

5 Ergebnisse

5.1 Probanden

Von den ursprünglich 25 Versuchspersonen, die sich zur Teilnahme an der Studie bereit erklärt hatten, wurden drei aus verschiedenen Gründen von der Auswertung ausgeschlossen (s. 4.1). Die Ergebnisse, die im Folgenden beschrieben werden, beziehen sich auf die abschließend untersuchte Stichprobe gesunder, männlicher Probanden mit einem Stichprobenumfang von $n=22$.

Der Altersmedian lag bei 24 Jahren mit einem Range von 20-28 Jahren. Bezüglich des Bildungsgrades und des Familienstandes bestand kein wesentlicher Unterschied: Alle Probanden befanden sich zur Zeit der Untersuchung im Hochschulstudium und waren ledig. Der BMI nach Broca (in kg/m^2) betrug im Median 22,4 mit einem Range von 20,4 bis 25,0.

Alter in Jahren	Median Range	24 20 – 28
BMI nach Broca (in kg/m^2)	Median Range	22,4 20,4 – 25,0
Geschlecht	männlich weiblich	22 0
Schulabschluss	Abitur andere	22 0
Beruf	Student Anderes	22 0
Familienstand	ledig verheiratet geschieden	22 0 0

Tabelle 5.1: Charakterisierung des Probandenkollektivs mit einem Stichprobenumfang von $n=22$

5.2 Psychologische Reagibilität

Um Veränderungen des subjektiv empfundenen Zustandsärger (state-anger) über den Versuchsverlauf beobachten zu können, füllten die Probanden unmittelbar folgend auf die Blutentnahmen nach der Ruhephase 1 (prä), nach der Belastungsphase (Stress) und im direkten Anschluss an die Erholungsphase (post) Fragebögen aus dem State-Trait-Ärgerausdrucksinventar (STAXI) aus. Die ermittelten Rohwerte wurden statistisch ausgewertet.

Mittels zweiseitigem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben wurde die Gesamtheit der Stichprobe (n=22) auf signifikante Unterschiede zwischen den Messphasen untersucht. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg ($p < 0,01$) von der Ruhephase 1 zur Belastungsphase mit einem anschließenden Rückgang der Werte auf das Niveau der Basalwerte in der Erholungsphase (Tabelle 5.2)

	prä			Stress				post			
	MW	SD	Med	MW	SD	Med	Sig	MW	SD	Med	Sig
Zustandsärger (STAXI Rohwerte)	10,5	0,7	10	12,3	1,9	12	**	10,8	1,1	10	n.s.

Tabelle 5.2: Änderung des Zustandsärger über den Testverlauf. Das Ausmaß des Zustandsärger wurde mithilfe des STAXI bestimmt. Dargestellt sind Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Median der Rohwerte. Unterschiede der Werte unter mentaler Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) beim Vergleich mit den Ausgangswerten (prä) wurden mittels des zweiseitigen Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben auf statistische Signifikanz geprüft. Signifikante Unterschiede werden durch * angezeigt (* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$).

5.3 Physiologische Reagibilität

Die nicht-invasive Messung der Herzfrequenz sowie des systolischen und diastolischen Blutdrucks erfolgte in der Ruhephase 1 (prä), während des mentalen Belastungstests (Stress) und während der Erholungsphase (post) in 1-Minuten-Intervallen über einen Zeitraum von jeweils fünf Minuten. Die erhobenen Daten wurden über diese Messphasen gemittelt.

Für die Gesamtheit der Stichprobe zeigte sich mittels zweiseitigem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben unter der psychischen Belastungssituation im Vergleich zu den Basalwerten ein hochsignifikanter Anstieg der Herzfrequenz und des Blutdrucks, sowohl systolisch als auch diastolisch ($p < 0,001$).

Nur kurze Zeit nach Beendigung des experimentellen Laborstressors kehrten die sowohl die Herzfrequenz als auch der systolische Blutdruck bereits wieder auf das Ausgangsniveau zurück. Lediglich für den diastolischen Blutdruck zeigten sich am Ende der Erholungsphase noch signifikant erhöhte Werte (Tabelle 5.3).

Um die Veränderungen der untersuchten physiologischen Parameter über den Versuchsverlauf besser anschaulich zu machen, sind in Abbildung 5.1 zusätzlich Boxplots von Herzfrequenz und Blutdruck für die drei Messphasen dargestellt.

	prä			Stress				post			
	MW	SD	Med	MW	SD	Med	Sig	MW	SD	Med	Sig
Herzfrequenz (1/min)	66,3	7,5	65	82,0	12	83,1	***	66,4	8,3	66,1	n.s.
RR systolisch (mmHg)	117,9	9,9	114,2	134,5	14,5	132,3	***	118,7	8,7	117,4	n.s.
RR diastolisch (mmHg)	71,0	6,4	72,1	84,6	7,9	83,9	***	74,3	6,0	74,9	***

Tabelle 5.3: Verhalten von Herzfrequenz, systolischem und diastolischem Blutdruck (RR) über den Versuchsverlauf. Herzfrequenz und Blutdruck der Probanden wurden jeweils über die 5-Minuten-Messintervalle gemittelt. Dargestellt sind Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Median (Med) für die Gesamtheit der Stichprobe von n=22. Unterschiede der Werte unter mentaler Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) beim Vergleich mit den Ausgangswerten (prä) wurden mittels des zweiseitigen Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben auf statistische Signifikanz überprüft. Signifikante Unterschiede (Sig) werden durch * angezeigt (*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001).

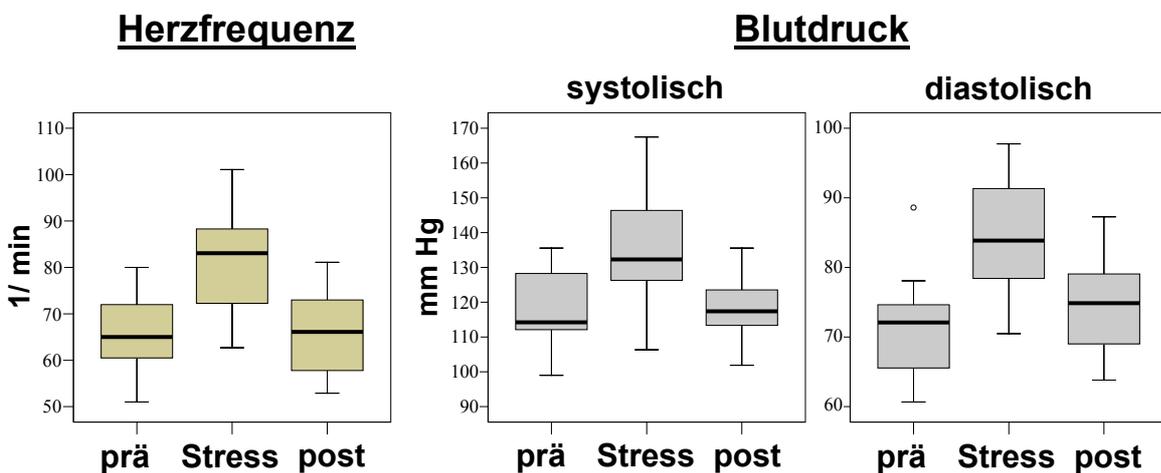


Abbildung 5.1: Boxplots zur Übersicht über die Änderung von Herzfrequenz und Blutdruck während des Versuchsverlaufs. Unter mentaler Belastung (Stress) kommt es zu einem Anstieg der physiologischen Parameter.

5.4 Immunologische Parameter

Zur Ermittlung der Anzahl peripherer Leukozyten, neutrophiler Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten und verschiedener Lymphozytensubpopulationen wurden unmittelbar nach der Ruhephase 1 (prä), der Belastungsphase (Stress) und in direktem Anschluss an die Erholungsphase (post) Blutentnahmen durchgeführt.

5.4.1 Differentialblutbild

Um in einem späteren Arbeitsschritt die absolute Zellzahl der T-Lymphozyten-Subpopulationen analysieren zu können, war zur Ermittlung der absoluten Gesamtlymphozytenzahl zunächst die Anfertigung eines Differentialblutbilds notwendig. Dieses wurde bei allen 22 Versuchspersonen zu den bekannten drei Testzeitpunkten angefertigt. Zur statistischen Analyse der erhobenen Daten wurde der zweiseitige Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben verwendet. Die Ergebnisse der statistischen Tests beziehen sich jeweils auf Unterschiede zwischen den Werten unter akutem Stress (Stress) bzw. nach der Erholungsphase (post) und den Basalwerten (prä).

Beim Vergleich mit den Basalwerten zeigte sich im Differentialblutbild unter der mentalen Belastung ein signifikanter Anstieg der Gesamtlymphozytenzahl ($p < 0,001$). Weiterhin konnte ein signifikanter Anstieg der absoluten Zellzahl der Gesamtleukozyten ($p < 0,001$), der neutrophilen Granulozyten ($p < 0,05$), und der Monozyten ($p < 0,01$) beobachtet werden.

Bereits kurze Zeit nach der Beendigung des Stressors (post) kehrten diese immunologischen Parameter wieder auf das Ausgangsniveau zurück (Tabelle 5.4).

Zellen/ μ l	prä			Stress				post			
	MW	SD	Med	MW	SD	Med	Sig	MW	SD	Med	Sig
Leukozyten	4691	1283	4605	5035	1326	4965	***	4751	1236	4660	n.s.
Neutrophile	2624	939	2588	2751	994	2741	*	2792	1004	2541	n.s.
Lymphozyten	1502	331	1466	1678	347	1735	***	1455	306	1433	n.s.
Monozyten	402	141	406	445	123	466	**	372	19	370	n.s.

Tabelle 5.4: Veränderung der Anzahl peripherer Leukozyten, neutrophiler Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten über den Versuchsverlauf. Unmittelbar nach der Ruhephase 1, der Belastungsphase und in direktem Anschluss an die Erholungsphase wurden Blutentnahmen durchgeführt und ein Differentialblutbild angefertigt. Angegeben sind Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Median (Med) für die Gesamtheit der Stichprobe (n=22). Unterschiede der Werte unter mentaler Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) beim Vergleich mit den Ausgangswerten (prä) wurden mittels des zweiseitigen Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben auf statistische Signifikanz geprüft. Signifikante Unterschiede (Sig) werden durch * angezeigt (*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001).

5.4.2 CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten, NK-T- und NK-Zellen

Peripher-venöses Blut der Versuchspersonen wurde nach der Ruhephase 1 (prä), direkt nach dem mentalen Belastungstest (Stress) und im Anschluss an die Erholungsphase (post) in Heparinröhrchen abgenommen. Zur weiteren Untersuchung wurden die peripheren mononukleären Zellen (PBMC) mittels Dichtegradientenzentrifugation von den übrigen Bestandteilen des Vollbluts getrennt. Anschließend wurden aus diesen PBMC die T-Zellen (CD3⁺CD4⁺ und CD3⁺CD8⁺), NK- (CD3⁻CD56⁺) und NK-T-Zellen (CD3⁺CD4⁺CD56⁺ und CD3⁺CD8⁺CD56⁺) mithilfe der entsprechenden Antikörper gefärbt und danach mittels FACS-Analyse quantitativ erfasst.

Die Ergebnisse der statistischen Analysen beziehen sich jeweils auf Unterschiede zwischen den Werten unter akutem Stress bzw. nach der Erholungsphase beim Vergleich mit den Basalwerten (zweiseitiger Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben).

CD4⁺/CD8⁺ T-Zellen, NK- und NK-T-Zellen unter Stress

Die Anzahl der NK-Zellen ($p < 0,001$) und der CD8⁺ T-Zellen ($p < 0,01$) stieg im peripheren Blut unter der mentalen Belastung signifikant an. Auch bei den beiden NK-T-Zellpopulationen (CD3⁺CD4⁺CD56⁺ und CD3⁺CD8⁺CD56⁺) fanden sich unter akuter psychischer Belastung beim Vergleich mit den Ausgangswerten signifikante Anstiege der Zellzahlen ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$). Lediglich für die CD4⁺ T-Zellen konnte unter den Stressbedingungen keine signifikante Veränderung der Zellzahl im peripheren Blut gefunden werden (Tabelle 5.5)

CD4⁺/CD8⁺ T-Zellen, NK- und NK-T-Zellen nach der Erholungsphase

Nur kurze Zeit nach Beendigung des Stressors kehrte die Anzahl der peripheren NK-Zellen wieder auf das Ausgangsniveau zurück. Gleichsam verhielt es sich mit den CD3⁺ und CD4⁺ NK-T-Zellen, die nach der Erholungsphase keine signifikanten Unterschiede mehr zu den Ausgangswerten zeigten. Für die CD8⁺ T-Zellen konnte eine signifikante Abnahme der Zellzahl unter das Ausgangsniveau beobachtet werden ($p < 0,05$), und auch die CD4⁺ T-Zellen zeigten nun eine signifikante Verminderung ($p < 0,05$) beim Vergleich mit den Basalwerten (Tabelle 5.5).

Zellen/ μ l	Prä			Stress				post			
	MW	SD	Med	MW	SD	Med	Sig	MW	SD	Med	Sig
CD4 ⁺ T-Zellen	689	180	682	682	192	687	n.s.	650	183	677	*
CD8 ⁺ T-Zellen	378	145	369	427	161	406	**	359	121	370	n.s.
NK-Zellen	158	89	142	288	162	273	***	149	78	135	n.s.
CD4 ⁺ NK-T-Zellen	23	13	19	29	21	21	*	21	13	18	n.s.
CD8 ⁺ NK-T-Zellen	32	37	24	41	55	26	**	27	27	19	*

Tabelle 5.5 CD4/CD8-T-Zellen, NK- und NK-T-Zellen über den Versuchsverlauf. Zu den drei Testzeitpunkten (prä, Stress, post) wurde den 22 Probanden peripher-venöses Blut abgenommen. Die peripheren mononukleären Zellen wurden mittels Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation isoliert, anschließend mit monoklonalen Antikörpern gegen CD3, CD4, CD8 und CD56 gefärbt, und die verschiedenen Subpopulationen mittels Vierfarben-FACS-Analyse quantitativ erfasst. Dafür wurde ein morphologisches Lymphozytengate mit jeweils einem Gate für CD4⁺ T-Zellen (CD3⁺CD4⁺), CD8⁺ T-Zellen (CD3⁺CD8⁺), NK-Zellen (CD3⁻CD56⁺) und NK-T-Zellen (CD3⁺CD4⁺CD56⁺ bzw. CD3⁺CD8⁺CD56⁺) kombiniert. Dargestellt sind Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Median der absoluten Zellzahl pro μ l. Unterschiede der Werte unter mentaler Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) beim Vergleich mit den Ausgangswerten (prä) wurden mittels des zweiseitigen Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben auf statistische Signifikanz geprüft. Signifikante Unterschiede (Sig) werden durch * angezeigt (* p<0,05 **p<0,01 ***p<0,01).

5.4.3 Umverteilung peripherer T-Zell-Subpopulationen unter akutem psychischem Stress: Ergebnisse zu Hypothese 1

Um die Verteilung der zirkulierenden T-Zellsubpopulation T_{naive} , T_{CM} , T_{EM} und T_{EMRA} des peripheren Blutes unter Ruhebedingungen und unter akutem psychischem Stress zu beobachten, wurde den Probanden vor (prä), direkt im Anschluss an (Stress) und 20 min. nach Beendigung des experimentellen Stressors (post) venöses Blut in heparinisierte Röhrchen abgenommen. Die zunächst durch Dichtegradientenzentrifugation isolierten PBMC wurden anschließend mithilfe von Antikörpern gegen CD3, CD4, CD8, CD45RA und CCR7 gefärbt und durchflusszytometrisch quantitativ erfasst. Die FACS-Analysen wurden mit einer Kombination aus einem morphologischen Lymphozytengate mit jeweils einem Gate für $CD4^+$ T-Zellen ($CD3^+CD4^+$) und $CD8^+$ T-Zellen ($CD3^+CD8^+$) sowie Gates für alle vier Möglichkeiten der CCR7/ CD45RA-Expression durchgeführt.

Die Zellzahl pro Mikroliter der T-Zell-Subpopulationen unter mentaler Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) wurde mithilfe des zweiseitigen Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben mit den Basalwerten (prä) auf signifikante Unterschiede verglichen.

T-Zell-Subpopulationen unter akutem Stress im Vergleich mit den Basalwerten

Bei der Gesamtheit der Stichprobe (n=22) zeigte sich für die T-Zellen ($CD3^+$) unter akuter psychischer Belastung beim Vergleich mit den Basalwerten eine signifikante Abnahme der $CD4^+CCR7^+CD45RA^+$ ($p<0,001$) und der $CD8^+CCR7^+CD45RA^+$ ($p<0,05$) sowie der $CD4^+CCR7^+CD45RA^-$ ($p<0,01$) T-Zellen im peripheren Blut. Die $CD4^+CCR7^-CD45RA^-$ ($p<0,01$) sowie die $CD4^+CCR7^-CD45RA^+$ und $CD8^+CCR7^-CD45RA^+$ T-Lymphozyten zeigten unter psychischer Belastung hingegen signifikante Anstiege ihrer Zellzahlen beim Vergleich mit den Ausgangswerten ($p<0,001$).

Für die $CD8^+CCR7^+CD45RA^-$ T-Zellen wurde unter psychischer Belastung ein Abfall und für die $CD8^+CCR7^-CD45RA^-$ T-Zellen ein Anstieg der peripheren Zellzahl im peripheren Blut beobachtet, jedoch erreichten die Unterschiede beim Vergleich mit den Ausgangswerten das Signifikanzniveau ($p=0,433$ bzw. $p=0,067$) bei diesen beiden Subpopulationen nicht (Tabelle 5.6).

T-Zell-Subpopulationen nach der Erholungsphase im Vergleich mit den Basalwerten

Die CD4⁺ naiven T-Zellen zeigten beim Vergleich mit den Ausgangswerten nach der Erholungsphase weiterhin signifikant erniedrigte Zellzahlen ($p < 0,01$), während sich für die CD4⁺ T_{EM} weiterhin signifikant erhöhte Zellzahlen fanden ($p < 0,01$).

Für alle anderen T-Zell-Subpopulationen konnten keine signifikanten Unterschiede der Werte nach der Erholungsphase beim Vergleich mit den Basalwerten nachgewiesen werden (Tabelle 5.6).

Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs von $n=22$ wurde bei der statistischen Auswertung nicht von einer Normalverteilung der erhobenen Daten ausgegangen. Ergänzend zur ausführlichen tabellarischen Darstellung der Ergebnisse gibt Abbildung 5.2 einen Überblick über die Veränderung der Mittelwerte der T-Zell-Subpopulationen für die Gesamtheit der Stichprobe während der drei Testzeitpunkte.

Zellen/ μ l		MW	SD	Min	Med	Max	Sig	
CD4⁺	T_{naive}	prä	341	153	110	305	635	-
		Stress	277	133	83	269	578	***
		post	297	130	67	299	511	**
	T_{CM}	prä	184	84	90	162	421	-
		Stress	161	69	68	148	314	**
		post	174	88	85	147	477	n.s.
	T_{EM}	prä	122	72	53	103	359	-
		Stress	135	84	53	110	379	**
		post	135	83	53	106	398	**
	T_{EMRA}	prä	101	65	10	97	227	-
		Stress	138	92	24	126	320	***
		post	99	68	14	82	243	n.s.
CD8⁺	T_{naive}	prä	150	74	38	166	294	-
		Stress	131	66	40	127	295	*
		post	149	76	31	163	332	n.s.
	T_{CM}	prä	19	16	7	17	81	-
		Stress	18	14	6	16	71	p=0,433
		post	20	18	8	14	89	n.s.
	T_{EM}	prä	53	34	16	48	141	-
		Stress	62	42	18	49	173	p=0,067
		post	54	37	17	40	147	n.s.
	T_{EMRA}	prä	131	98	27	96	412	-
		Stress	178	132	36	139	555	***
		post	120	84	30	106	389	n.s.

Tabelle 5.6: Umverteilung von naiven und Gedächtnis-/ Effektor-T-Zellen unter akutem psychischem Stress.

Bestimmung der Zellzahl von CD4⁺ und CD8⁺ T_{naive} (CCR7⁺CD45RA⁺), T_{CM} (CCR7⁺CD45RA⁻), T_{EM} (CCR7⁻CD45RA⁻) und T_{EMRA} (CCR7⁻CD45RA⁺) des peripheren Blutes mittels Vierfach-Durchflusszytometrie bei 22 Probanden. Die FACS-Analysen wurden in Kombination eines morphologischen Lymphozytengates, einem Gate für CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen (CD3⁺CD4⁺ bzw. CD3⁺CD8⁺) sowie Gates für alle vier Möglichkeiten einer CCR7/CD45RA-Expression durchgeführt. Angegeben sind Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD), Minimum (Min), Median (Med) und Maximum (Max) der Zellzahl pro Mikroliter. Signifikante Unterschiede (zweiseitiger Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben) der Werte unter Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) beim Vergleich mit den Basalwerten (prä) werden durch * (Sig) angezeigt (*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001).

**Mittelwerte der Zellzahl der T-Zell-Subpopulationen über den
Versuchsverlauf**

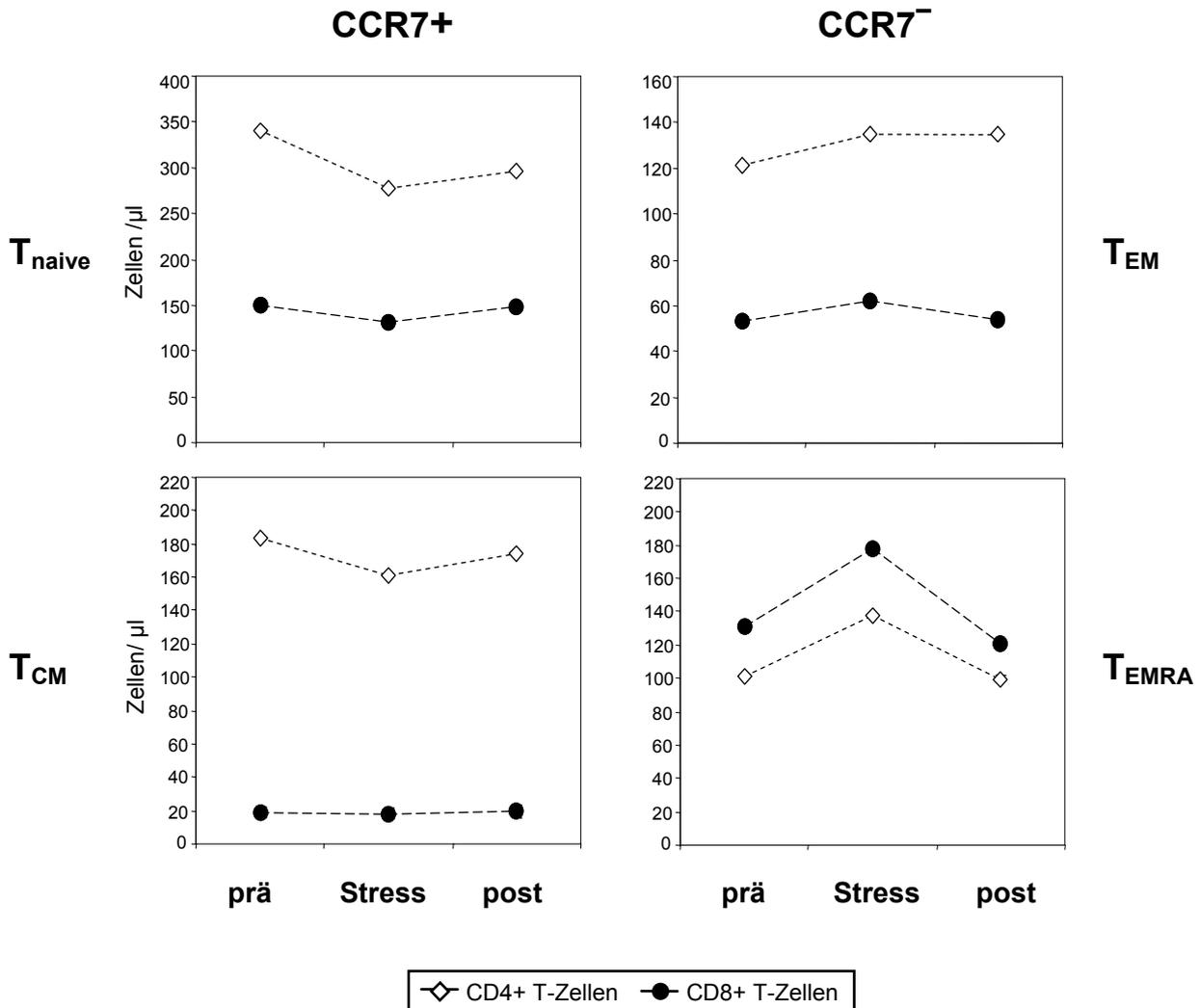


Abbildung 5.2 Veränderung der Mittelwerte von naiven und Gedächtnis-/ Effektor-T-Zellen des peripheren Blutes über den Versuchsverlauf. Die Bestimmung der Anzahl von naiven und Gedächtnis-/ Effektor-T-Zellen des peripheren Blutes unter Ruhebedingungen (prä), unter mentaler Belastung (Stress) sowie nach der Erholungsphase (post) erfolgte mittels Vierfach-Durchflusszytometrie bei 22 Probanden. Die Werte für die Subpopulationen der CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen T_{naive} (CCR7⁺CD45RA⁺), T_{CM} (CCR7⁺CD45RA⁻), T_{EM} (CCR7⁻CD45RA⁻) und T_{EMRA} (CCR7⁻CD45RA⁺) sind im Mittelwert der Zellzahl pro Mikroliter angegeben.

5.4.4 Expression von Granzym B und Perforin in peripheren CD4⁺/CD8⁺ T-Lymphozyten: Ergebnisse zu Hypothese 2

Um die Auswirkungen von akutem psychologischem Stress auf das zytolytische Effektorpotential des peripheren T-Zellpools zu untersuchen, wurde den Probanden vor (prä), direkt im Anschluss an (Stress) und 20 min. nach Beendigung des experimentellen Stressors (post) venöses Blut abgenommen. Die daraus mittels Dichtegradientenzentrifugation und Durchflusszytometrie isolierten CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten (CD3⁺CD4⁺ und CD3⁺CD8⁺) wurden mithilfe von spezifischen Antikörpern gegen Granzym B (GraB) und Perforin (Per) gefärbt und auf ihre Expression dieser intrazellulären Effektormoleküle untersucht. Die FACS-Analysen wurden durch die Kombination eines morphologischen Lymphozytengates mit einem Gate für CD4⁺ T-Zellen (CD3⁺CD4⁺) bzw. CD8⁺ T-Zellen (CD3⁺CD8⁺) sowie jeweils einem Gate für Granzym B und Perforin durchgeführt.

Bei der statistischen Analyse der Daten wurden jeweils die Unterschiede zwischen den Werten unter akutem Stress bzw. nach der Erholungsphase und den Basalwerten untersucht (zweiseitiger Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben).

Expression von Granzym B/ Perforin in CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten unter Stress

Unter der psychischen Belastung zeigte sich für die CD4⁺ T-Lymphozyten beim Vergleich mit den Ausgangswerten signifikante Anstiege der Zellen, die Granzym B ($p < 0,001$) bzw. Perforin ($p < 0,01$) exprimierten. Bei den CD8⁺ T-Zellen konnte sowohl bei den Granzym B als auch bei den Perforin exprimierenden Zellen ein hochsignifikanter Anstieg ($p < 0,001$) der Zellzahlen unter akuter mentaler Belastung im Vergleich zu den Basalwerten beobachtet werden (Tabelle 5.2)

Expression von Granzym B/ Perforin in CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen nach Erholung

Sowohl bei den CD4⁺ als auch bei den CD8⁺ T-Lymphozyten zeigte sich nach der Erholungsphase ein Rückgang der Anzahl Perforin und Granzym B exprimierender T-Lymphozyten auf das Niveau der Ausgangswerte (Tabelle 5.2).

Eine Übersicht über die Versuchsergebnisse geben die Boxplots für die Granzym B und Perforin exprimierenden CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten der 22 Probanden zu den drei Testzeitpunkten in Abbildung 5.3.

Zellen/ μ l		MW	SD	Med	Sig	
CD4⁺	Granzym B⁺	prä	122	104	81	-
		Stress	174	124	127	***
		post	124	101	76	n.s.
	Perforin⁺	prä	53	99	15	-
		Stress	50	92	24	**
		post	36	75	12	n.s.
CD8⁺	Granzym B⁺	prä	175	165	115	-
		Stress	254	231	191	***
		post	171	159	126	n.s.
	Perforin⁺	prä	75	137	32	-
		Stress	107	180	48	***
		post	68	136	37	n.s.

Tabelle 5.7: Veränderung der Anzahl von Granzym B- und Perforin-exprimierender CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten über den Versuchsverlauf. Die Anzahl Granzym B und Perforin exprimierender CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten des peripheren Blutes wurde bei 22 gesunden männlichen Probanden nach der ersten Ruhephase (prä), direkt nach der akuten psychischen Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) ermittelt. Da die Werte ungleichmäßig verteilt waren, wurde der zweiseitige Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben zum Vergleich der Werte unter mentaler Belastung (Stress) und nach Erholung (post) mit den Basalwerten (prä) benutzt. Signifikante Unterschiede (Sig) werden durch * angezeigt (*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001).

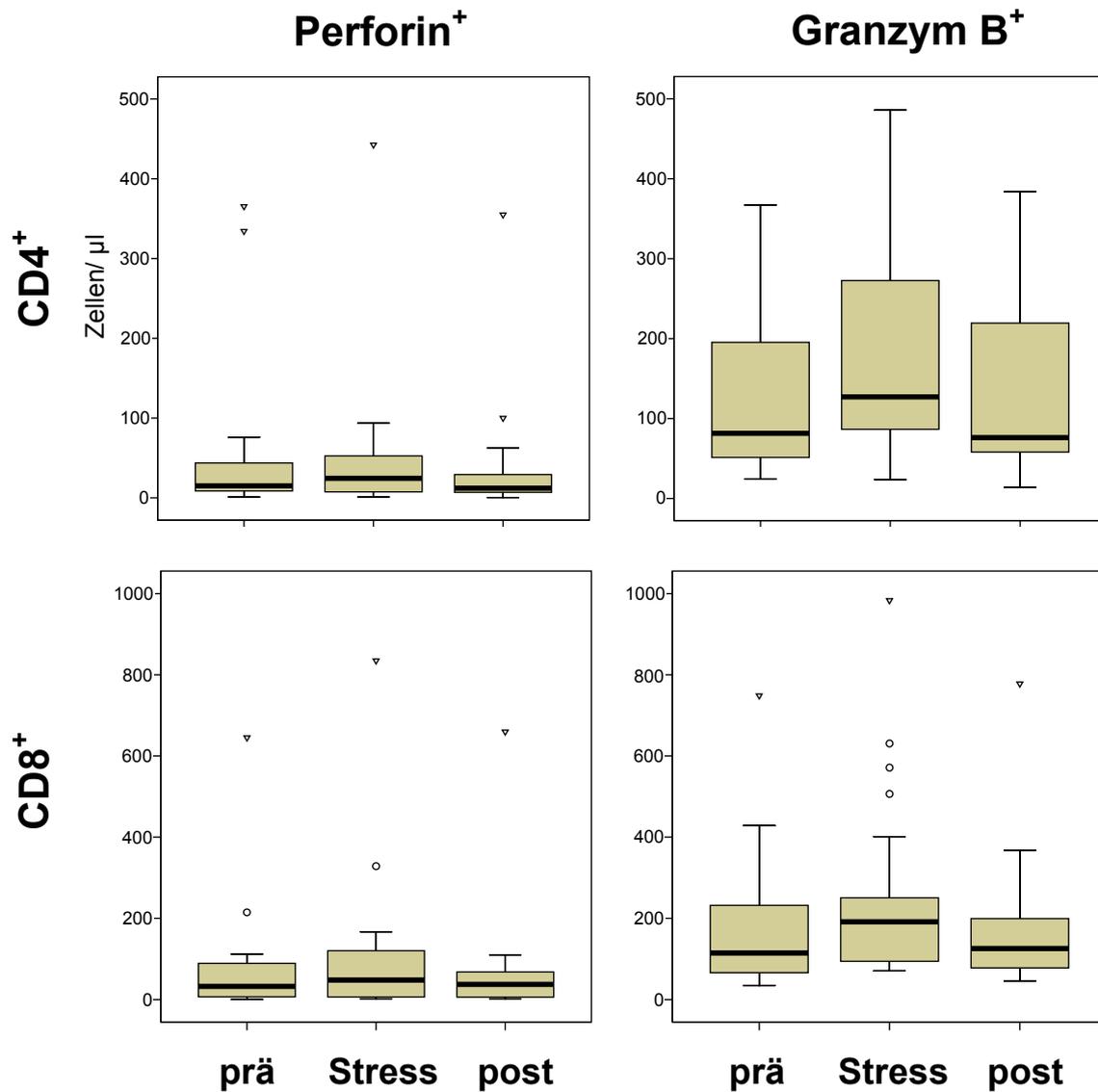


Abbildung 5.3: Zellen mit zytolytischem Effektorpotential: Boxplots der Zellzahlen Granzym B- und Perforin-exprimierender CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten über den Versuchsverlauf. Die Anzahl Effektormolekül exprimierender CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten des peripheren Blutes wurde bei den 22 Probanden nach der ersten Ruhephase (prä), direkt nach der akuten psychischen Belastung (Stress) und nach der Erholungsphase (post) ermittelt. Unter der akuten psychischen Belastung kommt es zu einem Anstieg der CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten, die Granzym B bzw. Perforin exprimieren. Nur kurze Zeit später folgt ein Rückgang der Werte auf das Ausgangsniveau.

5.4.5 Expression der intrazellulären Effektormoleküle Granzym B und Perforin in CCR7-negativen T-Lymphozyten

Im nächsten Schritt wurde zusätzlich überprüft, ob die beobachteten Anstiege der CD4⁺ und CD8⁺ Effektorzellen (Granzym⁺/ Per⁺) und der CCR7-negativen CD4⁺/ CD8⁺ T-Lymphozyten unter akutem psychologischem Stress miteinander assoziiert waren. Zu diesem Zweck erfolgte eine Ko-Färbung von CCR7 mit Granzym B und Perforin bei CD3⁺CD4⁺ und CD3⁺CD8⁺ T-Lymphozyten.

Es stellte sich hierbei heraus, dass die Expression der intrazellulären Effektormoleküle Granzym B und Perforin hauptsächlich auf CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten mit schwacher CCR7-Expression beschränkt war (Abbildung 5.4).

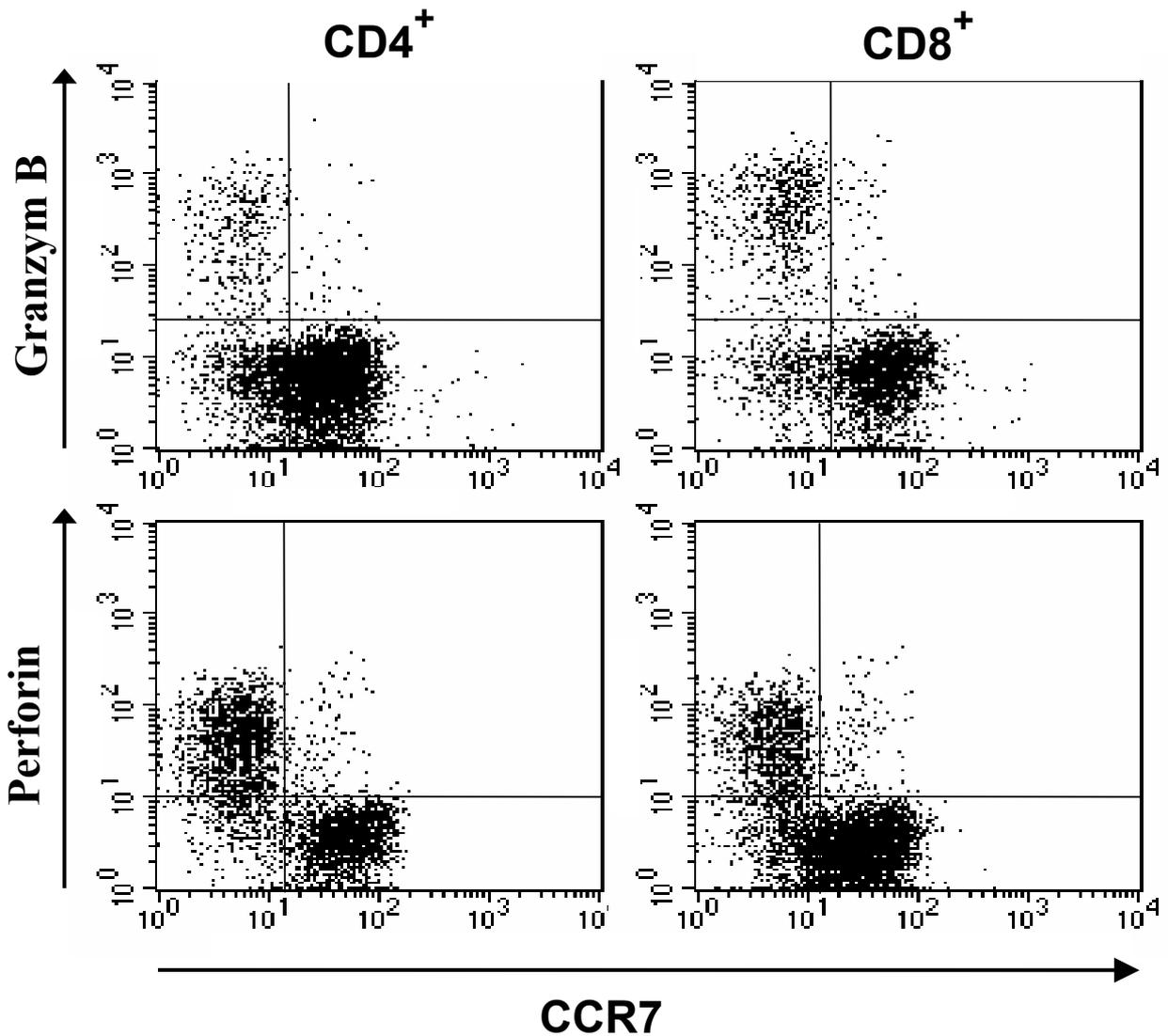


Abbildung 5.4: Expression der intrazellulären Effektormoleküle Granzym B und Perforin in CCR7-negativen T-Lymphozyten. Um zu untersuchen, ob der beobachtete Anstieg der Effektorzellen ($CD3^+CD4^+Granzym B^+/Per^+$ und $CD3^+CD8^+Granzym B^+/Per^+$) durch den stressinduzierten Anstieg der CCR7-negativen $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Lymphozyten verursacht wird, wurde eine Co-Färbung von CCR7 und Granzym B bzw. Perforin bei $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Zellen durchgeführt. Die gezeigten dot plots sind für drei unterschiedliche Experimente repräsentativ.

