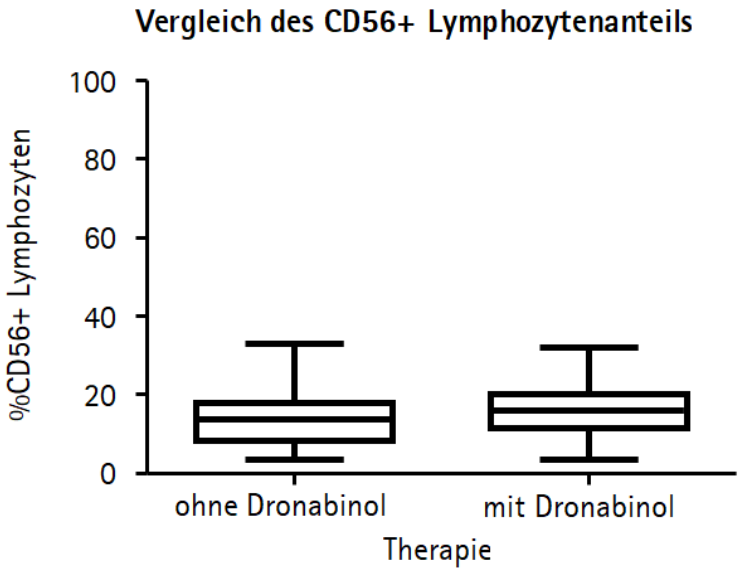

Abb. 28: CD56: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD56-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem FITC-markierten Antikörper gegen CD161 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 109)

Tab. 65: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests fürCD56+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,0928
p-Wert < 0,05	nein

Im Vergleich der Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie unterscheiden sich sowohl die 25%- und die 75%-Quantil-Werte, als auch die Mediane der CD56-PE markierten Zellen, wobei Zahl CD56+ Zellen unter einer bestehenden Dronabinoltherapie höher ist. Nach statistischer Auswertung ergibt sich kein signifikanter Unterschied, jedoch spiegelt der niedrige p-Wert von 0,0928 die Tendenz zu einem Unterschied wider.

CD57+PE:

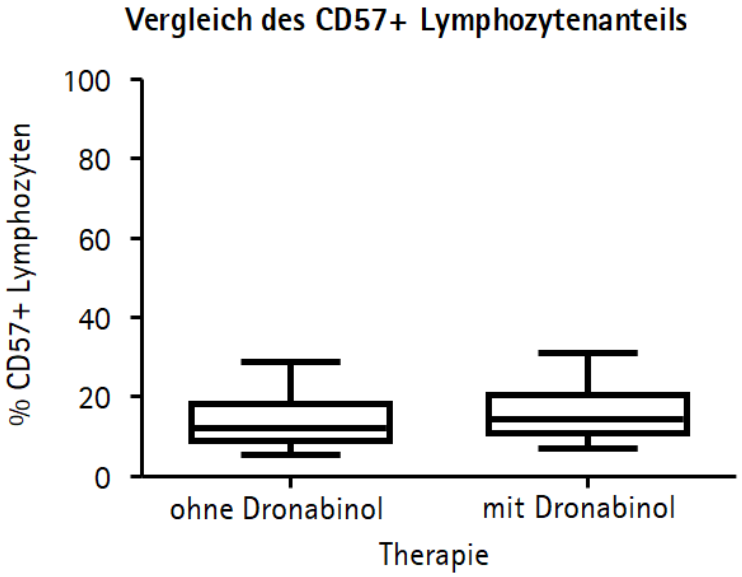

Abb. 29: CD57: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD57-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 110)

Tab. 66: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests fürCD57+PE positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,1512
p-Wert < 0,05	nein

Im Vergleich der Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie liegt die Zahl an CD57+ Zellen insgesamt höher. Nach statistischer Auswertung ergibt sich jedoch kein signifikanter Unterschied, ein p-Wert von 0,15 zeigt jedoch eine Tendenz zu einem Unterschied.

CD69+FITC:

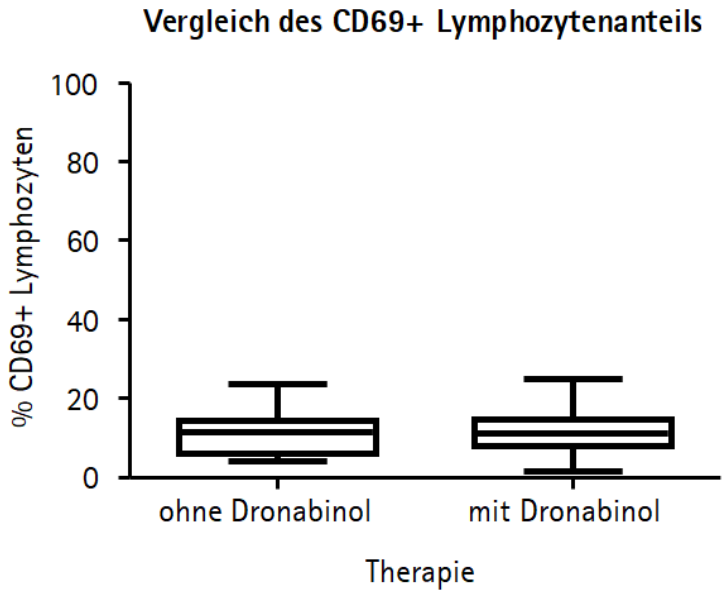

Abb. 30: CD69: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD69-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD25 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 111)

Tab. 67: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Mann-Whitney-U-Tests für CD69+FITC positive Zellen inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Mann-Whitney-U-Test	
p-Wert	0,6841
p-Wert < 0,05	nein

Die verschiedenen Therapiegruppen (mit und ohne Dronabinolmedikation) unterscheiden sich in Bezug auf die Zahl an CD69+ Zellen hinsichtlich der Mediane und der 75% Percentile kaum. Lediglich die Streubreite ist in der Gruppe mit Dronabinoltherapie etwas größer (1,48% - 25,02%) als in der ohne Medikation (3,94% - 23,60%). Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied.

3.3 SNP-Bestimmung

Die Bestimmung der Aminosäuresequenz des CB2-Rezeptors gelang uns nicht bei allen an der ursprünglichen Studie teilnehmenden Patienten. Dies lag hauptsächlich an nicht durchgängig konservierten Blutentnahmen. Es nahmen nicht alle Patienten zur gleichen Zeit an dem

Dronabinolversuch teil und so wurden nicht von allen Patienten Blutproben gewonnen. Denn erst nachdem sich herausgestellt hatte, dass einige Patienten einen wesentlichen Benefit zeigten, fiel die Entscheidung, diese weiter zu behandeln und dabei auch die Blutentnahmen zu tätigen.

Tabellarische Übersicht der Genotypen der einzelnen Patienten an der Aminosäurestelle 63 nach Aminosäuresequenzierung:

Tab. 68: Bestimmung des Genotypen für die Aminosäurestelle (AS) 63 des Cannabinoidrezeptor 2; Q steht für die AS Glutamin, R steht für die AS Arginin; k.A. = keine Angabe

Patientennr.	Genotyp an AS 63
DB 01	k.A.
NF 02	k.A.
MGH 03	QQ
PW 04	k.A.
KK 05	QQ
IG 06	QR
KR 07	k.A.
S 08	k.A.
GD 09	RR
HL 10	k.A.
CP 11	QR
BG 12	RR
DE 13	QR
HL 14	QR
DS 15	QQ
SK 16	QR
IC 17	QQ
BL 18	QR
BD 19	RQ

Patientennr.	Genotyp an AS 63
SO 20	RR
HA 21	k.A.
GN 22	QR
MK 23	QQ
RH 24	RR
IB 25	RR
MB 26	QQ
IS 27	QR
HD 28	QQ
UP 29	k.A.
DG 30	RR
MG 31	RR
AK 32	QR
HK 33	RR
MB 34	QR
MW 35	RR
WO 36	QR
LF 37	QQ
KR 38	QR

<u>Q63R-Polymorphismus</u>

Bei 30 Testungen sind bezüglich des Q63R-Polymorphismus 8 homozygote Individuen, die das Wildtyp-Allel tragen, zu erkennen. Außerdem sind 13 als heterozygote (Allelfolge: QR)

und 9 als homozygote (Allelfolge: QQ) Individuen bestimmt worden. Damit beträgt der prozentuale Anteil an Individuen, die homozygot für den Polymorphismus sind, 33%. Dies entspricht in etwa dem Vorkommen des Rezeptorpolymorphismus von Homozygoten in einer Stichprobe der kaukasischen Bevölkerung von 32%, die Sipe et al. angegeben haben.
Wenn man die Patientengruppe isoliert betrachtet, die besonders von der Dronabinoltherapie profitierte und dadurch nach dem initialen Therapiegeschehen weiterhin eine Medikation erhielt, sind ebenfalls 33% aus dieser Gruppe homozygot bezüglich des Rezeptorpolymorphismus' Q63R.

3.4 Vergleich der Therapiegruppen bzgl. des SNPs

Danach folgte die Aufteilung der 12 Patienten in die Genotypengruppen QQ, QR und RR.
So entstanden nur noch sehr kleine Patientengruppen mit fünf, vier und drei Patienten. Die Messwerte wurden diesen Genotypengruppen zugerechnet. Dabei existierten erneut Daten mit und ohne Dronabinoltherapie von den gleichen Patienten. Zur genaueren Betrachtung eines möglichen Einflusses des Rezeptorpolymorphismus' verwendeten wir als ein nicht-parametrisches Testverfahren für verbundene Stichproben, den Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben.
Im Folgenden sind die Ergebnisse aufgeteilt nach den unterschiedlichen Oberflächenmarkern zu sehen:

CD1a+PE:

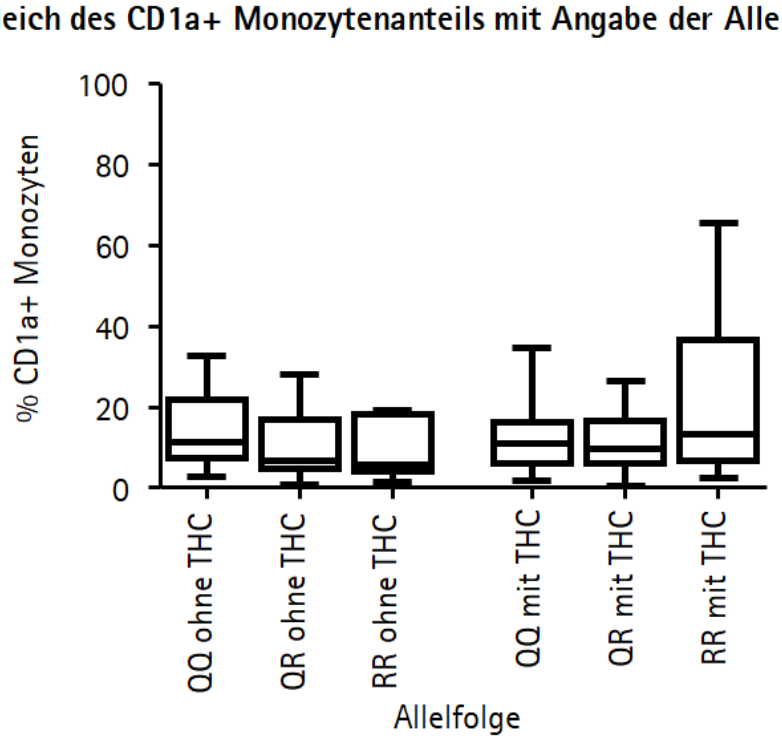

Abb. 31: CD1a: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD1a-exprimierenden Zellen (statistische Kenngrößen siehe Tab. 112)

Tab. 69: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD1a+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,1034	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,9453	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,3125	nein

Es findet sich kein signifikanter Unterschied in der Zahl der CD1a-exprimierenden Zellen hinsichtlich der Existenz des SNPs Q63R.

CD4+FITC:

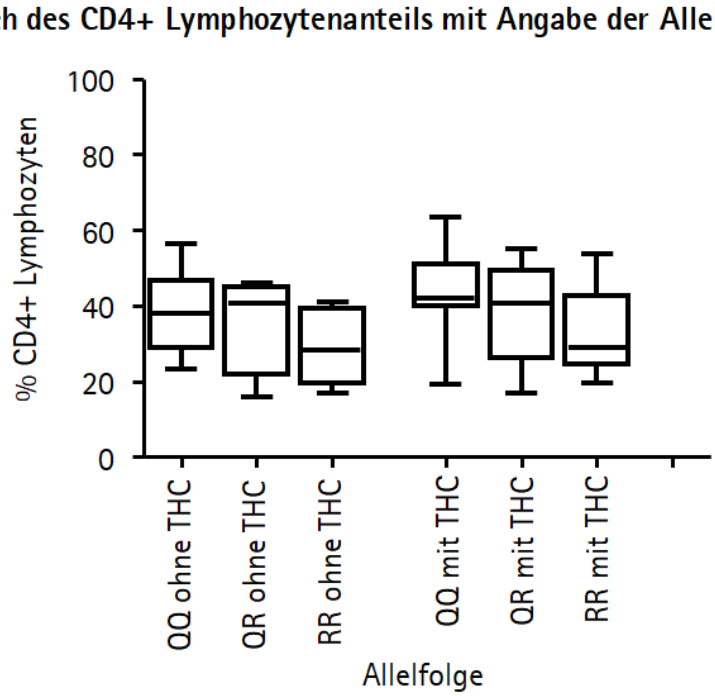

Abb. 32: CD4: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD4-exprimierenden Zellen die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 113)

Tab. 70: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD4+FITC positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,4648	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,1250	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,1875	nein

Unter Einbeziehung der Allelfolge hinsichtlich des SNPs Q63R findet sich kein Unterschied in der Zahl CD4+ Zellen, die mit Hilfe eines FITC-markierten Antikörpers gemessen wurden.

CD4+PE:

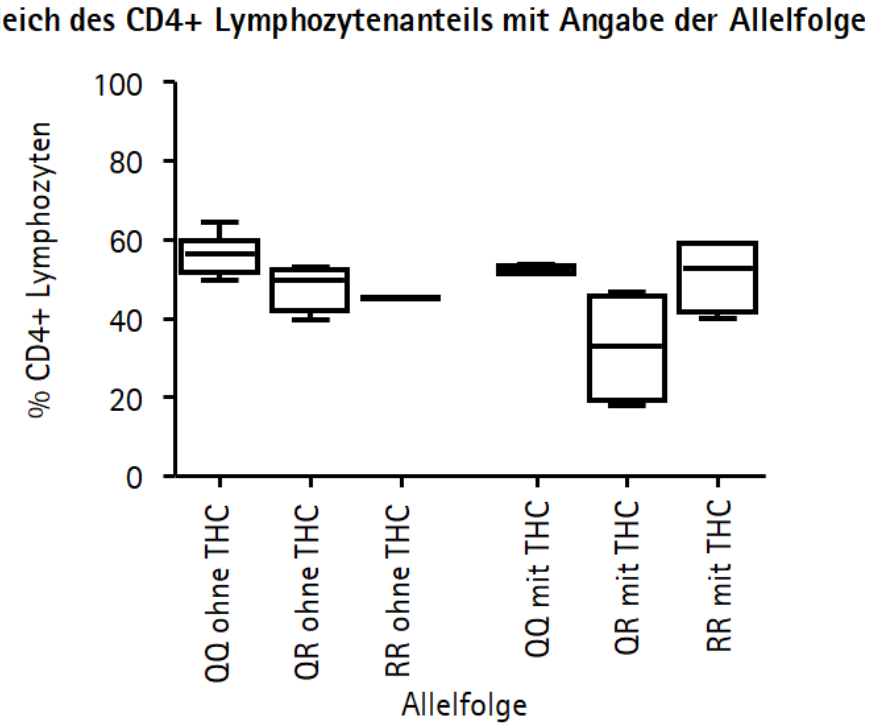

Abb. 33: CD4: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD4-exprimierenden Zellen die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 114)

Tab. 71: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD4+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,6250	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,1250	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	-	-

Hinsichtlich des Vorhandenseins SNPs Q63R findet sich kein Unterschied in der Zahl CD4+ Zellen, die mit Hilfe eines PE-markierten Antikörpers gemessen wurden bei den Allelfolgen QQ und QR. Für einen sinnvollen statistischen Vergleich in der Gruppe RR waren nicht genügend Daten vorhanden.

CD8+FITC:

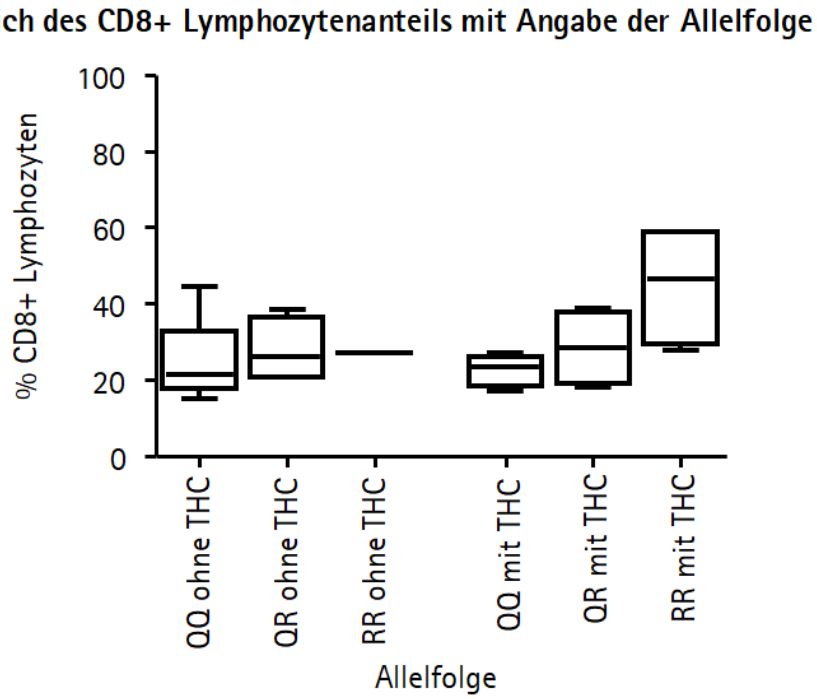

Abb. 34: CD8: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD8-exprimierenden Zellen die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 115)

Tab. 72: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD8+FITC positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,8125	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,8750	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	-	-

Nach Auswertung der p-Werte der unterschiedlichen Allelgruppen bezüglich des SNPs Q63R findet sich kein Unterschied in der Zahl CD8+ Zellen, die mit Hilfe eines FITC-markierten Antikörpers gemessen wurden. Um eine statistische Auswertung der Gruppe RR vorzunehmen, waren nicht genügend Daten vorhanden.

CD8+PE:

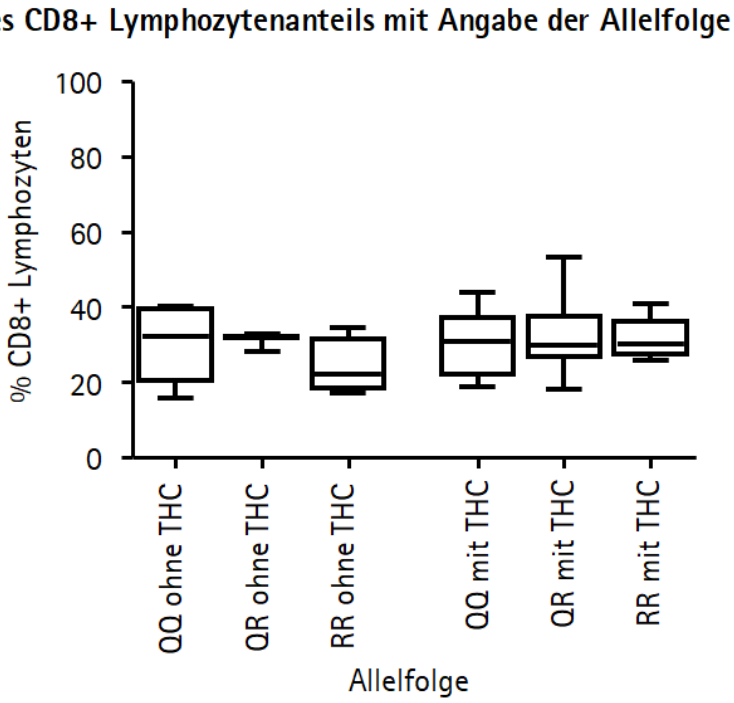

Abb. 35: CD8: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD8-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 116)

Tab. 73: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD8+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,4961	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	1,0000	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,1250	nein

Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied für die Zahl CD8+ Zellen, gemessen mit PE-markiertem Antikörper in Abhängigkeit einer Dronabinoltherapie unter Betrachtung der Allelfolge für den SNP Q63R.

CD25+FITC:

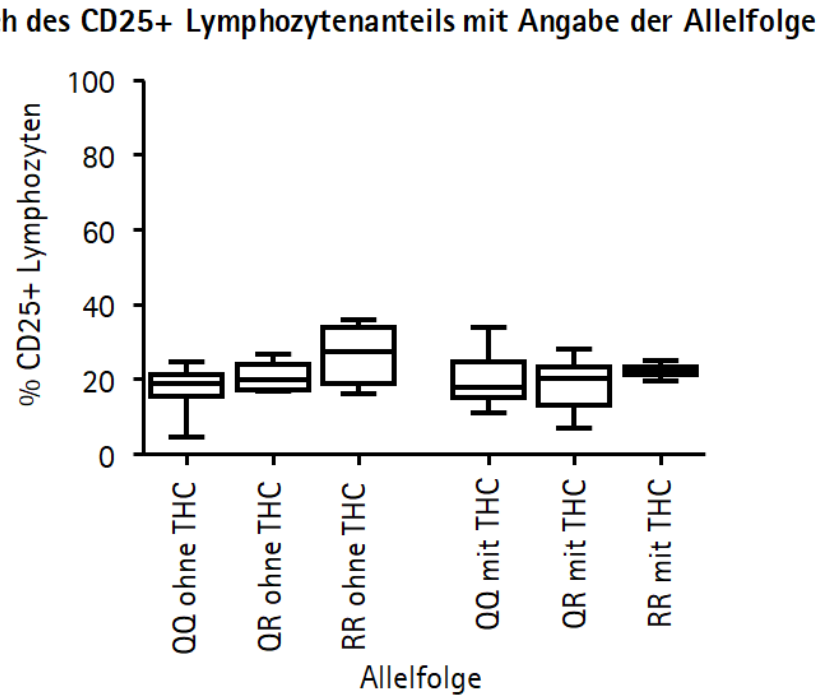

Abb. 36: CD25: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD25-exprimierenden Zellen die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 117)

Tab. 74: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD25+FITC positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,2958	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,8438	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,3750	nein

Bei Betrachtung der p-Werte hinsichtlich eines Unterschieds der Zahl an CD25-exprimierenden Zellen unter Dronabinoltherapie je nach Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied bei Messung mittels FITC-markiertem Antikörper.

CD25+PE:

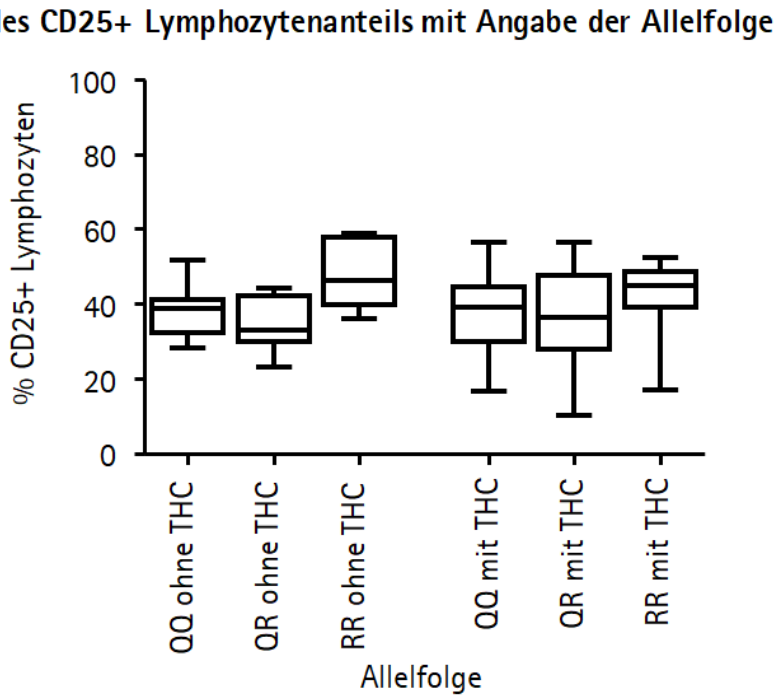

Abb. 37: CD25: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR =Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD25-exprimierenden Zellen die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 118)

Tab. 75: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD25+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,4210	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,3125	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,1094	nein

Bei Betrachtung der p-Werte hinsichtlich eines Unterschieds der Zahl an CD25-exprimierenden Zellen unter Dronabinoltherapie je nach Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied bei Messung mittels PE-markiertem Antikörper.

CD3+PE:

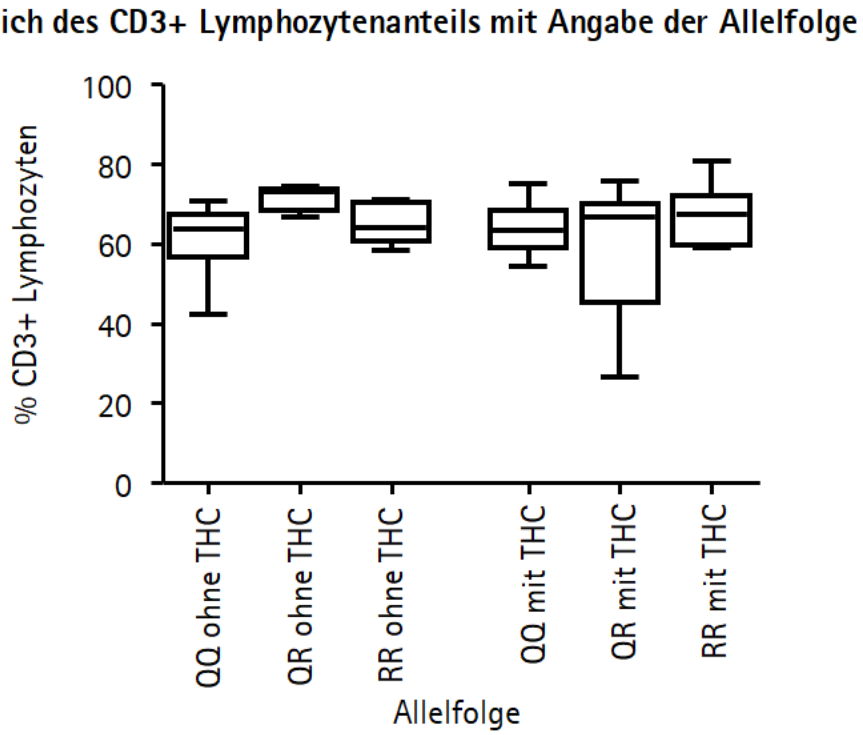

Abb. 38: CD3: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD3-exprimierenden Zellen die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 119)

Tab. 76: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD3+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,5421	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,3750	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	1,0000	nein

Nach statistischer Auswertung ergibt sich unter Dronabinoltherapie für die einzelnen Allelfolgen des SNPs Q63R kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit von Zellen, die das Oberflächenmolekül CD3 exprimieren.

CD3/CD56+:

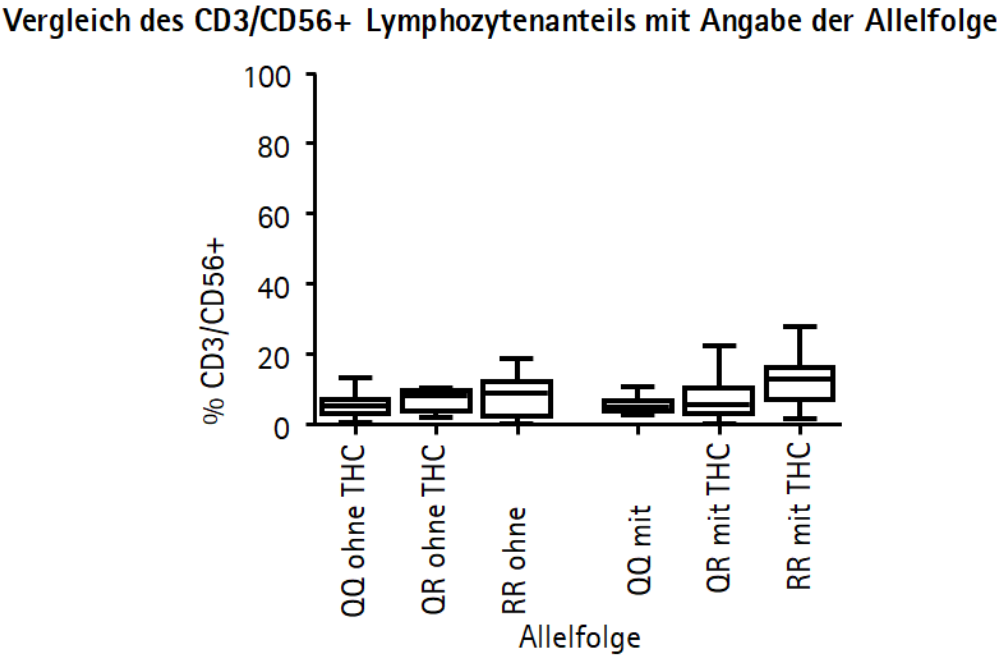

Abb. 39: CD3/CD56: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD3/CD56-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD3 und einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 120)

Tab. 77: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD3/CD56 doppelt positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,8040	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,5625	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,2969	nein

Bei Betrachtung der p-Werte hinsichtlich eines Unterschieds der Zahl an CD3/CD56 doppelt positiven Zellen unter Dronabinoltherapie je nach Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

CD16/CD56+:

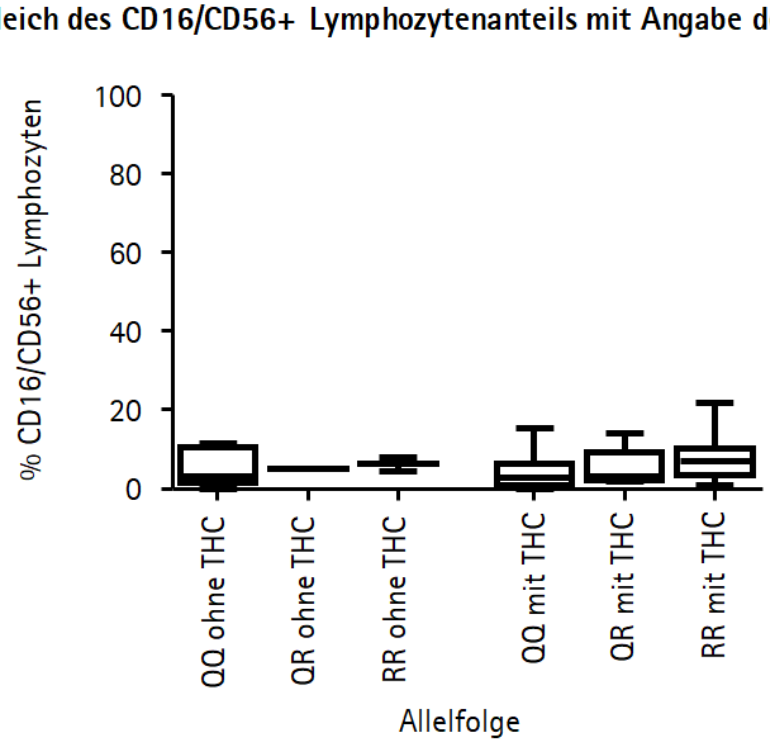

Abb. 40: CD16//CD56: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD16/CD56-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD16 und einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 121)

Tab. 78: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD16/CD56 doppelt positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,6875	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	-	-
RR ohne vs. mit Dronabinol	-	-

Bei Betrachtung der p-Werte hinsichtlich eines Unterschieds der Zahl an CD16/CD56 doppelt positiven Zellen unter Dronabinoltherapie bezüglich des SNPs Q63R findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied bei der Existenz der Allelfolge QQ. Für eine Auswertung der Allelkombinationen QR und RR war die Datenmenge nicht ausreichend.

CD161+FITC:

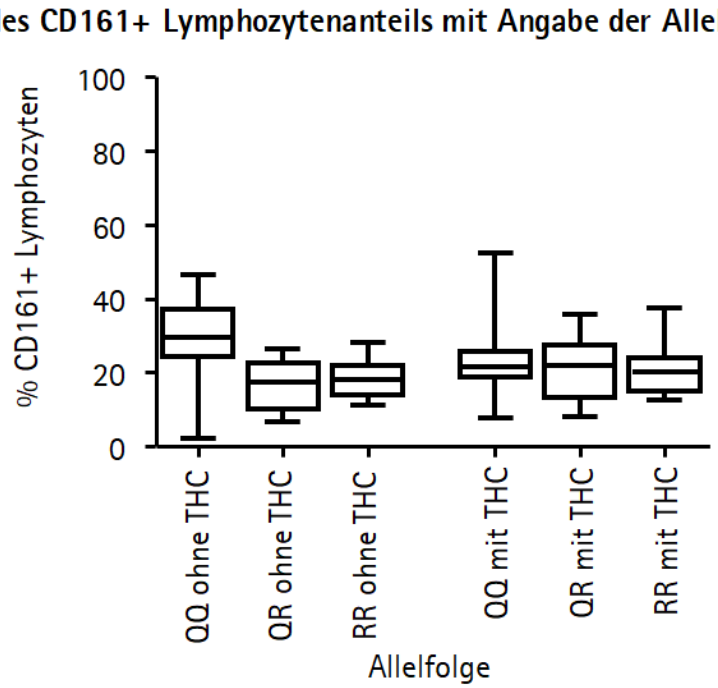

Abb. 41: CD161: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD161-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD56 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 122)

Tab. 79: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD161+FITC positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,4851	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,0156	ja
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,2969	nein

Bei Betrachtung der Allelkombinationen hinsichtlich des SNPs Q63R findet sich in der heterozygoten Gruppe (QR) ein statistisch signifikanter Unterschied der Zahl an CD161+ Zellen unter Dronabinolmedikation.

CD56/CD161+:

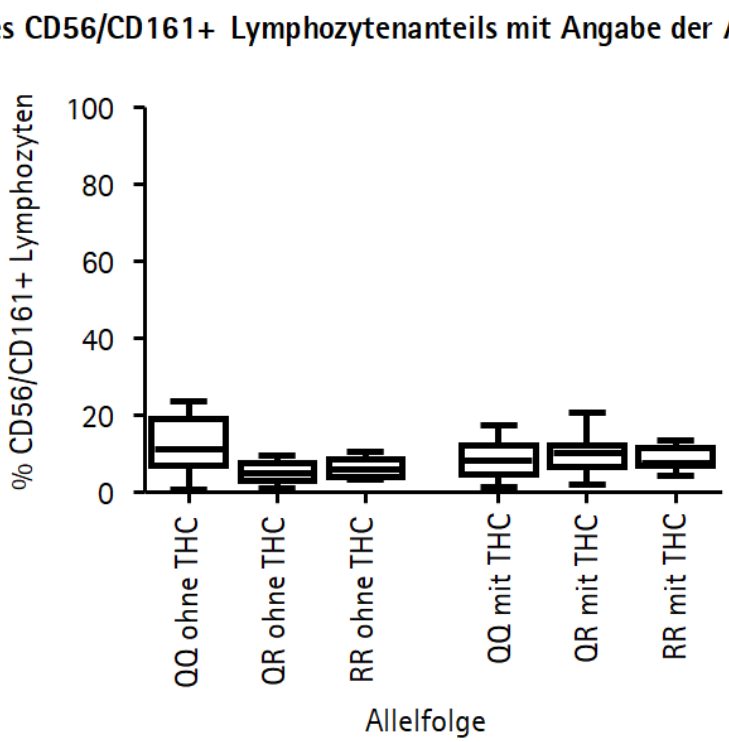

Abb. 42: CD56/CD161: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD56/CD161-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD56 und einem FITC-markierten Antikörper gegen CD161 bestimmt worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 123)

Tab. 80: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD56/CD161 doppelt positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,6603	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,0156	ja
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,2188	nein

Bei Betrachtung der Allelkombinationen hinsichtlich des SNPs Q63R findet sich in der heterozygoten Gruppe (QR) ein statistisch signifikanter Unterschied der Zahl an CD56/CD161 doppelt positiven Zellen unter Dronabinolapplikation.

CD56+PE:

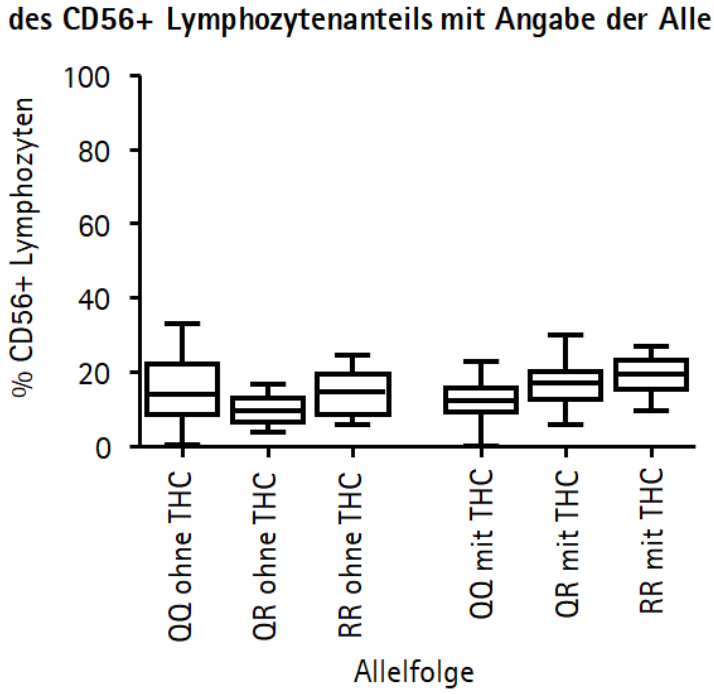

Abb. 43: CD56: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD56-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem FITC-markierten Antikörper gegen CD161 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 124)

Tab. 81: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD56+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,9794	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,0469	ja
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,5625	nein

Bei Betrachtung der Allelkombinationen hinsichtlich des SNPs Q63R findet sich in der heterozygoten Gruppe (QR) ein statistisch signifikanter Unterschied der Zahl an CD56+ Zellen bei Verabreichung von Dronabinol.

CD57+PE:

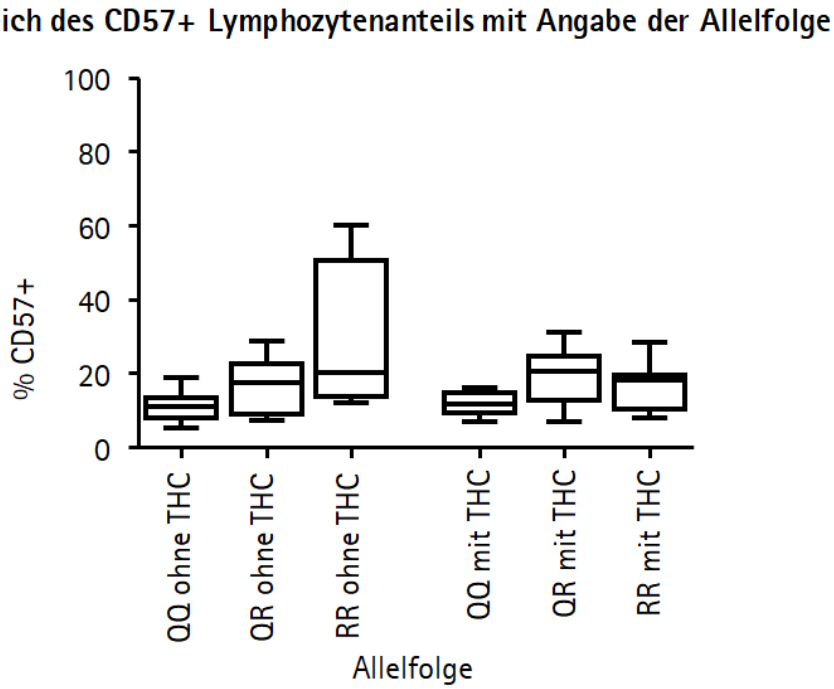

Abb. 44: CD57: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD57-exprimierenden Zellen, die mit einem PE-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem FITC-markierten Antikörper gegen CD56 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 125)

Tab. 82: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD57+PE positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,2958	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,8125	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,3750	nein

Die Zahl der CD57+ Zellen ändert sich nicht statistisch signifikant unter Berücksichtigung des SNPs Q63R unter Dronabinolapplikation.

CD69+FITC:

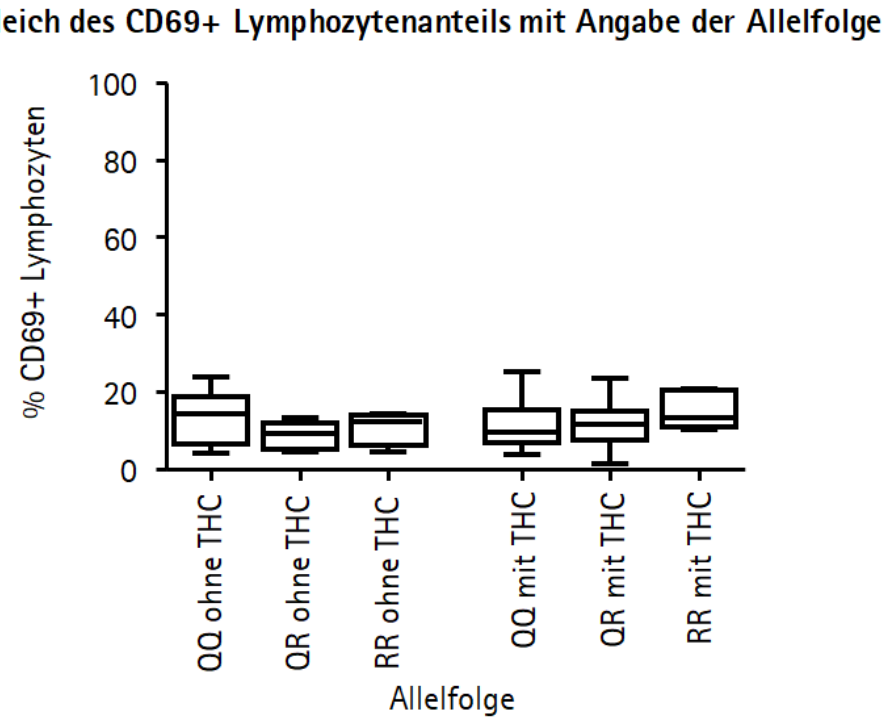

Abb. 45: CD69: Boxplot-Diagramm aus Einzelmesswerten aus EDTA-Blutproben: x-Achse: Patienten-Gruppeneinteilung nach Therapie (mit und ohne Dronabinol) und Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R (QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin); horizontale Balken der Box: oberer Balken = 75% Percentile, mittlerer Balken = Median, unterer Balken = 25% Percentile; Whiskers: Minimum zu Maximum; y-Achse: Prozentwert der gegateten = CD69-exprimierenden Zellen, die mit einem FITC-markierten Antikörper bestimmt worden sind und in Kombination mit einem PE-markierten Antikörper gegen CD25 gemessen worden sind (statistische Kenngrößen siehe Tab. 126)

Tab. 83: Darstellung des p-Werts nach Durchführung des Wilcoxon-Tests für CD69+FITC positive Zellen unter Angabe der Genotypen bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin inkl. Eruierung des Signifikanzniveaus

Wilcoxon-Test		
	p-Wert	p-Wert < 0,05
QQ ohne vs. mit Dronabinol	0,2334	nein
QR ohne vs. mit Dronabinol	0,3750	nein
RR ohne vs. mit Dronabinol	0,3750	nein

Es lässt sich kein statistisch signifikanter Unterschied einer Veränderung der Zahl CD69+ Zellen unter Dronabinoltherapie hinsichtlich des Vorhandenseins des SNPs Q63R erkennen.

3.5 Dronabinoldosis

Die Dosierung des verwendeten Dronabinolpräparats zur Therapie der einzelnen Patienten war durchaus unterschiedlich: Nahmen während der Aufdosierung im ersten Studienteil die Patienten zwischen 15 bis 25mg/Tag ein, erfolgte die Einstellung zur weiterführenden Therapie zunächst bei durchgehend 15mg/Tag. Danach wurde je nach aufgetretenen Nebenwirkungen und Wirkung des Präparats die Dosis individuell angepasst und lag individuell unterschiedlich zwischen 10-25mg/Tag, wie aus Tabelle 84 zu entnehmen ist.

Tab. 84: Übersicht über die Dosierung der Dronabinolmedikation in Milligramm und deren Veränderung bei den unterschiedlichen Patienten am Morgen, mittags und abends

Patient	Aufdosierung erster Studienteil	Dosis weiterführende Therapie	Veränderung während weiterführender Therapie
MGH 03	5-5-5 (C+D)	5-5-5	Keine Veränderung
KK 05	5-5-5 (C+D)	5-5-5	Keine Veränderung
IG 06	5-5-5 (C+D)	5-5-5	Keine Veränderung
DG09	10-5-10: NW 5-5-10 (C) 5-5-10 (D)	5-5-5	Nichteinnahme 11.11.-13.11.2002 (Nebenwirkungen) 5-5-5 14.11.-16.11. 5-0-5 ab 17.11.2002
CP11	10-5-10 (C) 5-5-10 (D im Verlauf)	5-5-5	10-5-5 ab 30.12.2002
LH14	10-5-10 (C+D)	5-5-5	5-5-0 ab 03.09.2003 (nach Auslassversuch)
DS 15	10-5-10 (C+D)	5-5-5	5-5-10 ab 24.02.2003 (keine so gute Wirkung)

			10-5-10 (keine so gute Wirkung)
IC 17	10-5-10 (C) 5-5-10 (D)	5-5-5	5-0-5 ab 20.02.2003 (Schwindel)
SO 20	10-5-10 (C+D)	5-5-5	10-5-10 28.02. -31.03.2003 5-5-10 31.03. – 03.06.2003 5-0-10 03.06. -08.07.2003
MK 23	10-5-10 (C+D)	5-5-10	5-5-5 Ab 09.07.2003 (Müdigkeit)
GM 31	10-5-10 (C+D)	5-5-5	10-5-5 Ab 10.10.2003
RK 38	10-5-10 (C+D)	5-5-5	Ausschleichen ab 28.04.2003 0-0-1 Unmittelbar weiter nach Absetzen 5-0-5 ab 05.08.2003

4 Diskussion

4.1 Methodische Aspekte

4.1.1 Statistik

Die für die vorliegende Arbeit bearbeiteten und untersuchten Patientenproben wurden von der Abteilung „Experimentelle Anästhesie des Universitätsklinikum Ulm" im Rahmen einer weiterführenden Untersuchung bezüglich der analgetischen Wirksamkeit einer Dronabinoltherapie bei 35 Patienten mit chronischen Schmerzen, die nach einem medikamentös-analgetischen Schema der Stufe 2 oder 3 nach WHO behandelt wurden, erhoben.

Pro Patient wurden je nach Therapiedauer unterschiedlich viele Proben zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Therapieverlauf entnommen. Die Anzahl der pro Oberflächenmarker bestimmten Messwerte differierte aufgrund der stattgehabten Veränderungen hinsichtlich der Benutzung verschiedener Antikörper während des Erhebungszeitraums stark und ist den jeweiligen Tabellen gesondert zu entnehmen. Es erfolgte die Selektion der Messwerte nur nach dem Merkmal „Dronabinoltherapie besteht" oder „besteht nicht". Somit kann ein eventueller Selektionseffekt nach Patientenalter, Geschlecht oder anderen Faktoren nicht ausgeschlossen werden.

Nach der Einteilung in therapiespezifische Gruppen ergaben sich zwar keine großen Stichprobenumfänge, diese waren hinsichtlich der Anzahl für eine explorative Datenanalyse aber ausreichend. Auf die Anwendung exakter Tests konnte insofern verzichtet werden, als die Analyse nicht auf beweisende statistische Auswertung abzielt.

Da bei kleineren Stichprobenumfängen Zufallsvariablen wie z.B. die Varianz oder Verteilung in der Regel nicht bekannt sind, haben in der vorliegenden Arbeit nicht-parametrische Testverfahren Anwendung gefunden. Diesen dient das Rangsummenprinzip als Grundlage, eine Normalverteilung wird nicht vorausgesetzt. Wie bereits weiter oben beschrieben, werden die Originalwerte durch die Vergabe an Rangzahlen ersetzt. Mit diesen wird dann die Teststatistik durchgeführt. Dadurch bedingt ist einerseits, dass eine Datenmanipulation oft konsequenzlos bleibt, aber anderseits die Testpower nicht groß ist, dass dadurch eine

Auswertung der Ränge und nicht der Werte erfolgt und die vorliegenden Informationen nicht entsprechend ausgenutzt werden.
Es existiert das Risiko, dass eine doch bestehende Differenz durch einen solchen Rangsummentest verkannt werden könnte und damit fälschlicherweise die Nullhypothese (d.h. es gibt keine Unterschiede) angenommen würde. Dies betrifft hauptsächlich die fälschliche Verwendung eines Rangsummentests trotz gegebener Voraussetzungen für einen t-Test.
Durch die Anwendung nicht-parametrischer Testverfahren bei kleinen Stichproben mit Bewertung von Rangzahlen anstelle der Beobachtungswerte wird das Risiko potentieller Verzerrungen durch Ausreißer minimiert. Derartige Ausreißer können in Mess- oder Dokumentationsfehlern oder aber auch in besonderen pathologischen Patientenhintergründen begründet sein.

4.1.2 Methodik

Die Immunphänotypisierung gilt als fortschrittliche Forschungsmethode. Bei der Anwendung zur genaueren Betrachtung des menschlichen Abwehrsystems ist sie in vielen Angelegenheiten sehr hilfreich gewesen. Mittels monoklonaler Antikörper ist es möglich, die Antigenexpression bestimmter Zellen nachzuweisen. Somit lassen sich Rückschlüsse auf Zelllinienzugehörigkeit, Differenzierungsgrad und Ausmaß der Aktivierung der Zellen oder einer bestimmten Subpopulation ziehen. Bei unseren Untersuchungen legten wir besonderes Interesse auf einen Vergleich von v.a. NK-, NK-T- und von T-Zellen bei Patienten mit Dronabinolmedikation.
Wie bereits bekannt, sind Nozizeption und Immunsystem eng miteinander verknüpft. Geschichtlich ist bereits früh ein analgetischer Nutzen von Cannabinoidsubstanzen belegt. Dies spiegelt sich auch in den neuesten Untersuchungen auf diesem Forschungsgebiet wider. Aufgrund der starken Expression des CB2-Rezeptors auf Immunzellen wurde wiederum eine Verbindung postuliert und in der jüngsten Zeit im Hinblick auf neue therapeutische Möglichkeiten erforscht. Ob und inwiefern Auswirkungen einer Cannabis-vermittelten Schmerztherapie auf das Immunsystem bestehen, soll hier untersucht werden. Dabei interessiert besonders, ob ein Unterschied besteht, wenn bei den therapierten Individuen eine Mutation des CB2-Rezeptors vorliegt, welcher in der Literatur bereits mehrfach mit Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht wurde.

4.2 Veränderung der Oberflächenmarker

4.2.1 Spiegelung der Immunsuppression

Die komplexe Immunreaktion des menschlichen Körpers besteht aus zwei Hauptkomponenten: Die angeborene oder unspezifische Immunabwehr und die adaptive oder spezifische Abwehr.

Falls Pathogene, die mechanischen bzw. physiologischen Barrieren (Epithelien, pH-Wert etc.) überwinden, setzt zuerst das angeborene/unspezifische Abwehrsystem ein: Makrophagen, Natürliche Killerzellen und neutrophile Granulozyten u.a. können dabei mittels spezieller Rezeptoren zwischen körpereigenen Substanzen ("Selbst") und Fremdkörpern ("Nicht-Selbst", z.B. Zellen ohne MHC = Haupthistokompatibilitätskomplex, Bakterien, Viren etc.) unterscheiden und eine Abwehrreaktion induzieren oder auch selbst beginnen. Dabei kommt es nicht nur zu einer Immunreaktion durch Fremdkörper, auch körpereigene Proteine und Strukturen wie z.B. intrazelluläre Antigene aus verletzten oder nekrotischen Zellen und Geweben können diese auslösen.

Desweiteren besteht die Möglichkeit, dass der Organismus eine spezifische Immunantwort generiert. Mit dieser ist es möglich, auch gegen neue oder veränderte Pathogene vorzugehen. Dabei sind die Zellen der spezifischen Immunabwehr fähig, spezifische Strukturen (Antigene) der Pathogene zu erkennen um dann gezielt zelluläre Abwehrmechanismen und molekulare Antikörper zu bilden. Dazu werden verschiedene Gruppen an Zellen benötigt: Antigenpräsentierende Zellen (APC) wie die Dendritischen Zellen, die T-Lymphozyten, welche für die zellvermittelte Immunantwort verantwortlich sind und die B-Lymphozyten unterstützen, sowie die B-Lymphozyten selbst, die die humorale Immunität bedingen. Das sind Abwehrmaßnahmen, die sich über sezernierte Antikörper gegen Krankheitserreger richten. Nach einer Immunantwort bestehen spezifische Antikörper und Gedächtniszellen fort, um bei erneutem Kontakt mit Pathogenen bereits nach kurzer Zeit eine Abwehrreaktion zu ermöglichen.

Dabei arbeiten die beiden Komponenten, das adaptive Immunsystem und das Angeborene zusammen, keines vermag das andere zu ersetzen. Durch dieses Zusammenspiel in der Immunabwehr wird die komplexe Abwehrreaktion des Organismus möglich.

Dabei ist es notwendig, die Funktionen der einzelnen Zellen kurz zu skizzieren, um ein Verständnis für die Auswirkung einer Veränderung dieser auf den Organismus nachzuvollziehen.

Die Aufgabe von Granulozyten liegt v.a. in der Unterstützung der angeborenen Immunantwort, der Abwehrreaktion von Bakterien, Parasiten und Pilzen. Dabei gibt es neutrophile, basophile und eosinophile Granulozyten, die je nach Färbeverhalten des Protoplasmas eingeteilt werden und unterschiedliche Funktionen haben.

Die sog. Makrophagen zählen zu den Leukozyten (weiße Blutkörperchen), und sind „Fresszellen". Dabei gehören sie zu den ältesten Zellen des angeborenen Immunsystems. Sie dienen der Beseitigung von Pathogenen durch Phagozytose.

Bei den NK-Zellen handelt es sich um Untergruppe von Lymphozyten, sog. „zytotoxische Lymphozyten", die v.a. wichtig für die frühe Immunantwort gegenüber Virus-infizierten Zellen und Tumorzellen ist. Deren Erkennen erfolgt in Abwesenheit von Antikörpern und MHC-I. Damit erfolgt die Immunreaktion ohne weitere Aktivierung durch andere Zellen. Dies ist grundlegend, da T-Zellen z.B. MHC-I zum Erkennen brauchen. Darüber hinaus bestehen Verbindungen zwischen NK-Zellen und dem adaptiven Immunsystem durch Interaktionen mit dendritischen Zellen und T-Zellen. Hierdurch kommt NK-Zellen ebenso eine große Rolle bei der Koordination der adaptiven Immunität und der Regulierung des Immungleichgewichts zu. Neben zytolytischen Funktionen produzieren NK-Zellen Zytokine und Chemokine (wie z.B. TNFα und IFN-ɣ), welche die zelluläre Resistenz gegenüber Infektionen fördern und die adaptive Immunität beeinflussen können.

T-Zellen sind zusammen mit den B-Zellen für die erworbene Immunantwort wichtig. Sie reifen im Thymus heran. Durch ihre Arbeit wird der Organismus vor Pathogenen und überschießenden Immunreaktionen geschützt.
Sie werden in zwei Gruppen unterteilt: die zytotoxischen T-Zellen (cytotoxic T-lymphocytes = CTLs) und die T-Helferzellen. Die Antigenerkennung erfolgt dabei mit Hilfen von T-Zell-Rezeptoren. Diese sind membrangebunden. Dabei besitzt der Großteil (95%) eine α- und eine β-Kette (αβ-T-Zellen), die anderen eine ɣ- und δ-Kette.
Die T-Helferzellen sind dabei zunächst in zwei Hauptgruppen aufgrund ihrer Zytokinproduktion unterschieden worden:

Die TH1-Zellen mit dem Hauptzytokin Interferon-ɣ (IFN-ɣ) wichtig für die Zell-vermittelte Immunantwort und TH2-Zellen mit vornehmlicher Produktion von Interleukin 4 (IL-4) für die humorale Immunantwort. Schließlich wurden die TH17-Zellen entdeckt, eine Linie CD4+ Effektorzellen, die ihrem Namen vom produzierten Interleukin 17 bekamen. TH17-Zellen wird eine wesentliche Rolle bei der Rekrutierung und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten zum Infektionsgeschehen zugeschrieben. Sie gelten als wichtig für die Wirtsantwort gegen extrazelluläre bakterielle und Pilzpathogene. Dabei wird eine Dysregulation einer TH17-Zell-Antwort als wesentlicher Beitrag oder Ursache von Autoimmunerkrankungen angesehen (Barbi, Pardoll et al. 2013).

B-Lymphozyten tragen Immunglobuline oder Antikörper auf der Zellmembran. Nach Aktivierung durch ein Pathogen reifen sie zu sog. Plasmazellen. Diese können große Mengen an Immunglobulinen synthetisieren und in löslicher Form sezernieren.

Natürliche Killer-T-Zellen (NK-T-Zellen) sind eine Untergruppe der T-Zellen. Dabei besitzen die Zellen einen Rezeptor, ähnlich dem T-Zell-Rezeptor, der nur aus bestimmten Gensegmenten besteht. Er bindet nicht an MHC-Moleküle, sondern an das MHC-ähnliche Molekül CD1d. Dieser präsentiert vielmehr Lipide als Peptide. Zudem besitzen eine Vielzahl der NK-T-Zellen einen Lektin-ähnlichen NK1.1 Rezeptor (CD161), aber nicht alle. Die Definition von NK-T-Zellen soll daher nicht mehr auf NK1.1 beschränkt bleiben, sondern v.a. die Restriktion zu CD1d bedingen.

Die Fragestellung dieser Arbeit beschäftigt sich mit Hinweisen auf Immunsuppression unter einer längerdauernden Dronabinoltherapie. Diese sollen durch die Betrachtung von spezifischen Oberflächenrezeptoren bei Patienten mit chronischen Schmerzen mit und ohne Dronabinoleinnahme erbracht werden.
Diese sollen im Folgenden diskutiert werden:

CD1a:

Das APC-Molekül CD1a verhält sich in den zwei Therapiegruppen nicht unterschiedlich. Da CD1a auf bakterielle Antigene eine Reaktion zeigt (Ligandenbindung induziert Produktion von IL-2 durch T-Zellen und aktiviert damit NK-Zellen) kann man einen fehlenden Unterschied in der Zahl CD1a+ Zellen, also eine gleichbleibende Zellzahl mit Rezeptoren für Pathogene als

unveränderte Immunsituation verstehen. Dies würde bedeuten, dass Δ^9-THC hier keine Immunsuppression hervorruft.
Auch die Betrachtung der Therapiegruppen hinsichtlich des Vorkommens des SNPs Q63R lässt keine Veränderung der Zellzahl erkennen. Daraus ist zu schließen, dass das Vorhandensein des Polymorphismus keine Auswirkung auf die Immunsituation hat.

CD4:

Während des Differenzierungsvorgangs von T-Lymphozyten erfolgt die unterschiedliche Expression der zwei Oberflächenantigene CD4 und CD8. Dabei besitzen überwiegend sog. T-Helfer-Zellen das CD4-Antigen und zytotoxische aber auch regulatorische T-Zellen das CD8-Antigen. Unter den CD4+ Zellen unterscheidet man weitere Subtypen: Die TH1-, TH2- und TH17-Zellen. Dabei sind TH1-Zellen für die zelluläre Immunität wichtig, TH2-Zellen für die Humorale (Stimulation zur Antikörperbildung) (Murphy, Janeway et al. 2009; Sack, Tárnok et al. 2009).
Die Zahl CD4-positiver Zellen unterscheidet sich in den beiden Therapiegruppen nicht signifikant. Es ist kein signifikanter Unterschied bezüglich der Verwendung eines FITC- bzw. PE-markierten AK zur Bestimmung der Expressionsrate zu erkennen. Dies kann man als unbeeinflusste Anzahl CD4-tragender Zellen durch die stattgehabte Dronabinolmedikation deuten. Dies zeigten ebenso Sido et al. und Le Capitaine et al. in ihren Forschungen (LeCapitaine, Zhang et al. 2011; Sido, Nagarkatti et al. 2015). Die Anwendung eines selektiven CB2-Cannabinoids (O-1966) hatte eine Reduktion der CD4-Zellzahl und der Expressionsraten der einzelnen Zelle zur Folge, wobei der Anteil aller CD4-positiven Zellen am Teil aller T-Zellen (CD3+) gleich blieb (Robinson, Meissler et al. 2015). Auch unter Betrachtung der Genotypen bezüglich des Q63R SNPs zeigen sich keine signifikanten Unterschiede.
Es bleibt zu erwähnen, dass es Hinweise für eine THC-vermittelte herabgesetzte Aktivität CD4-positiver T-Zellen gibt, welche sich nicht auf die Veränderung der CD4+ Zellzahl auswirkt (Robinson, Meissler et al. 2015). Robinson et al. zeigten dabei, dass diese Suppression durch den CB2-Rezeptor vermittelt wird (Robinson, Meissler et al. 2013).
Da es sich bisher um Daten aus in-vitro-Essays handelt, sollten weitere Bemühungen angestrebt werden, die veränderten Aktivitäten in einem menschlichen in vivo-Versuch zu untersuchen.

CD8:

Während des Differenzierungsvorgangs von T-Lymphozyten erfolgt die unterschiedliche Expression der zwei Oberflächenantigene CD4 und CD8. Dabei besitzen überwiegend sog. T-Helfer-Zellen das CD4-Antigen und zytotoxische aber auch regulatorische T-Zellen das CD8-Antigen. Mithilfe des CD8-Korezeptor, der an MHC-I-Moleküle bindet kann eine virusinfizierte Zelle zerlegte virale DNS präsentieren. Nach dem Erkennen durch eine zytotoxische Zelle erfolgt die Lyse und der Zelltod der befallenen Zelle.

Die CD8+ Zellzahl unterscheidet sich in den beiden Therapiegruppen nicht signifikant. Dabei besteht kein Unterschied bezüglich der Verwendung eines FITC- bzw. PE-markierten AK zur Bestimmung der Expressionsrate. Ein fehlender signifikanter Unterschied zeugt von einer gleichbleibenden Zellzahl unter Dronabinolmedikation. Dies entspricht den bisherigen Erkenntnissen. Sido et al. zeigten in ihren Forschungen zwar eine Erniedrigung der T-Zellzahl nach Applikation von THC bei HvGD (Host versus Graft Disease), als Effekt der zunächst stattgehabten Steigerung bei HvGD, aber einen gleichbleibenden Zellzahlanteil (CD3+/CD4+ und CD3+/CD8+ Zellen) bei Mäusen ohne HvGD unter THC-Applikation im Vergleich zu unbehandelten, naiven Mäusen. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits von Le Capitaine et al. 2011 beschrieben, die eine Langzeit-Applikation (mehr als 12 Monate) bei Rhesus-Affen untersuchten. (keine Erhöhung der Lymphozytenteilmengen, der Proliferation oder T-Zell-Apoptose) (Sido, Nagarkatti et al. 2015). Auch unter Betrachtung der Allelfolge bezüglich des SNPs Q63R zeigen sich keine signifikanten Unterschiede.

In der Literatur sind jedoch mannigfache Quellen einer beschriebenen herabgesetzten T-Zell-Aktivität zu finden. Damit ist insbesondere eine herabgesetzte Zytokinproduktion (IL-2 und IFN-ɣ), eine Verminderung der T-Zell-Migration auf inflammatorische Stimuli sowie Inhibition der T-Zell-Proliferation gemeint (Robinson, Meissler et al. 2015). Es sollten auch hier weitere Untersuchungen erfolgen, um in einem menschlichen in-vivo-Modell eventuelle CD8+ T- Zellaktivitätenveränderungen betrachten zu können.

CD25:

Als CD25 wird die alpha-Kette des IL-2-Rezeptors bezeichnet. Eine vermehrte Expression und Stimulation des Rezeptors führt zu einer Aktivierung von T-Zellen. Es kommt zu einer vermehrten Produktion von Zytokinen und zur Proliferation. CD25 ist auch bei der Antigenpräsentation wichtig. Bei der Antigenpräsentation an CD4+ T-Zellen durch dendritische Zellen werden diese durch den Kontakt mit dem MHC-I/TCR-Komplex und dem

Komplex aus den kostimulatorischen Rezeptoren CD28/B7 aktiviert und produzieren nun IL-2. So wird die eigene Proliferation und Differenzierung angeregt, um auf das Pathogen entsprechend reagieren zu können.

Wie man in den Abbildungen 22 und 23 sieht, unterscheidet sich die Zahl CD25+ Lymphozyten durch eine Δ^9-THC-Medikation nicht signifikant. Dabei besteht kein Unterschied in der Verwendung eines FITC- oder PE-markierten Antikörpers zur Darstellung der Zellzahlen.

Eine Besonderheit kommt dabei den CD4/CD25+ (doppelt-positiven) Zellen zu. Diese stellen eine Subgruppe von regulatorischen T-Zellen dar (Kondelkova, Vokurkova et al. 2010).

Dabei gelten CD4/CD25+ Zellen als sog. anerge Population, welche die proliferative Antwort von Immunzellen auf ein bestimmtes Antigen einschränken können (Lee, Moore et al. 2004).

Eine vermehrte CD25-Expressionsrate würde somit einerseits ein vermehrte T-Zell-Aktivierung und andererseits eine größere Subpopulation CD4/CD25+ Zellen mit einer stärkeren Proliferations-hemmenden Zellzahl bedeuten.

Da sich beide Therapiegruppen nicht in der Expression von CD25 unterscheiden, hat eine Medikation mit Δ^9-THC keinen immunmodulierenden Effekt im Sinne einer Zellzahlveränderung CD25+ Zellen. Auch unter Einbeziehung der Allelfolgen bzgl. des Q63R-Polymorphismus' ergibt sich kein signifikanter Unterschied der CD25+ Zellzahl. Dies korreliert nicht mit den Ergebnissen von Robinson et al. (Robinson, Meissler et al. 2015). Diese fanden heraus, dass ein CB2 selektives Cannabinoid (O-1966) die T-Zellaktivität herabsetzt und die Zahl an T-regulatorischen Zellen und IL-10 erhöht. Dabei wurde nicht Dronabinol, aber ein CB2-selektives Cannabinoid verwendet. Sido et al. zeigten jedoch, dass auch durch die Aktivierung des CB1-Rezeptors mittels Δ^9-THC die Zahl an CD25+ Zellen reduziert wurde (Sido, Nagarkatti et al. 2015). Diese Erkenntnis erfolgte in einem in vivo-Modell an Mäusen, Robinson et al. arbeiteten mit einem in vitro-Modell.

Gerade im Hinblick auf die therapeutische Nutzung einer Verminderung an T-regulatorischen Zellen zur Verminderung z.B. einer Transplantabstoßungsreaktion, aber auch zur Therapie von Autoimmunität sollte eine mögliche Nutzung von Cannabis als Therapeutikum unbedingt weiter untersucht werden. Idealerweise sollte dabei ein Versuchsaufbau in vivo gewählt werden. Ob dabei die Nutzung eines selektiven CB2-Cannabinoids zur Verminderung zentralnervöser Wirkungen möglich ist, wird sich herausstellen. Bisherige Ergebnisse in Bezug auf regulatorische T-Zellen zeigten dabei eine gleichbleibende Zahl an CD4/CD25+ Zellen

nach CBD-Applikation, aber eine Zunahme der CD4+/CD25-/CD69+ Zellzahl, der mit MOG35-55 stimulierten Zellen (Kozela, Juknat et al. 2015).

CD3:

CD3 wird zunächst zytoplasmatisch bei Pro-Thymozyten gefunden, den Stammzellen von T-Zellen im Thymus exprimiert. Es folgt die Differenzierung in Pro-Thymozyten, medulläre Thymozyten, wobei erstmals die Expression auf der Zellmembran erfolgt. Schließlich kann das Oberflächenantigen auf allen reifen T-Zellen gefunden werden, mit Ausnahme weniger Purkinje-Zellen sonst auf keinem anderen Zell-Typ. Es gilt daher als spezifischer T-Zell-Marker, der bereits in frühen Entwicklungsstadien der Zellen zu finden ist.

CD3 wird benötigt, um als T-Zell-Co-Rezeptor sowohl zytotoxische (CD8+) als auch T-Helferzellen zu aktivieren (CD4+). Dabei besteht der Rezeptoren-Komplex aus zwei Disulfid-verbundenen heterodimeren Proteinen des T-Zellrezeptors, die in der Zellmembran verankert sind und normalerweise aus einer alpha- (α) und beta- (β) Kette bestehen. Diese sind verbunden mit unveränderlichen CD3-Ketten und einer ζ-Kette. T-Zellen werden dabei je nach Expression als α:β (oder αβ) T-Zellen oder als γδ T-Zellen bezeichnet, da eine Minderheit einen alternativen Rezeptor exprimiert, welcher aus einer gamma- (γ) und delta- (δ) Kette besteht. An CD3-Molekülen finden sich dabei eine CD3γ-Kette, eine CD3δ-Kette, sowie zwei CD3ε-Ketten.

In unseren Untersuchungen ergab sich kein Hinweis auf einen signifikanten Unterschied in der Existenz an des Oberflächenmarkers CD3+ Zellen. Wenn man den Oberflächenmarker CD3 als spezifischen T-Zellmarker annimmt, bestätigen die unveränderten Zellzahlen der Lymphozytenuntergruppen CD4 und CD8 in unseren Versuchen das Ergebnis. Dabei liegt eine Übereinstimmung in den bisherigen in-vitro- und in-vivo-Forschungen vor (LeCapitaine, Zhang et al. 2011; Sido, Nagarkatti et al. 2015). Auch unter Einbeziehung der Allelfolgen bzgl. des Q63R-Polymorphismus' ergibt sich kein signifikanter Unterschied der CD3+ Zellzahl.

CD56:

CD56 wird auf hämatopoetischen Zellen für NK-Zellen und einer Untergruppe an T-Zellen exprimiert, daneben auch auf einer Untergruppe von CD4+ und CD8+ T-Zellen im peripheren Blut.

Der FITC-markierte Antikörper (mehrfach konjugiert) erkennt zelloberflächennahe NCAMs. So sieht man im Lymphozytenfenster bei der Durchflusszytometrie vor allem NK-Zellen. Diese

tragen sehr kurze NCAMs. Die CD56/CD161 doppelt positiven Zellen stehen dabei für reife NK-Zellen.

Mit dem PE-markierten CD56-Antikörper (einfach konjugiert) gelingt stattdessen in Verbindung mit der Darstellung der CD3-Expressionsrate die NK-T-Zellzahlermittlung.

Bei der Betrachtung des p-Werts von 0,09 für die CD56+ Lymphozyten, gemessen mit einem FITC-markierten Antikörper, zeigte sich in unseren Ergebnissen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Verabreichung von Dronabinol. Bei einem p-Wert unter 0,15 kann man dennoch eine Tendenz zu einem Unterschied hinsichtlich der CD56+ Zellzahl mit und ohne Dronabinoltherapie erkennen. Ein deutlich signifikanter Unterschied zeigt sich bei Betrachtung der bezüglich des SNPs Q63R heterozygoten Individuen, die unter Dronabinol eine erhöhte Zahl an CD56+ Zellen zeigen. In unseren weiteren Untersuchungen fiel dabei auf, dass es sich um die Untergruppe der CD56/CD161+ Zellen handeln muss (s.u.), die diese Erhöhung bedingen, da eine weitere Subgruppe, die CD3/CD56+ (NK-T-) Zellen nicht verändert waren. Zur Aussage der CD16/CD56+ Zellen war aufgrund von geringer Datenmenge keine Aussage möglich.

Bereits 1988 fanden Kawakami et al. eine erniedrigte dosisabhängige NK-Zell-Proliferation unter Δ^9-THC. Daneben wurde eine herabgesetzte lytische Aktivität der NK-Zellen festgestellt, aber keine herabgesetzte Bindungsfähigkeit an die Zielzellen (Kawakami, Klein et al. 1988). Le Capitaine et al. zeigten eine reduzierte Lymphozytenzahl bei einer Langzeit-Behandlung mit Δ^9-THC bei Rhesusaffen bei gleichbleibender Zahl an T- und B-Zellen, was auf eine reduzierte NK-Zellzahl schließen ließ. Dabei erfolgte jedoch keine Messung von spezifischen NK-Zell-Markern (LeCapitaine, Zhang et al. 2011).

<u>CD3/CD56 (NK-T-Zellen):</u>

CD3/CD56 doppelt positive Zellen sind NK-T-Zellen. Dabei gelten sie als Untergruppe einer T-Zell-Gruppe. Dabei vereinen sie Merkmale des angeborenen und des adaptiven Immunsystems. Es gibt Unterarten, wobei allen Zellen gemeinsam ist, dass sie nicht durch klassische MHC-Komplexe aktiviert werden.

In unseren Testungen ergab sich kein Hinweis auf einen signifikanten Unterschied in der Zellzahl der CD3/CD56 doppelt positiven Lymphozyten. Auch unter Berücksichtigung der Werte aufgeteilt in die Genotypen nach dem SNP Q63R lässt sich kein Unterschied erkennen. Dies spricht für einen unveränderten Befund an CD3/CD56+ NK-T-Zellen. Dabei gilt zu bedenken, dass mit der Bestimmung dieser Oberflächenmarker keineswegs eine Aussage über

alle NK-T-Zellen gemacht werden kann, da es keinen absolut spezifischen Oberflächenmarker gibt, sondern vielmehr eine Anzahl an möglichen (Kombinations-)Varianten. Zudem sollte die Rolle von Δ^9-THC oder anderen Cannabinoidagonisten an dem Teil der Immunantwort, die mit NK-T-Zellen in Verbindung steht nicht auf die alleinige Anzahl der NK-T-Zellen reduziert werden. Muppidi et al. zeigten 2011 beispielsweise eine CB2-Rezeptor-abhängige Beeinflussung der humoralen Reaktion auf ein CD1d-beschränktes Antigen, vermutlich via B-Zell-Aktivierung durch iNK-T-Zellen (Barral, Eckl-Dorna et al. 2008; Muppidi, Arnon et al. 2011).

Vermutlich sind v.a. aufgrund der aufwändigen Charakterisierung als NK-T-Zelle bisher insges. wenig Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet gemacht worden, oder nur auf bestimmte Untergruppen bezogen. Bei der nicht unwesentlichen Rolle bei der Immunreaktion sollte gerade diesem Zelltyp mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden.

CD16 (FcγRIII):

CD16 wird auf allen FcR-Typ-III+ Zellen exprimiert.

In dieser Arbeit erfolgte die Betrachtung im Lymphozytenfenster, was v.a. die Zahl der NK-Zellen bzw. NK-T-Zellen widerspiegelt.

Durch Aktivierung des Rezeptors via Bindung an IgG-tragenden Zielzellen kommt es zur ADCC: "Antikörper-abhängigen, Zell-vermittelten Zytotoxizität" (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity). Dabei übernehmen Zytokine wie z.B. IFN-γ die Signalübertragung auf andere Immunzellen, zytolytische Mediatoren leiten den Zelltod ein (Cooper, Fehniger et al. 2001).

CD16/CD56:

Hinsichtlich der Expressionsraten von CD16 und CD56 besteht weiterhin eine Unterteilung in $CD56^{dim}$+ und $CD56^{bright}$+ Zellen. Dabei weist die $CD56^{dim}$+ Untergruppe die größte Masse auf und trägt Ig-ähnliche NK-Rezeptoren sowie FcγRIII (CD16) und bedingt damit den zytotoxischen NK-Zell-Anteil. ($CD56^{dim}$/$CD16^{bright}$+)

Dabei gelten $CD56^{bright}$ in Kombination mit $CD16^{dim/-}$ als unreife Vorstufen und Zytokin-Produktoren mit eher immunmodulatorischer Aufgabe (Amand, Iserentant et al. 2017).

In unserer Arbeit fand sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Zellzahl an CD16/CD56 doppelt positiven Lymphozyten. Um einen statistisch sinnvollen Vergleich der

Zellzahl im Hinblick auf die Allelfolgen bezüglich des SNPS Q63R zu machen, waren nicht genügend Daten vorhanden.

CD161:

CD161 (NKR-P1) wird hauptsächlich von NK-Zellen exprimiert, aber auch von T-Lymphozyten und Gedächtniszellen. So zeigten Maggi et al., dass CD161 als Marker für alle IL-17-produzierenden T-Zellen angesehen werden kann (Maggi, Santarlasci et al. 2010). Hierunter versteht man TH17-Zellen, eine Subgruppe an T-Helferzellen.

In unseren Untersuchungen zeigte sich keine signifikant veränderte Zahl an CD161-exprimierenden Zellen unter Dronabinoltherapie. Dies stimmt nicht mit den Ergebnissen von Karmaus et al. überein, gelang es diesen zu zeigen, dass Δ^9-THC eine CB1- und/oder CB2-vermittelte Suppression von Effektorzellen (CD4+ und NK1.1+ Zellen) hervorbringt (Karmaus, Chen et al. 2013). Wenn man sich die die Zellzahl der CD161+ Zellen jedoch im Hinblick auf das Vorhandensein des SNPs Q63R ansieht, stellt sich bei den heterozygoten Individuen ein signifikanter Unterschied in der Zellzahl mit und ohne Dronabinoltherapie dar. Unter Dronabinolmedikation lässt sich eine höhere Zahl an CD161+ Zellen finden. Somit kann eine vermehrte Zahl der TH17-Zellen bei heterozygoten Individuen postuliert werden. Da diesen ein nicht unwesentlicher Anteil an proinflammatorischen Geschehen, inklusive der Beteiligung bei Autoimmunerkrankungen nachgesagt wird, lässt sich der Rückschluss einer Beteiligung des SNPs rs2501432 an eben diesen Prozessen über eine Beteiligung der TH17-Zellen vermuten.

Sido et al. zeigten ebenso die Bedeutung von TH17-Zellen bei der Beeinflussung von Entzündungs- und Autoimmunitätsgeschehen durch Cannabinoide (Sido, Jackson et al. 2016). Dabei induziert Δ^9-THC nicht nur T-regulatorische Zellen, die für eine Inhibition der Differenzierung von sowohl TH1- als auch TH17-Zellen bekannt sind, es wird auch eine signifikante Reduktion an Zytokinen, wie z.B. IL-6 und IL-17, die für die TH17-Differenzierung wichtig sind, beobachtet.

CD56/CD161:

Bezüglich der NK-Zellen kann man die CD56+ Zellen in zwei Untergruppen unterscheiden, die CD161+/CD56- NK-Zellen (unreif, Vorläufer) und die CD161+/CD56+NK-Zellen (reif). Nach der Auswertung fiel kein signifikanter Unterschied in der CD56/CD161+ Zellzahl auf. Betrachtet man wiederum die Zellzahl unter Einbeziehung des SNPs rs2501432 sieht man

wie bei der isolierten Betrachtung des Markers CD161 eine Erhöhung der Zahl an CD56/CD161+ Zellen. Dies weist auf eine Beeinflussung der NK-Zellen bei Existenz des SNPs rs2501432 hin. Dass zwischen dieser Veränderung der NK-Zellen und der der TH17-Zellen eine Verbindung besteht, wird klar, wenn man sich NK-Zellen als Regulatoren vorstellt, die bei der Ausbildung von autoreaktiven TH17-Zellen und der daraus resultierenden TH17-vermittelten Immunantwort eine wesentliche Rolle spielen. Laut Untersuchungen spielt dabei v.a. die Produktion von IFN-ɣ durch NK-Zellen eine Rolle, vermutlich greift aber auch ein Zell-Zell-Kontakt zwischen NK- und TH17-Zellen regulatorisch ein. Dabei ist nicht geklärt, ob nicht auch andere, Antigen-präsentierende Zellen oder Lymphozyten diese Rolle ausüben können. Insges. bleibt unklar, wie die IFN-ɣ-Produktion durch NK-Zellen von der durch TH1-Zellen unterschieden wird, wird dieser doch eine antagonistische Wirkung auf TH17-Zellen nachgesagt. Vermutlich spielt der frühe Zeitpunkt der Zytokinausschüttung für die Differenzierung eine wichtige Rolle (Wu, Shi et al. 2012).

CD57:

CD57 ist ein Zellmarker, der mit zunehmender Reife auf NK-Zellen erscheint. Dabei besitzen die Zellen eine höhere Zytotoxizität, eine höhere Ansprechempfindlichkeit auf CD16- und natural-cytotoxicity-receptors-Signalkaskaden (NCR), sowie ein herabgesetztes Ansprechen auf Zytokine (Nielsen, White et al. 2013). Dabei besteht auch eine Gruppe an CD57+ T-Zellen. In unseren Untersuchungen fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der CD57-exprimierenden Zellzahl. Bei einem p-Wert von 0,15 ergibt sich aber dennoch ein Hinweis auf einen tendenziellen Unterschied der Zahl an CD57-exprimierenden Zellen. Dies steht im Einklang mit Ergebnissen von Antonucci et al., die eine Erhöhung der CD57+ NK-Zellzahl nach Applikation von Palmitoylethanolamid (PEA) im Rahmen eines Autismus-Forschungsprojekts beschrieben (Antonucci, Cirillo et al. 2015). Dabei bleibt zu erwähnen, dass es sich bei PEA nicht um ein echtes Endocannabinoid, sondern um eine Endocannabinoid-ähnliche Substanz handelt, da es zwar denselben Synthese- und Abbauwegen wie Anandamid unterliegt, an den beiden CB-Rezeptoren aber nur eine sehr geringe Aktivität zeigt (Kreitzer, Stella 2009). Es wird vermutet, dass es durch den sog. „entourage effect" Einfluss auf das Endocannabinoidsystem hat (LoVerme, La Rana et al. 2005). Für die Zukunft bleibt so zu untersuchen, ob auch die Gabe von z.B. CB2-selektiven Liganden eine Auswirkung auf die den Oberflächenmarker CD57-exprimierende Zellzahl haben kann. So könnte auch eine Beeinflussung bestimmter Erkrankungen erfolgen, die damit

im Zusammenhang stehen sollen, wie z.B.: atopische Dermatitis und allergische Rhinitis (Antonucci, Cirillo et al. 2015). Einen Hinweis auf eine Verbindung zum SNP Q63R findet sich in unseren Untersuchungen nicht, wofür die Beeinflussung durch PEA via CB-Rezeptor-unabhängigem Signalweg steht und keinen Zusammenhang mit der Gabe von CB-Rezeptorliganden erwarten lässt.

CD69:

CD69 gilt als erster Vertreter an Oberflächenmarkern nach Zellaktivierung. Bei unseren Betrachtungen im Lymphozytenfenster sind daher v.a. Rückschlüsse auf die Zellzahl der CD69-exprimierenden NK- und ein einer kleinen Gruppen von T- bzw. auch B-Zellen zu ziehen. Dabei ist kein signifikanter Unterschied in der Zellzahl zu erkennen, dass anzunehmen ist, dass Dronabinol keinen Einfluss darauf nimmt. Auch unter Berücksichtigung des Vorhandseins des SNPs Q63R ergibt sich kein signifikanter Hinweis oder eine Tendenz zu einem Unterschied in der Zahl der CD69-exprimierenden Zellen.

In der Literatur finden sich Hinweise auf eine erhöhte CD69-Oberflächenmarkerexpression der einzelnen Zelle nach Applikation von O-1602, einem Ligand am GPR55-Rezeptor (Chiurchiu, Lanuti et al. 2015). Dabei muss bedacht werden, dass der Ligand keine Affinität an den klassischen Cannabinoidrezeptoren CB1 und CB2 hat (Li, Fichna et al. 2013). Eine vermehrte Oberflächenexpression von CD69 steht nicht im Widerspruch mit unserem Ergebnis, das allein die Zahl an CD69+ Lymphozyten zeigt. Zudem gilt das hier verwendete Dronabinol als synthetisches Δ^9-THC, von welchem gezeigt werden konnte keine Aktivierung am GPR55 auszuüben (Anavi-Goffer, Baillie et al. 2012).

Kozela et al. untersuchten den Effekt von CBD auf CD4+/CD25- T-Zellen, die als induzierbare nicht-konventionelle regulatorische T-Zellen gelten. Dabei wurde erkannt, dass die Applikation von CBD bei dieser Isoform nicht nur eine Erhöhung der Zellzahl, aber auch eine vermehrte Expressionsrate von CD69 nach CBD-Administration auf durch MOG35-55 aktivierten Zellen nach sich zieht (Kozela, Juknat et al. 2015). Desweiteren fanden Kozela et al. heraus, dass sich nach CBD-Applikation keine Veränderung der Zahl von T-Zellen (CD4+/CD69+) und auch B-Zellen (CD19+/CD69+) bei ruhenden Zellen zeigte, wohl aber einen Rückgang der Oberflächenmarker auf CD19+/CD69+ B-Lymphozyten bei gleichzeitiger Aktivierung (Kozela, Juknat et al. 2015).

Insgesamt fällt ein Vergleich mit bisherigen Studien schwer, da keine ausreichenden Daten im Sinne von menschlichen in-vivo-Ergebnissen vorliegen, oder es besteht ein unterschiedlicher Applikationsweg (inhalativ, per os). Bei den durch uns durchgeführten Untersuchungen lässt sich ebenso wenig eine Aussage über die tatsächliche Effektkonzentration an Dronabinol sagen, muss man bei den heutigen Erkenntnissen bezüglich Metabolisierung und den vorhandenen unterschiedlichen Medikamentendosierung bei unseren Patienten einen nicht zu vernachlässigenden Effekt vermuten.

4.2.2 Abhängigkeit von der Dronabinoldosis

Die Dosierung des Dronabinolpräparats bei den einzelnen Patienten war unterschiedlich, wie aus der Tabelle 84 in Abschnitt 3.5 zu entnehmen ist.

Aufgrund dieser inter-, aber auch intraindividuellen Dosis war es uns leider nicht möglich, eine sinnvolle statistische Auswertung zu erstellen.

Dabei sollte bedacht werden, dass nach heutigen Erkenntnissen bezüglich der interindividuellen unterschiedlichen Resorptions-, Verteilungs- und Metabolisierungseigenschaften aber allein durch die zugeführte Dosis ohne Messung der tatsächlichen Effektkonzentration schwer eine Aussage gemacht werden kann. Dies ist insofern als kritisch anzusehen, als dass bei einigen Forschungsarbeiten immer wieder gegenteilige Effekte bei der Applikation unterschiedlicher Δ^9-THC-Dosen berichtet worden sind.

Dabei sollte aber festgehalten werden, dass eine Immunmodulation, speziell der NK-Zellen auch auf andere Faktoren zurückzuführen sein könnte. Hier sind insbesondere Virus-assoziierte inflammatorische Reaktionen zu bedenken, aber auch die für jeden Patienten unterschiedlichen Begleiterkrankungen und –medikationen. Diese wurden während der Dronabinoltherapie zu jedem Untersuchungszeitpunkt dokumentiert und sind den obigen Tabellen zu entnehmen.

In der Literatur ergeben sich Hinweise auf einen Einfluss von SSRIs und SNRIs aber auch von Benzodiazepinen (Irwin, Hauger et al. 1993; Evans, Lynch et al. 2008). Insbesondere die SNRIs werden in der Schmerztherapie als atypische Schmerzmedikamente eingesetzt, aber auch die SSRIs mit ihrer antidepressiven Wirkung sind dabei häufig zu finden, leiden viele Patienten nicht nur an chronischen Schmerzen, sondern an einer begleitenden Depression. Der Einsatz von Benzodiazepinen erfolgt oft bei Schlafstörungen und bei Angstzuständen/-erkrankungen, welche ebenso als oft auftretende Komorbiditäten bei Patienten mit chronischen

Schmerzerkrankungen zu finden sind. Die koronare Herzerkrankung hat in unseren Tagen eine hohe Prävalenz, sodass eine Begleitmedikation mit Betablockern, welchen eine Beeinflussung auf die zytotoxischen Killerzellen nachgesagt wird, nicht selten vorkommt (Hak, Mysliwska et al. 2007).

Nicht nur eine Veränderung der Zellzahlen wurde in einigen Forschungsprojekten erkannt, auch eine Veränderung in der Aktivität, wie z.B. die gesteigerte Zytotoxizität durch z.B. Endorphine, Substanz P und Histamine wurde beschrieben. Ebenso eine Verminderung durch Noradrenalin (Lang, Drell et al. 2003), Nikotinabusus, Benzodiazepine, Lithium, Antikonvulsiva und Neuroleptika (Yovel, Sirota et al. 2000). Eine reduzierte Aktivität im Sinne einer verminderten IFN-ɣ-Produktion von NK-Zellen unter Phenytoinbehandlung zeigten Okada et al. (Okada, Sugiura et al. 2001).

Aber auch eine Kortisonbehandlung hat eine Verminderung der NK-Zellzahl zur Folge (Ivanova, Semke et al. 2006; Han, Ahn et al. 2012).

Es ist weiterhin davon auszugehen, dass womöglich noch mannigfache bisher unbekannte Faktoren die Anzahl und Aktivität von NK-Zellen beeinflussen können. Ob, ab welcher Dosis und in welchem Ausmaß Medikamente natürliche Killerzellen beeinflussen bleibt eine offene Frage.

Eine Beeinflussung von TH17-Zellen ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Wie bereits erwähnt, bestehen Verbindungen zu diversen Autoimmunerkrankungen, weshalb das Interesse hier groß ist. Dabei scheint v.a. ein entsprechendes Äquilibrium zwischen TH17-Zellen und regulatorischen T-Zellen eine wichtige Rolle in der Entwicklung oder auch Prävention von Autoimmunpathologien zu spielen. Diese Erkenntnis zeigt weitere Möglichkeiten einer Beeinflussung der TH17-Zellzahl (Barbi, Pardoll et al. 2013).

4.3 Einflussnahme durch SNP rs2501432

4.3.1 Ausprägung der Veränderung der Oberflächenmarker

Wie bereits unter 4.2.1 beschrieben, fällt ein signifikanter Unterschied einer veränderten Zahl der betrachteten Oberflächenmarker-exprimierenden Zellen in der Subgruppe der bezüglich des SNPs rs2501432 heterozygoten Individuen bei den Markern CD161 und CD56/CD161 und CD56 auf. Dies lässt auf eine Beeinflussung der TH17- und NK-Zellen durch den SNP schließen. In der Literatur lassen sich Hinweise auf eine Verbindung von TH17-Zellen zu erhöhter Autoimmunität finden, wobei NK-Zellen als deren Regulatoren gelten. Dabei fällt

auf, dass nur in der Gruppe der Heterozygoten ein signifikanter Unterschied besteht. Wie bereits beschrieben, sind für Cannabinoide mehrfach konträre Wirkmechanismen beschrieben, welche in unserem in-vivo Versuch zu diesem Ergebnis geführt haben könnten. Nicht nur um diese Mechanismen genauer zu untersuchen, sondern auch um den Verzerrungseffekt auf das Ergebnis durch potentielle, nicht erkannte Ausreißer zu minimieren, sollten weitere Untersuchungen mit größeren Stichproben angestrebt werden.

4.3.2 Wirksamkeit einer Dronabinol-vermittelten Schmerztherapie

33% der weiterbehandelten Patienten sind homozygot für den Rezeptorpolymorphismus. Im Vergleich zu der Rate an homozygoten Patienten, die nach einem Medikationsversuch mit Dronabinol nicht weitertherapiert worden sind, da ein Benefit durch die Medikation ausblieb, besteht kein Unterschied (ebenfalls 33%).

Bei genauerer Betrachtung der Schmerzscores im Verlauf der Therapie fällt jedoch auf, dass v.a. die Individuen mit der Allelvariante QR zunächst einen starken Benefit zeigten, der dann jedoch stark abebbte oder die Schmerzscores gar auf das Ausgangsniveau zurückkehren ließ. Die Patienten mit der Allelvariante RR bezüglich des SNPs Q63R zeigten jedoch auffällig häufig (100%) einen starken, anhaltenden Benefit unter der Dronabinolmedikation. Um eine Korrelation zwischen den in der Subgruppe QR erhöhten TH17-Zellen und dem Benefit durch eine Cannabis-vermittelte Schmerztherapie genauer zu beleuchten, wäre es interessant, die TH17-Zellzahl auch im zeitlichen Verlauf in der Statistik zu berücksichtigen. Aufgrund der geringen Stichprobenzahl war es uns nicht möglich, diese Umstände in unserer Statistik zu untersuchen.

Nach Betrachtung unserer Ergebnisse scheint es somit Hinweise auf das Ansprechen auf eine Cannabis-vermittelte Schmerztherapie bei Vorhandensein der Allelvariante RR des SNPs rs2501432 zu geben. Welche Bedeutung der erhöhten TH17-Zellzahl in der Subgruppe der augenscheinlich weniger profitierenden heterozygoten Individuen zukommt, bleibt weiterhin zu erforschen. Es bleibt außerdem zu überlegen, ob hierbei nicht die multiplen, wie oben beschriebenen konträren Wirkmechanismen durch Δ^9-THC in vivo zur Geltung kommen. Zusammenfassend befürworten wir weitere in-vivo-Untersuchungen um diesen interessanten Aspekt genauer zu untersuchen, da es prinzipiell denkbar wäre, die Wahrscheinlichkeit eines Ansprechens auf eine Cannabis-vermittelte Schmerztherapie nicht nur von der aufwändigen Bestimmung auf den SNP rs2501432 abhängig zu machen, sondern eine Prognose in

Abhängigkeit der TH17-Zellzahl machen zu können, welche einfacher durch das Verfahren der Immunphänotypisierung gewonnen werden könnte.

4.3.3 Dosierungsunterschiede für Dronabinol

Wie bereits unter 4.2.1. erwähnt, ließ sich aufgrund der unterschiedlichen Dosierungen an Dronabinol keine sinnvolle statistische Auswertung durchführen. So kann auch kein Rückschluss auf eine Beeinflussung durch das Vorhandensein des SNPs rs2501432 gezogen werden.

4.4 Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich innerhalb der Lymphozyten-Zellpopulation signifikante Unterschiede bei den bezüglich des SNPs rs2501432 heterozygoten Individuen (QR) mit p-Werten < 0,05 für die Oberflächenmarker CD56, CD161, CD56/CD161 (QR) unter Dronabinoltherapie ergaben. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen demnach auf, dass bei Vorliegen der Allelvariante QR des SNPs rs2501432 die Zellzahl von TH17-Lymphozyten und NK-Zellen, die als deren Regulatoren gelten, erhöht ist. Dabei könnten die konträren Wirkmechanismen von Δ^9-THC zu der alleinigen Erhöhung in der heterozygoten Subgruppe bei unveränderter Zellzahl in den anderen Gruppen geführt haben. Zudem fiel ein starker Benefit bei Betrachtung der Scores auf der numerischen Ratingskala durch die Dronabinolmedikation in dieser Subgruppe auf. Dieser war im Verlauf stark oder ganz rückläufig. Die Patienten in der homozygoten Subgruppe (RR) zeigten dagegen einen starken, anhaltenden Benefit unter der Dronabinolmedikation. Um eine Korrelation mit den TH17-Zellen genauer zu betrachten, sollten diese im zeitlichen Verlauf in der Statistik berücksichtigt werden. Wir befürworten daher weitere in-vivo-Untersuchungen um diesen Aspekt genauer zu eruieren. Damit wäre eine bessere Aussage darüber zu machen, ob eine Prognose für das Ansprechen auf eine Cannabismedikation nicht nur von einer aufwändigen Bestimmung des SNPs rs2501432 abhängig zu machen ist, sondern auch mittels Bestimmung der TH17-Zellzahl abzuschätzen sein könnte, da eine Immunphänotypisierung deutlich einfacher veranlasst werden könnte. Wir empfehlen, dazu eine möglichst große Stichprobenzahl zu untersuchen, um signifikante Unterschiede mit höheren Fallzahlen zu festigen.

5 Zusammenfassung

Chronische Schmerzzustände beeinträchtigen die Lebensqualität unzähliger Menschen. Dabei erbringen langwierige Behandlungen oft nur wenig Linderung für die Betroffenen. Ebenso entstehen durch die Therapiekosten und die reduzierte oder aufgehobene Arbeitsfähigkeit der Patienten eine Belastung für die Gesellschaft. Nachdem in der jüngsten Zeit erneut die Diskussion um Cannabis als analgetisch wirksame Substanz zur Therapie von chronischen Schmerzen entbrannt scheint, befasst sich diese Arbeit mit den molekularen Mechanismen einer solchen Therapie um dadurch gegebenenfalls ein Resultat für eine Therapieoptimierung ableiten zu können. Im Hinblick auf die bekannte Verbindung zwischen Schmerzzuständen und Inflammationsgeschehen interessierte uns v.a. die mögliche Involvierung des Cannabinoidrezeptors 2 (CB2-R), da dieser v.a. auf Immunzellen vorhanden ist. In der aktuellen Literatur finden sich vermehrt Hinweise auf eine Verbindung zwischen Mutationen des CB2-R und Autoimmunerkrankungen, also Erkrankungen mit erhöhter inflammatorischer Aktivität. Wir bedienten uns dazu der Immunphänotypisierung: mittels monoklonaler Antikörper gegen Oberflächenrezeptoren/-antigene können Aussagen zu den verschiedenen Zellen des Immunsystems (Zelltyp und Entwicklungsgrad) gemacht werden. Für die vorliegende Arbeit wurden dafür Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Blutproben von 12 verschiedenen Patienten, die nach einem Dronabinolmedikationsversuch einen besonderen Benefit erfuhren und deshalb eine längerdauernde Dronabinoltherapie erhielten, während und vor dieser Zeit mehrfach durch entsprechende Maßnahmen unter Zugabe monoklonaler Antikörper für die Immunphänotypiserung präpariert. Die so mit Antikörpern "angefärbten" Zellen in Suspension (basierend auf einer Antigen-Antikörper-Bindung) konnten mithilfe des optischen FACSCalibur-Messverfahrens einer fluoreszenzaktivierten Zellanalyse unterzogen und immunzellpopulations-spezifisch (via „Gaten" = Setzen von „Regions of Interest") typisiert werden. Für die Auswertung der Daten erfolgte eine Gruppeneinteilung nach Therapie („mit THC", „ohne THC"). Zudem wurden die insges. 38 Patienten, die in der Sektion Schmerztherapie einen Dronabinolmedikationsversuch erhielten auf die Existenz einer Mutation des CB2-Rezeptors getestet, welche bereits mehrfach mit Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht wurde. Dazu nutzten wir das Maxwell-System zur DNA-Isolierung, die DNA-Sequenzierung erfolgte durch die Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Karsak. Daraufhin

führten wir eine erneute Gruppeneinteilung nach Therapie unter Einbezug der Allelvarianten des SNPs rs2501432 und Auswertung der Zelloberflächenmarker-Ergebnisse in Form einer explorativen Datenanalyse durch. Die „gegateten" Werte stellen dabei den prozentualen Anteil der jeweils markerspezifisch (z.B. CD16 (Cluster of Differentiation)) positiven Zellen in dem jeweiligen Zell-Fenster, bezogen auf die Gesamtzellzahl in diesem Fenster dar. Es ergaben sich dabei innerhalb der Lymphozytenpopulation signifikante Unterschiede bei p-Werten < 0,05 für die Oberflächenmarker CD56, CD161, CD56/CD161 bei den heterozygoten Individuen (QR) in Form einer erhöhten Zellzahl unter Dronabinoltherapie. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen demnach auf, dass bei Vorliegen der Allelvariante QR des SNPs rs2501432 die Zellzahl von TH17-Lymphozyten und NK-Zellen, die als deren Regulatoren gelten, erhöht ist. In der Literatur finden sich Hinweise auf eine Verbindung von TH17-Zellen zu erhöhter Autoimmunität durch Inflammation. Es bleibt zu überlegen, ob die konträren Wirkmechanismen in unserem in-vivo Versuch zu der singulären Erhöhung in der heterozygoten Subgruppe bei unveränderter Zellzahl in den anderen Gruppen geführt haben könnten. Bei Betrachtung der klinischen Daten hinsichtlich der Scores auf der numerischen Ratingskala fiel ein starker Benefit durch die Dronabinoltherapie in dieser Subgruppe auf, der im Verlauf stark oder ganz abklang. Die Patienten in der homozygoten Subgruppe (RR) zeigten dagegen einen starken, anhaltenden Benefit unter der Dronabinolmedikation. Um eine Korrelation mit den TH17-Zellen genauer zu betrachten, sollten diese im zeitlichen Verlauf in der Statistik zu berücksichtigen werden, was uns aufgrund der geringen Stichprobenzahl nicht möglich war.

Zusammenfassend befürworten wir weitere in-vivo-Untersuchungen um diesen Aspekt genauer zu beleuchten. Es wäre denkbar, die Wahrscheinlichkeit eines Ansprechens auf eine Cannabismedikation nicht nur von einer aufwändigen Bestimmung des SNPs rs2501432 abhängig zu machen, sondern eine Prognose in Abhängigkeit der TH17-Zellzahl machen zu können, welche einfacher durch das Verfahren der Immunphänotypisierung gewonnen werden könnte. Dazu sollte eine möglichst große Stichprobenzahl untersucht werden. Bei den Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wurde eine explorative Datenanalyse angestrebt, mit der prioritären Zielsetzung, Tendenzen bei der Immunphänotypisierung herauszuarbeiten. Die dabei analysierten Daten können zwar als repräsentativ im Hinblick auf die Verteilung des SNPs Q63R betrachtet werden, da jedoch die Stichprobenzahlen gering waren, kann der Effekt durch potentielle, nicht erkannte Ausreißer das Ergebnis verzerren. Daher sollte zur Herausstellung signifikanter Unterschiede diese durch Untersuchungen mit höheren Fallzahlen gefestigt werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Amand, M., G. Iserentant, A. Poli, M. Sleiman, V. Fievez, I. P. Sanchez, N. Sauvageot, T. Michel, N. Aouali, B. Janji, C. M. Trujillo-Vargas, C. Seguin-Devaux, J. Zimmer (2017). "Human CD56dimCD16dim Cells As an Individualized Natural Killer Cell Subset." Front Immunol **8**: 699.
2. Anavi-Goffer, S., G. Baillie, A. J. Irving, J. Gertsch, I. R. Greig, R. G. Pertwee, R. A. Ross (2012). "Modulation of L-alpha-lysophosphatidylinositol/GPR55 mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling by cannabinoids." J Biol Chem **287**: 91-104.
3. Antonucci, N., A. Cirillo, D. Siniscalco (2015). "Beneficial Effects of Palmitoylethanolamide on Expressive Language, Cognition, and Behaviors in Autism: A Report of Two Cases." Case Rep Psychiatry **2015**: 325061.
4. Barbi, J., D. Pardoll, F. Pan (2013). "Metabolic control of the Treg/Th17 axis." Immunol Rev **252**: 52-77.
5. Barral, P., J. Eckl-Dorna, N. E. Harwood, C. De Santo, M. Salio, P. Illarionov, G. S. Besra, V. Cerundolo, F. D. Batista (2008). "B cell receptor-mediated uptake of CD1d-restricted antigen augments antibody responses by recruiting invariant NKT cell help in vivo." Proc Natl Acad Sci U S A **105**: 8345-8350.
6. Buckley, N. E., K. L. McCoy, E. Mezey, T. Bonner, A. Zimmer, C. C. Felder, M. Glass (2000). "Immunomodulation by cannabinoids is absent in mice deficient for the cannabinoid CB(2) receptor." Eur J Pharmacol **396**: 141-149.
7. Burston, J. J., S. G. Woodhams (2014). "Endocannabinoid system and pain: an introduction." Proc Nutr Soc **73**: 106-117.
8. Cabral, G. A., L. Griffin-Thomas (2009). "Emerging role of the cannabinoid receptor CB2 in immune regulation: therapeutic prospects for neuroinflammation." Expert Rev Mol Med **11**: e3.
9. Carrasquer, A., N. M. Nebane, W. M. Williams, Z. H. Song (2010). "Functional consequences of nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in the CB2 cannabinoid receptor." Pharmacogenet Genomics **20**: 157-166.
10. Castillo, P. E., T. J. Younts, A. E. Chavez, Y. Hashimotodani (2012). "Endocannabinoid signaling and synaptic function." Neuron **76**: 70-81.
11. Chiurchiu, V., M. Lanuti, M. De Bardi, L. Battistini, M. Maccarrone (2015). "The differential characterization of GPR55 receptor in human peripheral blood reveals a distinctive expression in monocytes and NK cells and a proinflammatory role in these innate cells." Int Immunol **27**: 153-160.

12. Cooper, M. A., T. A. Fehniger, M. A. Caligiuri (2001). "The biology of human natural killer-cell subsets." Trends Immunol **22**: 633-640.
13. Di Marzo, V., J. Wang (2015). The endocannabinoidome: the world of endocannabinoids and related mediators. London, Elsevier, 152-167.
14. Evans, D. L., K. G. Lynch, T. Benton, B. Dube, D. R. Gettes, N. B. Tustin, J. P. Lai, D. Metzger, S. D. Douglas (2008). "Selective serotonin reuptake inhibitor and substance P antagonist enhancement of natural killer cell innate immunity in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome." Biol Psychiatry **63**: 899-905.
15. Geschwinde, T. (2013). Rauschdrogen Marktformen und Wirkungsweisen. Berlin u.a., Springer, 2-86.
16. Grotenhermen, F. (2004). Cannabis und Cannabinoide Pharmakologie, Toxikologie und therapeutisches Potenzial. Bern u.a., Huber, Pos. 938-1119, 1260-1497.
17. Grotenhermen, F., K. Müller-Vahl (2012). "The therapeutic potential of cannabis and cannabinoids." Dtsch Arztebl Int **109**: 495-501.
18. Guindon, J., A. G. Hohmann (2008). "Cannabinoid CB2 receptors: a therapeutic target for the treatment of inflammatory and neuropathic pain." Br J Pharmacol **153**: 319-334.
19. Hak, L., J. Mysliwska, J. Wieckiewicz, K. Szyndler, P. Trzonkowski, J. Siebert, A. Mysliwski (2007). "NK cell compartment in patients with coronary heart disease." Immun Ageing **4**: 3.
20. Han, A. R., H. Ahn, P. Vu, J. C. Park, A. Gilman-Sachs, K. Beaman, J. Kwak-Kim (2012). "Obstetrical outcome of anti-inflammatory and anticoagulation therapy in women with recurrent pregnancy loss or unexplained infertility." Am J Reprod Immunol **68**: 418-427.
21. Irwin, M., R. L. Hauger, K. Britton (1993). "Benzodiazepines antagonize central corticotropin releasing hormone-induced suppression of natural killer cell activity." Brain Res **631**: 114-118.
22. Ivanova, S. A., V. Semke, T. P. Vetlugina, N. M. Rakitina, T. A. Kudiakova, G. G. Simutkin (2006). "[Apoptosis of immunocompetent cells in patients with depressive disorders]." Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova **106**: 49-51.
23. Karmaus, P. W., W. Chen, R. Crawford, B. L. Kaplan, N. E. Kaminski (2013). "Delta9-tetrahydrocannabinol impairs the inflammatory response to influenza infection: role of antigen-presenting cells and the cannabinoid receptors 1 and 2." Toxicol Sci **131**: 419-433.
24. Kawai, T., S. Akira (2006). "TLR signaling." Cell Death Differ **13**: 816-825.
25. Kawakami, Y., T. W. Klein, C. Newton, J. Y. Djeu, G. Dennert, S. Specter, H. Friedman (1988). "Suppression by cannabinoids of a cloned cell line with natural killer cell activity." Proc Soc Exp Biol Med **187**: 355-359.
26. Klein, T. W., B. Lane, C. A. Newton, H. Friedman (2000). "The cannabinoid system and cytokine network." Proc Soc Exp Biol Med **225**: 1-8.

27. Klein, T. W., C. Newton, K. Larsen, L. Lu, I. Perkins, L. Nong, H. Friedman (2003). "The cannabinoid system and immune modulation." J Leukoc Biol **74**: 486-496.
28. Kondelkova, K., D. Vokurkova, J. Krejsek, L. Borska, Z. Fiala, A. Ctirad (2010). "Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders." Acta Medica (Hradec Kralove) **53**: 73-77.
29. Kozela, E., A. Juknat, N. Kaushansky, A. Ben-Nun, G. Coppola, Z. Vogel (2015). "Cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid, leads to EGR2-dependent anergy in activated encephalitogenic T cells." J Neuroinflammation **12**: 52.
30. Kreitzer, F. R., N. Stella (2009). "The therapeutic potential of novel cannabinoid receptors." Pharmacol Ther **122**: 83-96.
31. Lang, K., T. L. Drell, B. Niggemann, K. S. Zanker, F. Entschladen (2003). "Neurotransmitters regulate the migration and cytotoxicity in natural killer cells." Immunol Lett **90**: 165-172.
32. LeCapitaine, N. J., P. Zhang, P. Winsauer, E. Walker, C. Vande Stouwe, C. Porretta, P. E. Molina (2011). "Chronic Delta-9-tetrahydrocannabinol administration increases lymphocyte CXCR4 expression in rhesus macaques." J Neuroimmune Pharmacol **6**: 540-545.
33. Lee, M. K. t., D. J. Moore, B. P. Jarrett, M. M. Lian, S. Deng, X. Huang, J. W. Markmann, M. Chiaccio, C. F. Barker, A. J. Caton, J. F. Markmann (2004). "Promotion of allograft survival by CD4+CD25+ regulatory T cells: evidence for in vivo inhibition of effector cell proliferation." J Immunol **172**: 6539-6544.
34. Li, K., J. Fichna, R. Schicho, D. Saur, M. Bashashati, K. Mackie, Y. Li, A. Zimmer, B. Goke, K. A. Sharkey, M. Storr (2013). "A role for O-1602 and G protein-coupled receptor GPR55 in the control of colonic motility in mice." Neuropharmacology **71**: 255-263.
35. LoVerme, J., G. La Rana, R. Russo, A. Calignano, D. Piomelli (2005). "The search for the palmitoylethanolamide receptor." Life Sci **77**: 1685-1698.
36. Maggi, L., V. Santarlasci, M. Capone, A. Peired, F. Frosali, S. Q. Crome, V. Querci, M. Fambrini, F. Liotta, M. K. Levings, E. Maggi, L. Cosmi, S. Romagnani, F. Annunziato (2010). "CD161 is a marker of all human IL-17-producing T-cell subsets and is induced by RORC." Eur J Immunol **40**: 2174-2181.
37. Marchand, F., M. Perretti, S. B. McMahon (2005). "Role of the immune system in chronic pain." Nat Rev Neurosci **6**: 521-532.
38. Muppidi, J. R., T. I. Arnon, Y. Bronevetsky, N. Veerapen, M. Tanaka, G. S. Besra, J. G. Cyster (2011). "Cannabinoid receptor 2 positions and retains marginal zone B cells within the splenic marginal zone." J Exp Med **208**: 1941-1948.
39. Murphy, K. M., C. A. Janeway, M. Walport, P. Travers (2009). Janeway Immunologie. Heidelberg, Neckar, Spektrum, 983-1006.

40. Nielsen, C. M., M. J. White, M. R. Goodier, E. M. Riley (2013). "Functional Significance of CD57 Expression on Human NK Cells and Relevance to Disease." Front Immunol **4**: 422.
41. Okada, K., T. Sugiura, E. Kuroda, S. Tsuji, U. Yamashita (2001). "Phenytoin promotes Th2 type immune response in mice." Clin Exp Immunol **124**: 406-413.
42. Pandey, R., K. Mousawy, M. Nagarkatti, P. Nagarkatti (2009). "Endocannabinoids and immune regulation." Pharmacol Res **60**: 85-92.
43. Pertwee, R. G. (2006). "Cannabinoid pharmacology: the first 66 years." Br J Pharmacol **147 Suppl 1**: S163-171.
44. Pertwee, R. G., A. C. Howlett, M. E. Abood, S. P. Alexander, V. Di Marzo, M. R. Elphick, P. J. Greasley, H. S. Hansen, G. Kunos, K. Mackie, R. Mechoulam, R. A. Ross (2010). "International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB(1) and CB(2)." Pharmacol Rev **62**: 588-631.
45. Robinson, R. H., J. J. Meissler, J. M. Breslow-Deckman, J. Gaughan, M. W. Adler, T. K. Eisenstein (2013). "Cannabinoids inhibit T-cells via cannabinoid receptor 2 in an in vitro assay for graft rejection, the mixed lymphocyte reaction." J Neuroimmune Pharmacol **8**: 1239–1250.
46. Robinson, R. H., J. J. Meissler, X. Fan, D. Yu, M. W. Adler, T. K. Eisenstein (2015). "A CB2-Selective Cannabinoid Suppresses T-Cell Activities and Increases Tregs and IL-10." J Neuroimmune Pharmacol **10**: 318-332.
47. Rodriguez de Fonseca, F., I. Del Arco, F. J. Bermudez-Silva, A. Bilbao, A. Cippitelli, M. Navarro (2005). "The endocannabinoid system: physiology and pharmacology." Alcohol Alcohol **40**: 2-14.
48. Rodriguez, N. E., R. D. Lockard, E. A. Turcotte, T. Araujo-Santos, P. T. Bozza, V. M. Borges, M. E. Wilson (2017). "Lipid bodies accumulation in Leishmania infantum-infected C57BL/6 macrophages." Parasite Immunol **39**: e12443.
49. Rom, S., Y. Persidsky (2013). "Cannabinoid receptor 2: potential role in immunomodulation and neuroinflammation." J Neuroimmune Pharmacol **8**: 608-620.
50. Romero-Sandoval, E. A., R. J. Horvath, J. A. DeLeo (2008). "Neuroimmune interactions and pain: focus on glial-modulating targets." Curr Opin Investig Drugs **9**: 726-734.
51. Sack, U., A. Tárnok, G. Rothe (2009). Cellular diagnostics: basic principles, methods and clinical applications of flow cytometry. Basel ; London, Karger, 190-209.
52. Sido, J. M., A. R. Jackson, P. S. Nagarkatti, M. Nagarkatti (2016). "Marijuana-derived Delta-9-tetrahydrocannabinol suppresses Th1/Th17 cell-mediated delayed-type hypersensitivity through microRNA regulation." J Mol Med (Berl) **94**: 1039-1051.
53. Sido, J. M., P. S. Nagarkatti, M. Nagarkatti (2015). "Delta(9)-Tetrahydrocannabinol attenuates allogeneic host-versus-graft response and

delays skin graft rejection through activation of cannabinoid receptor 1 and induction of myeloid-derived suppressor cells." J Leukoc Biol **98**: 435-447.
54. Sipe, J. C., N. Arbour, A. Gerber, E. Beutler (2005). "Reduced endocannabinoid immune modulation by a common cannabinoid 2 (CB2) receptor gene polymorphism: possible risk for autoimmune disorders." J Leukoc Biol **78**: 231-238.
55. Spits, H., J. Borst, W. Tax, P. J. Capel, C. Terhorst, J. E. de Vries (1985). "Characteristics of a monoclonal antibody (WT-31) that recognizes a common epitope on the human T cell receptor for antigen." J Immunol **135**: 1922-1928.
56. Walker, J. M., A. G. Hohmann (2005). "Cannabinoid mechanisms of pain suppression." Handb Exp Pharmacol **168**: 509-554.
57. Weizmann Institute of Science. "Human Gene Database." http://www.genecards.org (28.08.2017).
58. Wu, W., S. Shi, H. G. Ljunggren, A. L. Cava, L. Van Kaer, F. D. Shi, R. Liu (2012). "NK cells inhibit T-bet-deficient, autoreactive Th17 cells." Scand J Immunol **76**: 559-566.
59. Yang, P., L. Wang, X. Q. Xie (2012). "Latest advances in novel cannabinoid CB(2) ligands for drug abuse and their therapeutic potential." Future Med Chem **4**: 187-204.
60. Yovel, G., P. Sirota, D. Mazeh, G. Shakhar, E. Rosenne, S. Ben-Eliyahu (2000). "Higher natural killer cell activity in schizophrenic patients: the impact of serum factors, medication, and smoking." Brain Behav Immun **14**: 153-169.
61. Zhou, J., I. Burkovskiy, H. Yang, J. Sardinha, C. Lehmann (2016). "CB2 and GPR55 Receptors as Therapeutic Targets for Systemic Immune Dysregulation." Front Pharmacol **7**: 264.

Die Verwendung der Prüfprotokolle inkl. der Schmerztagebücher erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. W. Seeling.

7 Tabellenanhang

MGH 03

Tab. 85: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patientin MGH 03 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1804	04.11.2002	2,86	23,12			44,44	20,98	38,62	59,26	43,00		32,62	16,77	18,14	7,12	10,05
1848	19.11.2002	95,26	27,45			36,12	15,74	31,45	53,47	7,08		40,41	23,79	26,01	8,70	8,76
1939	19.12.2002	8,53		30,62	39,44		18,71	39,22	57,74	5,52		39,94	27,46	31,96	11,55	3,77

KK 05

Tab. 86: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patientin KK 05 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1817	08.11.2002	7,38		57,67	15,02		21,95	32,73	59,86	9,73		41,77	5,50	5,31	5,36	5,96
1841	18.11.2002	12,22		58,04	20,78		19,84	31,83	63,73	52,49		38,57	8,54	9,85	14,04	4,31
1938	19.12.2002	2,56	53,97			19,92	18,04	47,53	69,46	4,57		43,87	11,88	13,49	12,02	3,69
1993	27.01.2003	11,68	0,00			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2042	02.03.2003	14,83	51,24			21,38	33,92	46,39	63,46	9,53		48,08	16,41	18,26	16,03	14,62
2082	31.03.2003	10,44	49,52			22,12	29,32	42,73	64,37	9,94	12,63	49,82	14,72	15,87	15,52	8,89
2134	05.05.2003	6,84	45,71			18,59		45,30	53,70	4,48	0,69	41,36	1,40	0,00		
2180	03.06.2003	69,38	52,29			25,58		48,42	65,46	8,33	9,37	52,41	13,56	15,37		
2260	16.07.2003	9,99	54,10			24,18		51,73	67,58	13,17	10,02	46,44	13,31	13,84		

IG 06

Tab. 87: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patientin IG 06 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1812	07.11.2002	5,82		50,33	21,13		26,58	29,08	73,87	4,41		17,38	7,51	9,39	7,31	5,07
1914	09.12.2002	9,75	49,30			34,16	15,31	46,27	63,79	5,64		27,44	17,85	21,28	29,76	11,98
1959	09.01.2003	0,55	51,43			31,48		47,25				26,44	18,41	20,38	20,01	
2013	12.02.2003	12,37	55,13			27,18	28,10	47,72	69,50	6,00	11,38	23,28	11,79	12,51	12,18	15,85

GD 09

Tab. 88: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patientin GD 09 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1781	21.10.2002	0,00		58,81	58,81		13,40	47,34	70,83	4,52		37,38	13,74	17,65	10,27	14,49
1853	20.11.2002	13,44		58,93	58,93		19,46	44,94	69,43	1,58		34,18	7,77	9,44	7,83	10,89

CP 11

Tab. 89: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patientin CP 11 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1800	31.10.2002	0,84		52,86	20,51		17,36	32,57	71,44	1,89		26,19	9,82	10,99	9,05	8,92
1903	05.12.2002	9,90	47,00			26,04	10,41	36,65	70,37	52,96		28,75	12,43	15,07	10,29	7,54
1987	23.01.2003	12,63	49,00			25,88	13,99	36,38	67,05	1,13		25,59	9,93	12,31	11,24	13,70

HL 14

Tab. 90: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patient HL 14 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1743	07.10.2002	16,26		39,73	38,35		16,92	31,89	67,67	9,52					28,74	13,13
1856	25.11.2002	5,90		48,74	30,65		20,47	40,68	74,26	0,00		22,67	3,81	6,21	15,23	11,49
1868	28.11.2002	6,07		43,06	38,68		26,22	56,35	0,28	12,82		31,46	31,19	57,55	26,82	4,49
1885	02.12.2002	20,56		46,64	34,85		18,47	19,27	77,16	8,13		29,41	12,24	17,13	20,51	0,00
1908	09.12.2002	9,84	40,55			39,16	11,75	26,34	73,69			21,73	6,67	13,12	18,53	7,44
1958	09.01.2003	7,38	41,52			32,75		44,18		8,39		21,77	7,16	12,70	18,51	
1992	27.01.2003	4,50	46,12			31,93	19,00	42,79	89,10	8,39		15,56	3,01	6,55	17,56	6,92
2041	02.03.2003	9,35	38,06			39,18	21,43	32,72	69,44	15,38	1,85	21,72	8,21	14,97	25,72	13,92
2086	31.03.2003	20,41	26,25			18,10	11,55	35,44	68,99	16,67	2,29	23,51	10,61	16,39	20,97	8,79
2149	19.05.2003	2,80	24,01			29,62	24,50	17,36	46,70	7,68	3,44	9,24	2,86	5,71		3,28
2223	30.06.2003	12,21	32,40			53,17	26,54	32,98	72,89	22,45	3,45	35,77	20,89	29,76		10,39
2308	04.08.2003	0,49	16,90			24,00	15,05	14,91	27,68	2,81	1,96	7,90	2,24	9,74		1,48
2430	03.09.2003	28,22	39,78			35,67	23,08	23,18	62,87	10,46	5,16	6,71	1,00	3,59		4,44

DS 15

Tab. 91: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patient DS 15 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1752	08.10.2002	15,69		49,50	19,91		19,07	41,18	69,70	2,77					10,54	7,90
1807	05.11.2002	0,00		52,50	16,79		18,18	38,99	65,68	3,31		24,20	8,32	7,88	8,16	7,85
1816	08.11.2002	16,32	19,26			43,81	14,55	29,92				23,72	10,40	12,48	11,40	7,80
1821	11.11.2002	10,95		52,19	17,04		23,35	41,54	69,18	2,67		26,34	8,44	9,75	8,48	6,63
1838	18.11.2002	5,70		51,18	19,40		20,89	38,11	68,61	4,13		20,13	7,56	9,81	11,89	4,36
1945	23.12.2002	17,18	43,56			23,68	23,00	49,39	59,81	6,73		0,06	0,93	0,09	13,01	23,60
1969	13.01.2003	18,27					10,22	28,08	67,06	0,00		2,22	0,00	0,00		0,00
2030	24.02.2003	3,38	45,56			22,15	22,54	83,59	60,69	5,81	2,26	20,05	8,36	12,58	13,04	9,32
2070	24.03.2003	15,42	19,62			27,40	24,04	20,40	35,29	3,95	1,69	7,55	2,11	8,35	7,97	4,34

IC 17

Tab. 92: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patientin IC 17 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1796	29.10.2002	3,70		64,44	21,93		16,33	35,21	69,73	3,91		25,12	15,19	19,41	11,26	14,11
1822	11.11.2002	10,19		54,81	23,22		18,42	36,46	60,78	3,18		29,62	19,77	23,00	12,49	14,28
1831	14.11.2002	55,29		51,70	23,32		10,92	32,98	61,99	3,58		24,01	15,88	22,09	10,75	14,76
1840	18.11.2002	10,13		60,17	24,73		17,39	34,78	62,50	3,85		20,72	12,08	19,23	13,17	9,38
1861	26.11.2002	1,70		53,54	27,06		12,08	16,47	58,53	2,97		23,08	4,56	9,04	15,11	9,87
1974	10.01.2003	5,92	29,03			40,11	4,49	34,36	40,13	5,38		31,59	20,68	33,00	18,87	22,39
1988	23.01.2003	10,45	46,91			31,95	14,08	39,36	61,91	2,99		29,58	20,99	27,19	14,55	19,31
2036	28.02.2003	16,48	39,57			29,94	17,41	38,54	49,10	8,97	15,36	24,75	17,54	22,57	15,78	25,02
2083	31.03.2003	6,56	63,50			26,07	17,74	44,08	67,86	6,39	8,86	20,91	14,07	18,15	9,46	15,11
2132	05.05.2003	4,38	45,37			31,83		41,40	59,15	3,37	2,74	21,63	7,01	14,81		
2187	04.06.2003	5,12	61,80			26,95		56,28	75,12	6,96	6,35	20,15	10,39	14,29		
2244	08.07.2003	25,91	41,30			22,09		44,45	65,01	6,26	6,10	20,11	12,50	16,79		
2356	19.08.2003	22,00	52,46			21,66		29,81	63,43	3,73	0,67	9,26	5,54	15,36		
2480	02.10.2003	23,23	56,56			15,60		28,97	65,95	8,68	11,58	9,03	6,67	14,59		

SO 20

Tab. 93: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patient SO 20 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1854	20.11.2002	0,00		45,13	26,86		27,40	36,14	60,95	12,31		17,98	7,32	17,89	18,36	11,65
1869	28.11.2002	6,23		0,00	0,00		35,87	58,77	0,41	0,02		21,94	21,60	56,51	60,01	4,30
1886	02.12.2002	36,61		39,83	33,94		22,69	22,67	61,11	13,73		20,38	11,58	25,23	19,41	20,70
1898	05.12.2002	15,90		46,47	27,74		24,93	16,89	62,73	13,31		15,21	6,63	20,68	19,43	9,97
1920	12.12.2002	6,91	42,07			29,92	22,63	48,47	62,07	10,36		18,01	8,44	19,45	18,14	13,41
1970	14.01.2003	5,21	41,05			34,47	26,99	45,12	63,40	11,17		16,64	8,10	24,25	21,83	12,72
1985	22.01.2003	19,34	37,72			19,42	16,30	46,36	60,76	8,97		11,29	4,36	14,29	12,03	14,29
2037	28.02.2003	7,29	33,58			40,38	22,07	39,31	56,72	17,68	8,67	14,24	7,51	25,42	28,50	20,28
2084		40,45	53,74			28,35	21,65	47,18	61,52	14,43	10,01	17,85	7,52	17,03	13,74	10,71
2131	02.05.2003	4,98	46,05			32,02		52,36	69,84	27,85	3,12	12,49	4,56	20,43		
2182		65,56	38,92			40,71		43,03	60,51	19,22	21,70	22,13	11,88	26,71		
2239	08.07.2003	97,60	43,81			30,01		39,04	57,28	12,31	4,86	14,71	6,88	20,71		

MK 23

Tab. 94: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patient MK 23 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
2017	14.02.2003	32,77	38,10			39,74	24,83	39,10	67,40	4,33	0,01	26,11	10,24	13,24	6,74	17,00
2051	05.03.2003	23,80	38,16			37,86	20,03	41,39	67,14	6,85	3,69	24,88	9,10	10,93	11,28	16,71
2052	08.03.2003	22,18	41,94			35,57	15,25	29,48	69,42	3,05	0,00	17,59	6,51	10,79	6,87	16,37
2053	12.03.2003	11,62	40,38			35,69	28,27	42,62	70,84	5,97	0,99	23,54	8,16	10,37	9,38	23,70
2071	21.03.2003	6,94	30,97			16,89		9,01	26,64	0,58	2,05	5,46	2,02	7,38	10,87	3,94
2125	29.04.2003	28,74	40,99			39,16		42,40	68,75	6,72	2,31	29,87	12,37	13,94		
2188	04.06.2003	7,77	41,53			41,73		47,86	73,99	10,73	0,79	25,22	9,01	11,47		
2245	09.07.2003	25,75	40,04			39,08		38,80	73,05	9,89	5,44	22,81	8,96	11,63		
2321	08.08.2003	9,44	41,08			37,67		39,76	70,01	2,86	0,30	16,68	3,07	5,59		
2426	03.09.2003	6,13	40,00			34,80		25,32	67,27	6,65	3,04	13,42	2,03	3,38		
2536	24.10.2003	34,50	43,90			33,98		19,99	71,10	3,68	4,81	11,71	3,44	9,68		
2650	28.11.2003	15,31	37,05			34,78		36,92	68,07	6,27	3,89	20,38	5,90	8,92		
2888	06.02.2004	11,60	37,87			37,74		27,35	70,47	4,64	2,61	11,50	1,96	7,82		

MG 31

Tab. 95: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patient MG 31 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+PE	CD25+FITC	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
2329	12.08.2003	1,48	22,17			22,17		55,57	9,91	2,24	0,00	19,66	4,85	9,15		
2391	19.08.2003	2,53	31,64			31,64		48,65	25,18	9,53	1,07	20,24	9,60	19,12		
2425	03.09.2003	17,68	17,08			17,08		39,91	32,49	18,71	4,46	13,75	3,48	5,64		
2496	10.10.2003	4,90	28,29			28,29		57,79	15,84	7,64	8,07	28,21	10,55	15,02		
2591	07.11.2003	11,42	25,82			25,82		44,99	15,69	4,18	5,60	22,05	6,97	12,37		
2714	19.12.2003	15,44	26,52			26,52		51,02	23,54	12,95	10,33	25,84	9,08	13,49		

KR 38

Tab. 96: Prozente der „gated"-Werte der einzelnen Oberflächenmarker für Patient KR 38 zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten

Key-Patbook-nr.	Abnahmedatum	CD1a+PE	CD4+PE	CD4+FITC	CD8+PE	CD8+FITC	CD25+FITC	CD25+PE	CD3+PE	CD3/CD56	CD16/CD56	CD161+FITC	CD56/CD161	CD56+PE	CD57+PE	CD69+FITC
1651	20.08.2002	17,15	16,01			28,03	2,84	33,22				10,20	5,19	16,45	22,45	11,92
1655	22.08.2002	20,51	24,88			29,72	8,24	41,13	44,84	5,01		17,21	7,04	17,97	21,42	11,41
1662	26.08.2002	26,58	19,66			41,99	20,61	38,44	38,49	5,75		20,45	11,58	29,12	30,92	22,49
1744	08.10.2002	5,25		22,96	21,70		14,64	50,37	34,00	0,32					18,08	11,35
1811	07.11.2002	17,75		17,78	17,93		20,28	34,22	32,23	2,96		9,67	2,62	8,76	13,34	10,47
1960	09.01.2003	6,39	23,74			28,89	22,05	52,40	39,72	3,59		13,17	6,28	18,96	20,94	14,80
2012	12.02.2003	9,98	20,06			29,54	22,78	51,07	35,55	5,13	14,04	13,19	6,81	19,90	23,45	14,75
2056	17.03.2003	6,14	26,16			32,41	6,94	10,21	53,09	6,70	3,01	16,38	10,68	18,37	6,94	23,37

Tab. 97: Statistische Kenngrößen für CD1a+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	30	57
Minimum	0,8400	0,4900
25%-Quantil	5,668	6,135
Median	10,32	10,44
75%-Quantil	18,54	16,11
Maximum	42,73	40,45

Tab. 98: Statistische Kenngrößen für CD4+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	20	48
Minimum	16,01	16,90
25%-Quantil	27,66	27,80
Median	38,13	40,82
75%-Quantil	43,05	48,50
Maximum	56,56	63,50

Tab. 99: Statistische Kenngrößen für CD4+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	11	14
Minimum	39,73	17,78
25%-Quantil	48,74	37,53
Median	52,50	48,91
75%-Quantil	57,67	54,86
Maximum	64,44	60,17

Tab. 100: Statistische Kenngrößen für CD8+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	9	16
Minimum	15,02	17,04
25%-Quantil	18,35	20,67
Median	21,93	25,90
75%-Quantil	28,76	37,72
Maximum	38,35	58,93

Tab. 101: Statistische Kenngrößen für CD8+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	21	47
Minimum	15,60	18,10
25%-Quantil	22,16	25,88
Median	31,93	29,94
75%-Quantil	38,51	35,67
Maximum	44,44	53,17

Tab. 102: Statistische Kenngrößen für CD25+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	26	42
Minimum	2,840	6,940
25%-Quantil	16,32	14,62
Median	19,46	19,87
75%-Quantil	23,52	22,92
Maximum	35,87	33,92

Tab. 103: Statistische Kenngrößen für CD25+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	33	61
Minimum	9,010	10,21
25%-Quantil	32,23	31,32
Median	38,99	39,31
75%-Quantil	43,49	47,22
Maximum	58,77	56,35

Tab. 104: Statistische Kenngrößen für CD3+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	31	59
Minimum	0,4100	15,69
25%-Quantil	59,26	53,70
Median	63,40	63,46
75%-Quantil	67,67	69,46
Maximum	89,10	77,16

Tab. 105: Statistische Kenngrößen für CD3/CD56 doppelt positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	28	57
Minimum	0,0200	0,3200
25%-Quantil	3,213	3,790
Median	6,790	5,970
75%-Quantil	9,383	9,915
Maximum	18,71	22,45

Tab. 106: Statistische Kenngrößen für CD16/CD56 doppelt positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	9	35
Minimum	0,0100	0,3000
25%-Quantil	2,180	1,960
Median	4,460	3,450
75%-Quantil	9,045	8,860
Maximum	11,58	21,70

Tab. 107: Statistische Kenngrößen für CD161+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	31	61
Minimum	0,0600	7,550
25%-Quantil	13,75	16,53
Median	22,67	21,63
75%-Quantil	29,62	26,09
Maximum	46,44	52,41

Tab. 108: Statistische Kenngrößen für CD56/CD161 doppelt positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	29	60
Minimum	0,9300	1,400
25%-Quantil	4,605	6,338
Median	8,320	8,400
75%-Quantil	14,25	11,88
Maximum	23,79	20,89

Tab. 109: Statistische Kenngrößen für CD56+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	29	54
Minimum	3,590	3,380
25%-Quantil	8,265	11,59
Median	13,84	16,13
75%-Quantil	18,02	20,02
Maximum	33,00	31,96

Tab. 110: Statistische Kenngrößen für CD57+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	24	40
Minimum	5,360	6,870
25%-Quantil	8,788	10,87
Median	12,26	14,43
75%-Quantil	18,16	20,39
Maximum	28,74	30,92

Tab. 111: Statistische Kenngrößen für CD69+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie

Therapie	**ohne Dronabinol**	**mit Dronabinol**
Anzahl der Messwerte	23	40
Minimum	3,940	1,480
25%-Quantil	5,960	8,048
Median	11,65	11,12
75%-Quantil	14,29	14,79
Maximum	23,60	25,02

Tab. 112: Statistische Kenngrößen CD1a+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	16	8	6	27	20	11
Minimum	2,860	0,8400	1,480	1,700	0,4900	2,530
25%-Quantil	7,478	4,830	4,045	6,130	6,088	6,910
Median	11,34	6,640	5,720	10,95	9,870	13,44
75%-Quantil	21,99	16,93	18,10	16,32	16,47	36,61
Maximum	32,77	28,22	19,34	34,50	26,58	65,56

Tab. 113: Statistische Kenngrößen für CD4+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	11	4	5	23	11	14
Minimum	23,12	16,01	17,08	19,26	16,90	19,66
25%-Quantil	29,03	21,95	19,63	40,00	26,25	24,60
Median	38,16	40,65	28,29	41,94	40,55	29,08
75%-Quantil	46,91	44,97	39,39	51,24	49,30	42,51
Maximum	56,56	46,12	41,05	63,50	55,13	53,74

Tab. 114: Statistische Kenngrößen für CD4+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	6	4	1	4	4	4
Minimum	49,50	39,73	45,13	51,18	17,78	39,83
25%-Quantil	51,75	41,98	45,13	51,31	19,08	41,49
Median	56,24	49,54	45,13	51,95	33,01	52,64
75%-Quantil	59,64	52,23	45,13	53,20	45,75	58,90
Maximum	64,44	52,86	45,13	53,54	46,64	58,93

Tab. 115: Statistische Kenngrößen für CD8+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	8	4	1	5	4	4
Minimum	15,02	20,51	26,86	17,04	17,93	27,74
25%-Quantil	17,57	20,67	26,86	18,22	18,87	29,29
Median	21,36	25,89	26,86	23,32	28,28	46,38
75%-Quantil	32,90	36,43	26,86	25,90	37,72	58,90
Maximum	44,44	38,35	26,86	27,06	38,68	58,93

Tab. 116: Statistische Kenngrößen für CD8+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	9	3	5	24	17	9
Minimum	15,60	28,03	17,08	18,59	18,10	25,82
25%-Quantil	20,29	28,03	18,25	22,13	26,61	27,44
Median	31,95	31,93	22,17	30,89	29,72	30,01
75%-Quantil	39,45	32,75	31,38	37,18	37,42	36,20
Maximum	40,11	32,75	34,47	43,81	53,17	40,71

Tab. 117: Statistische Kenngrößen für CD25+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	14	6	4	14	21	6
Minimum	4,490	16,92	16,30	10,92	6,940	19,46
25%-Quantil	15,33	17,25	18,97	15,08	12,87	21,10
Median	18,75	19,74	27,20	17,89	20,28	22,35
75%-Quantil	21,22	23,96	33,75	24,58	23,41	23,25
Maximum	24,83	26,58	35,87	33,92	28,10	24,93

Tab. 118: Statistische Kenngrößen CD25+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	17	8	7	28	20	13
Minimum	28,08	23,18	36,14	16,47	10,21	16,89
25%-Quantil	32,28	29,78	39,91	29,84	27,94	39,18
Median	38,62	32,90	46,36	39,01	36,52	44,99
75%-Quantil	41,29	42,26	57,79	44,36	47,60	48,56
Maximum	51,73	44,18	58,77	56,28	56,35	52,36

Tab. 119: Statistische Kenngrößen für CD3+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	18	7	6	18	28	12
Minimum	42,46	66,73	58,20	54,40	26,55	59,00
25%-Quantil	56,59	68,54	60,74	59,15	45,32	59,75
Median	63,89	73,05	64,09	63,25	66,73	67,44
75%-Quantil	67,26	73,75	70,41	68,36	70,23	72,06
Maximum	70,70	74,29	71,19	75,10	75,89	80,59

Tab. 120: Statistische Kenngrößen für CD3/CD56 doppelt positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	15	6	7	28	17	13
Minimum	0,5800	1,890	0,0200	2,670	0,3200	1,580
25%-Quantil	3,180	3,780	2,240	3,693	3,275	7,025
Median	5,380	8,390	8,970	5,080	5,750	12,95
75%-Quantil	7,080	9,755	12,31	6,883	10,48	16,06
Maximum	13,17	10,46	18,71	10,73	22,45	27,85

Tab. 121: Statistische Kenngrößen CD16/CD56 doppelt positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	6	1	2	20	8	8
Minimum	0,010	5,160	4,460	0,000	1,850	1,070
25%-Quantil	1,540	5,160	4,460	0,840	2,043	3,555
Median	3,000	5,160	6,265	2,890	3,225	7,135
75%-Quantil	10,41	5,160	8,070	6,288	9,398	10,25
Maximum	11,58	5,160	8,070	15,36	14,04	21,70

Tab. 122: Statistische Kenngrößen für CD161+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	16	7	7	29	19	13
Minimum	2,220	6,710	11,29	7,550	7,900	12,49
25%-Quantil	24,37	10,20	13,75	18,82	13,19	14,96
Median	29,60	17,38	17,98	21,63	21,73	20,24
75%-Quantil	37,08	22,67	21,94	25,78	27,44	23,99
Maximum	46,44	26,19	28,21	52,41	35,77	37,38

Tab. 123: Statistische Kenngrößen für CD56/CD161 doppelt positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	16	7	6	28	18	11
Minimum	0,9300	1,000	3,480	1,400	2,240	4,560
25%-Quantil	7,083	3,010	4,140	4,805	6,573	6,880
Median	11,31	5,190	6,085	8,400	10,27	7,770
75%-Quantil	19,02	7,510	8,713	12,40	12,29	11,58
Maximum	23,79	9,820	10,55	17,54	20,89	13,74

Tab. 124: Statistische Kenngrößen für CD56+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	16	7	6	28	18	13
Minimum	0,0900	3,590	5,640	0,0	5,710	9,440
25%-Quantil	8,373	6,210	8,273	9,200	12,46	15,26
Median	13,89	9,390	14,66	12,06	16,76	19,45
75%-Quantil	22,10	12,70	19,48	15,75	20,02	22,97
Maximum	33,00	16,45	24,25	22,57	29,76	26,71

Tab. 125: Statistische Kenngrößen für CD57+PE positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	14	7	4	16	17	7
Minimum	5,360	7,310	12,03	6,870	6,940	7,830
25%-Quantil	7,900	9,050	13,61	9,400	12,76	10,27
Median	11,07	17,56	20,10	11,72	20,51	18,14
75%-Quantil	13,27	22,45	50,47	14,63	24,59	19,43
Maximum	18,87	28,74	60,01	16,03	30,92	28,50

Tab. 126: Statistische Kenngrößen für CD69+FITC positive Zellen unter Angabe der Messwertanzahl, des Minimalwertes, des 25% Perzentils, des Median-Wertes, des 75% Perzentils und des Maximalwertes für die einzelnen Gruppen mit und ohne Dronabinoltherapie. Aufteilung der Gruppen nach Genotyp bezüglich des Q63R-Polymorphismus: Allelfolge QQ = Glutamin/Glutamin, Allelfolge QR = Glutamin/Arginin , RR = Arginin/Arginin.

Therapie	Ohne Dronabinol			Mit Dronabinol		
Genotyp	QQ	QR	RR	QQ	QR	RR
Anzahl Messwerte	12	7	4	15	18	7
Minimum	3,940	4,440	4,300	3,690	1,480	9,970
25%-Quantil	6,433	5,070	6,138	6,630	7,515	10,71
Median	14,20	8,920	12,19	9,380	11,38	13,41
75%-Quantil	18,73	11,92	13,90	15,11	14,76	20,28
Maximum	23,60	13,13	14,29	25,02	23,37	20,70

Danksagung

Die Danksagung wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Die Danksagung wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.