

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Blut
im Kontext der perioperativen Immunantwort
bei offenen abdominalchirurgischen Eingriffen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Theresa Schubert

aus Berlin

Datum der Promotion: 05.06.2016

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
Abstrakt	VII
Abstract	IX
1 Einleitung.....	1
1.1 Perioperative Immunantwort.....	1
1.1.1 Systemische perioperative Immunantwort – Zytokine.....	2
1.1.2 Systemische perioperative Immunreaktion – Zelluläre Immunantwort	4
1.2 Suppressor of Cytokine Signaling.....	6
1.2.1 JAK/STAT – Signalweg.....	6
1.2.2 Supressor of Cytokine Signaling Proteine	6
1.2.3 SOCS1.....	8
1.2.4 SOCS3.....	9
1.3 SOCS1 und SOCS3 im Kontext der perioperativen Immunantwort.....	10
1.4 Zielsetzung.....	11
2 Methoden	12
2.1 Studiendesign.....	12
2.2 Studienpopulation.....	12
2.3 Computer-basierte Patientenbefragung	15
2.4 Blutentnahmeprotokoll.....	15
2.5 Geräte und Materialien	16
2.6 Zytokinbestimmung mittels IMMULITE™-Assay	18
2.7 Monozytäre Zytokinsekretion nach Stimulation mit LPS	18
2.8 Zytokinsekretion nach Vollblutstimulation mit Concanavalin A.....	19
2.9 Bestimmung der mRNA-Expression von SOCS1 und SOCS3.....	19
2.9.1 RNA-Extraktion	19
2.9.2 cDNA-Synthese	20
2.9.3 Real-time PCR	21
2.10 Dokumentation klinischer Parameter	22
2.11 Definition des Ereignisses postoperative Infektion.....	22
2.12 Statistische Auswertung	22
3 Ergebnisse.....	24
3.1 Studienpopulation – Basischarakteristika	24

3.2	SOCS1 und SOCS3 mRNA-Expression präoperativ.....	25
3.3	SOCS1 mRNA-Expression postoperativ.....	26
3.4	SOCS3 mRNA-Expression postoperativ.....	27
3.5	SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Kontext der perioperativen systemischen Immunantwort.....	28
3.5.1	Zytokin-Antwort.....	28
3.5.2	Zelluläre Immunantwort.....	31
3.6	Beeinflussung der SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression durch soziodemografische Faktoren & Komorbiditäten.....	39
3.6.1	Geschlecht.....	39
3.6.2	Body Mass Index.....	41
3.6.3	Malignom.....	42
3.6.4	Weitere soziodemografische Faktoren und Komorbiditäten.....	44
3.7	Beeinflussung der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression durch perioperative Faktoren und Parameter des klinischen Verlaufs.....	46
3.7.1	Operationsdauer.....	48
3.7.2	Postoperative Infektionen.....	50
3.8	Einfluss der Operationsdauer, des Vorhandenseins einer malignen Erkrankung sowie der Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentration auf die SOCS1 mRNA Expression im Blut.....	51
3.9	Einfluss der Operationsdauer, des Body Mass Index sowie der Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentration auf die SOCS3 mRNA Expression im Blut.....	53
4	Diskussion.....	54
4.1	Perioperative mRNA Expression von SOCS1 und SOCS3.....	54
4.2	SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Kontext der Zytokin-Antwort.....	58
4.3	SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Kontext der zellulären Immunantwort....	62
4.4	Einflussgrößen auf die SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression im Blut.....	65
4.4.1	Geschlecht.....	65
4.4.2	Maligne Erkrankung.....	66
4.4.3	Body Mass Index.....	67
4.4.4	Operationsdauer.....	68
4.5	Limitationen der Arbeit.....	71
5	Zusammenfassung.....	72
	Literaturverzeichnis.....	74
	Eidesstattliche Versicherung.....	82

Danksagung	83
Lebenslauf	84
Publikationsliste (Stand 11/2015)	85

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Perioperative Immunantwort – Veränderungen im Blut	2
Abbildung 2: Grundstruktur der SOCS-Proteine.....	7
Abbildung 3: Wirkungsweise der SOCS-Proteine am Beispiel vom SOCS1	8
Abbildung 4: Übersicht Patienteneinschluss	14
Abbildung 5: Relative präoperative SOCS1 & SOCS3 mRNA Expression.....	26
Abbildung 6: Relative postoperative SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression.....	27
Abbildung 7: Konzentrationen von Interleukin-6, Interleukin-10 und Tumornekrosefaktor α im Plasma präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag in pg/ml.	30
Abbildung 8: Neutrophilenzahl im Blut (Zellen/ nl) präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	31
Abbildung 9: Monozytenzahl im Blut, Konzentration von Tumornekrosefaktor α bzw. Interleukin-10 nach Vollblutstimulation mit Lipopolysacharid (in pg/ml) präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag	34
Abbildung 10: Konzentration von Interferon- γ , Tumornekrosefaktor α , Interleukin-4 bzw. Interleukin-10 nach Vollblutstimulation mit Concanavalin A (in pg/ml) präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag	38
Abbildung 11: Interferon- γ /Interleukin-10 Ratio präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	39
Abbildung 12: SOCS1 mRNA Expression in Abhängigkeit vom Geschlecht am 1. postoperativen Tag. Mann-Whitney U Test	40
Abbildung 13: SOCS3 mRNA Expression i.B. in Abhängigkeit vom BMI	42
Abbildung 14: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Operationsdauer mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Systemische Immunantwort – Zytokine	3
Tabelle 2:	ASA-Klassifikation	13
Tabelle 3:	Verwendete Geräte und Materialien.....	16
Tabelle 4:	Demografische Daten und Komorbiditäten.....	24
Tabelle 5:	Peri- und postoperative Charakteristika	25
Tabelle 6:	Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Plasmakonzentration von Interleukin-6, Interleukin-10 bzw. Tumornekrosefaktor α mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	30
Tabelle 7:	Spearman-Korrelation (Rangkorrelations-koeffizient Rho) der Neutrophilenzahl im Blut mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag.....	31
Tabelle 8:	Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Monozytenzahl im Blut, Tumornekrosefaktor α bzw. Interleukin-10- Konzentration nach Vollblutstimulation mit Lipopolysacharid mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag	34
Tabelle 9:	Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Interferon γ -, Interleukin-4, Interleukin-10 bzw. Tumornekrosefaktor α -Konzentration nach Vollblutstimulation mit Concanavalin A mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag	38
Tabelle 10:	Spearman-Korrelation (Rangkorre-lationskoeffizient Rho) der Interleukin-10 Ratio mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	39
Tabelle 11:	Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) des BMI in kg/m ² mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	41
Tabelle 12:	Interleukin-6, Interleukin-10 und Tumornekrosefaktor α Konzentration im Plasma in Abhängigkeit vom Bestehen einer malignen Erkrankung.	44

Tabelle 13:	SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression in Abhängigkeit von soziodemographischen Variablen sowie Vorerkrankungen.....	45
Tabelle 14:	SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression in Abhängigkeit von operativen und postoperativen Faktoren	47
Tabelle 15:	Interleukin-6 bzw. Interleukin-10-Plasmakonzentration (pg/ml) in Abhängigkeit von der Operationsdauer (Einteilung in 5 Untergruppen)	48
Tabelle 16:	Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Operationszeit in Minuten mit den Plasmaspiegeln von Interleukin-6, Interleukin-10 bzw. TNF α direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.....	49
Tabelle 17:	Multiple lineare Regression für den Einfluss der Parameter Interleukin-10-Plasmakonzentration, Interleukin-6-Plasmakonzentration, Vorhandensein einer malignen Erkrankung und Operationsdauer auf die relative mRNA Expression von SOCS1 im Blut direkt postoperativ	52
Tabelle 18:	Multiple lineare Regression für den Einfluss der Parameter Interleukin-10-Plasmakonzentration, Interleukin-6-Plasmakonzentration, Vorhandensein einer malignen Erkrankung, Operationsdauer, und Geschlecht auf die relative mRNA Expression von SOCS1 im Blut am 1. postoperativen Tag	52
Tabelle 19:	Multiple lineare Regression für den Einfluss der Parameter Interleukin-10-Plasmakonzentration i.B., Interleukin-6-Plasmakonzentration, BMI und Operationsdauer auf die relative mRNA Expression von SOCS3 im Blut direkt postoperativ	53

Abstrakt

Einleitung: Jede Operation führt zu einer Reaktion des Immunsystems mit einem komplexen Zusammenspiel zellulärer und humoraler Faktoren. Die Regulation dieser Faktoren ist von immenser Bedeutung. Eine überschießende oder unzureichende Immunantwort kann fatale Folgen haben.

SOCS-Proteine sind wichtige Regulatoren des Zytokin-Signalings und spielen eine entscheidende Rolle in der Modulation der Immunantwort.

Ziel der vorliegenden Arbeit war zu klären, inwieweit *SOCS1* und *SOCS3* perioperativ in Zellen des Blut induziert werden, und ob die etwaige Änderung der Expression mit der Monozyten- und T-Helferzellfunktion assoziiert ist.

Methoden: Es wurden 66 ASA P3 und P4 klassifizierte Patienten in diese prospektive Observationsstudie eingeschlossen. Alle Patienten unterzogen sich elektiv einer Laparotomie. Präoperativ, unmittelbar postoperativ sowie am ersten postoperativen Tag wurden folgende Parameter bestimmt: relative mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* im Blut, Plasmakonzentrationen von IL-6, IL-10 und TNF α , TNF α und IL-10 *ex vivo* nach Stimulation mit LPS (Monozytenfunktion) sowie TNF α , IFN γ , IL-4 und IL-10 *ex vivo* nach Stimulation mit ConA (T-Helferzell-Funktion).

Ergebnisse: Die mediane *SOCS1* mRNA-Expression stieg unmittelbar postoperativ signifikant um das 1.7-fache und fiel am Folgetag signifikant auf das 0.7-fache des Ausgangsniveaus ab (p jeweils <0.01). Die mediane *SOCS3* mRNA-Expression stieg direkt postoperativ signifikant auf das 19-fache ($p<0.01$) und fiel am Folgetag auf das 5-fache des Ausgangsniveaus ab, war im Vergleich zu diesem jedoch weiterhin signifikant erhöht ($p<0.01$). Direkt postoperativ korrelierte die Gesamtlymphozytenzahl mit der *SOCS1* mRNA-Expression (Spearman Rho: 0.282, $p=0.03$). Die *SOCS3* mRNA Expression korrelierte direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag positiv mit der Neutrophilenzahl (Spearman Rho direkt postoperativ: 0.306, $p=0.020$, am 1. postoperativen Tag: 0.252, $p=0.048$). Unmittelbar postoperativ korrelierte die IL-10-Plasmakonzentration positiv mit der *SOCS1* mRNA-Expression (Spearman Rho: 0.455, $p<0.01$). Der Einfluss von IL-10 unmittelbar postoperativ bestätigte sich in der linearen Regression für *SOCS1* ($p<0.01$) und *SOCS3* ($p=0.019$). Unmittelbar postoperativ korrelierte die *SOCS1* mRNA-Expression negativ mit der TNF α Sekretion *ex vivo* nach Stimulation mit LPS (Spearman

Rho: -0.379, $p < 0.01$) und ConA (Spearman Rho: -0.288, $p = 0.04$). Am ersten postoperativen Tag korrelierte die IL-10-Sekretion *ex vivo* nach LPS-Stimulation negativ mit der SOCS3 mRNA-Expression (Spearman Rho: -0.287, $p = 0.027$). Negative Einflussgröße auf die SOCS3 Expression unmittelbar postoperativ war der Body Mass Index (lineare Regression: $p = 0.038$; Spearman-Rho: -0.278, $p = 0.033$).

Fazit: Mit dieser Arbeit konnte erstmalig die Bedeutung von SOCS1 und SOCS3 für die perioperative Immunantwort gezeigt werden. Beide werden im Rahmen des operativen Traumas scheinbar zellspezifisch induziert und scheinen an der Regulation der Monozyten- und T-Helferzell-Funktion beteiligt zu sein.

Abstract

Introduction: Each surgery causes a response of the immune system characterized by a complex interaction of cellular and humoral factors. The regulation of these factors is highly significant. An excessive or insufficient immune response can be fatal.

SOCS proteins are important regulators of the cytokine signalling.

The aim of the present study was to clarify if *SOCS1* and *SOCS3* are induced in cells of the blood during the perioperative period and whether these changes in expression correspond to the monocyte and T helper cell functions.

Methods: The prospective observational study included 66 ASA P3 and P4 classified patients. All patients underwent laparotomy. Parameters collected and determined pre-operatively, immediately postoperative and at the 1st postoperative day: relative mRNA expression of *SOCS1* and *SOCS3* in the blood, plasma concentrations of IL-6, IL-10 and TNF α , TNF α and IL-10 *ex vivo* after stimulation with LPS (monocyte function) and TNF α , IFN γ , IL-4 and IL-10 *ex vivo* after stimulation with ConA (T helper cell function).

Results: Immediately postoperative, median *SOCS1* mRNA expression significantly increased to 1.7 times and significantly decreased at the 1st postoperative day to 0.7 times of the baseline level ($p < 0.01$ respectively). Median *SOCS3* mRNA expression significantly increased immediately postoperative to 19 times ($p < 0.01$) and decreased the following day to 5 times of the baseline level, still significantly elevated as compared to baseline ($p < 0.01$). Immediately postoperative *SOCS1* mRNA expression was significantly correlated with the lymphocyte count (Spearman's rho: 0.282, $p=0.03$) whereas *SOCS3* expression correlated immediately postoperative and at the 1st postoperative day with the neutrophil count (Spearman's rho: 0.306, $p=0.020$; 0.252, $p=0.048$). IL-10 plasma concentration positively correlated immediately postoperative with the *SOCS1* mRNA expression (Spearman's rho: 0.455; $p < 0.01$). This influence of IL-10 was confirmed by the linear regression of *SOCS1* ($p < 0.01$) and *SOCS3* ($p = 0.019$). Immediately postoperative, *SOCS1* mRNA expression negatively correlated with TNF α secretion *ex vivo* after stimulation with LPS (Spearman's rho -0.379; $p < 0.01$) and ConA (Spearman's rho -0.288; $p = 0.04$). At the 1st postoperative day, IL-10 secretion *ex vivo* after LPS stimulation negatively correlated with *SOCS3* mRNA expression (Spearman's rho -0.287; $p = 0.027$).

Conclusion: This study showed for the first time the relevance of *SOCS1* and *SOCS3* for the perioperative immune response. Both seem to be induced in a cell-specific manner and take part in regulating the monocyte and T helper cell functions.

1 Einleitung

1.1 Perioperative Immunantwort

Jede Operation führt in Abhängigkeit verschiedenster Faktoren wie Lokalisation und Dauer des Eingriffs, Operationstechnik bzw. Ausmaß der Gewebsverletzung, angewandte Anästhetika oder assoziierter Blutverlust zu einer Reaktion des Immunsystems, anfänglich lokal am Ort des Gewebes Schadens, und in Abhängigkeit genannter Faktoren ggf. auch systemisch [1, 2]. Traditionellerweise wird die perioperative Immunantwort in Anlehnung an Erklärungsmodelle zur Sepsis in zwei Phasen untergliedert: eine anfängliche Phase der Inflammation, gekennzeichnet durch Proliferation und Aktivierung von Leukozyten, Makrophagen und T-Helferzellen Typ 1 (Th1-Zellen) sowie Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine wie Tumornekrosefaktor α (TNF α), Interleukin 1 β (IL-1 β) und Interferon γ (IFN γ), gefolgt von einer kompensatorischen Phase der Immunsuppression mit Sekretion immunmodulatorischer Zytokine wie Interleukin 4 (IL-4) und Interleukin 10 (IL-10) sowie Verschiebung des T-Helferzell-Gleichgewichts zu Gunsten der T-Helferzellen Typ 2 (Th2-Zellen) [3]. Dieses Konzept wurde z.T. kritisiert und eine Vergleichbarkeit mit dem Sepsismodell angezweifelt [4], da beispielsweise die Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine im Rahmen der perioperativen Immunantwort deutlich geringer ausgeprägt ist als im Rahmen einer Sepsis. Festzuhalten bleibt, dass jeder chirurgische Eingriff zu einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Immundysfunktion führt, welche bis zu mehreren Tagen nach der Operation anhalten kann [5]. Charakteristischerweise kommt es neben der Sekretion pro- und immunmodulatorischer Zytokine sowie der Proliferation, Aktivierung und Migration verschiedener Leukozytensubpopulationen in das Gewebe auch zu einer Funktionsstörung dieser Zellen, insbesondere neutrophiler Granulozyten, Monozyten und verschiedener T-Lymphozytenpopulationen [6-9]. Im Rahmen dieser Immundysfunktion besteht ein erhöhtes Risiko für überschießende pro-inflammatorische Entzündungsreaktionen, beispielsweise im Sinne eines Systemisch Inflammatorischen Response-Syndroms (SIRS) oder ausgeprägten Immunsuppression bis hin zur Anergie des Immunsystems und dementsprechend erhöhtem Risiko für postoperative Infektionen, Sepsis und Multi-Organ-Versagen [10].

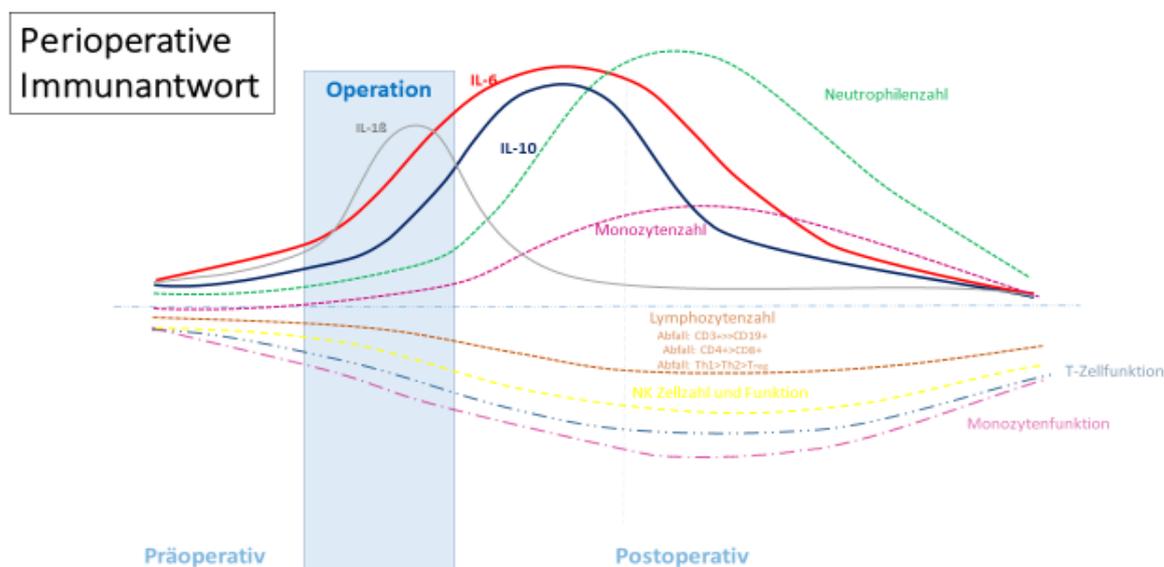


Abbildung 1: Perioperative Immunantwort – Veränderungen im Blut

1.1.1 Systemische perioperative Immunantwort – Zytokine

Die systemische perioperative Immunantwort nimmt ihren Ursprung lokal, am Ort des Gewebeschadens - gekennzeichnet durch Sekretion unterschiedlicher Mediatoren wie Histamin, Substanz P, Bradykinin, Stickstoffmonoxid sowie pro-inflammatorischer Zytokine aus Monozyten und Makrophagen wie IL-1 β , TNF α und IFN γ . TNF α und IL-1 β stimulieren die Sekretion weiterer Zytokine wie Interleukin 6 (IL-6) und IL-10 [11] [12]. Mit Hilfe von Antigen-präsentierenden Zellen (APZ) werden naive CD4 $^{+}$ -T-Helferzellen aktiviert. Je nach präsentiertem Antigen und Mikromilieu wird v.a. die Differenzierung naiver T-Helferzellen-Zellen zu T-Helferzellen Typ 1 (Th1-) bzw. Th2-Zellen stimuliert [13]. Th1-Zellen sezernieren vorrangig pro-inflammatorische Zytokine wie Interleukin 2 (IL-2), TNF α und IFN γ . Th2-Zellen sind durch die Freisetzung immunmodulatorischer Zytokine wie Interleukin 4 (IL-4), Interleukin 5 (IL-5) und IL-10 charakterisiert [13]. In Plasma oder Serum sind die genannten Zytokine perioperativ nur z.T. messbar. Dies ist u.a. abhängig von der Halbwertszeit der Zytokine, ihrer Bindung an Proteine bzw. lösliche Rezeptoren sowie vom operativen Setting (OP-Technik, Ausmaß des assoziierten Gewebeschadens, OP-Dauer u.ä.). Am besten untersucht in diesem Kontext sind IL-6 und IL-10. Bei beiden lässt sich bereits z.T. 90 bis 120 Min. nach Inzision ein signifikanter Anstieg der Konzentration im Serum bzw. Plasma nachweisen, mit Peak-Konzentrationen am ersten bzw. zweiten

postoperativen Tag und Abfall auf das präoperative Niveau am zweiten bis vierten postoperativen Tag [14].

Tabelle 1: Systemische Immunantwort – Zytokine

Zytokin	Herkunft	Ausgewählte Funktionen	Perioperative Immunantwort...
Interferon gamma (IFNγ) Intrazelluläre Signaltransduktion: JAK-STAT-Pathway	v.a. CD4+ Th1-Zellen, geringer auch CD8+ T-Zellen, Natürliche Killerzellen & APZ [15]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Proinflammatorisches Zytokin, aktiviert neutrophile Granulozyten, APZ & Endothelzellen [16] ▪ stimuliert Leukozytenmigration [16], Differenzierung naiver CD4+-T-Zellen zu Th1-Zellen sowie die Differenzierung zytotoxischer CD8+-T-Zellen [17, 18] ▪ induziert MHC-Moleküle auf APZ [19] 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ perioperativ im Serum oder Plasma meist nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen messbar [20]
Tumornekrosefaktor alpha (TNFα) Intrazelluläre Signaltransduktion: MAP-Kinase, NF- κ B	Monozyten, Makrophagen, CD4+-T-Lymphozyten nach Antigenkontakt [21]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ proinflammatorisches Zytokin ▪ stimuliert Chemotaxis neutrophiler Granulozyten & Monozyten [22] sowie u.a. die Proliferation und Differenzierung von T-Zellen [23] ▪ fördert Synthese von Mediatoren wie PGE2 [24], IL-6 & IL-10 sowie von Akut-Phase-Proteinen [11, 12] 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ perioperativ im Serum oder Plasma meist nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen messbar [25] ▪ Bastian et al. fanden bei Patienten, die sich einer Hüft-OP unterzogen, am Ende der OP einen signifikanten Abfall der TNFα-Plasmakonzentration [26]
Interleukin-4 (IL-4) Intrazelluläre Signaltransduktion: JAK-STAT-Pathway	v.a. Th2- & Mastzellen [27]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ immunmodulatorisches Zytokin ▪ stimuliert Proliferation & Differenzierung naiver CD4+-Th-Zellen zu Th2-Zellen, Mediator der Th2-Antwort [28] ▪ stimuliert Immunglobulinclassenwechsel aktivierter B-Zellen [29] 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ perioperativ im Serum oder Plasma meist nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen messbar [30] ▪ Servis et al. fanden bei Patienten, die sich einer Gastrektomie unterzogen 3 h nach Ende der OP einen signifikanten Anstieg der IL-4-Serumkonzentration [31]
Interleukin-6 (IL-6) Intrazelluläre Signaltransduktion: JAK-STAT-Pathway	u.a. Monozyten, Makrophagen, T-Zellen, Endothel- & Mastzellen [32]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ v.a. proinflammatorisches Zytokin, induziert Fieber & Synthese von Akut-Phase-Proteinen [32] ▪ fördert Granulozytenproliferation & stimuliert Proliferation & Differenzierung von B-Zellen zu Plasmazellen sowie mit IL-2 die Differenzierung von CD8+ zytotoxischen T-Zellen [33] [34] ▪ reguliert Apoptose von Neutrophilen & T-Lymphozyten [32] 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Shenkin et al. beobachteten 90 min nach Beginn einer OP einen signifikanten Anstieg der IL-6-Plasmakonzentration [14] ▪ bei komplikationslosem perioperativen Verlauf finden sich die höchsten Plasmakonzentrationen 4-48 h postoperativ, gefolgt von einem steilen Abfall der Plasmakonzentration bis zum 3. postoperativen Tag [11, 12] ▪ unverhältnismäßig hohe IL-6-Plasmakonzentrationen postoperativ sind signifikant mit höherem Risiko für POI assoziiert [35]

Zytokin	Herkunft	Ausgewählte Funktionen	Perioperative Immunantwort...
Interleukin-10 (IL-10) Intrazelluläre Signaltransduktion: JAK-STAT-Pathway	v.a. Monozyten & Makrophagen, geringer auch von B- & Th2-Zellen [36]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ immunmodulatorisches Zytokin ▪ hemmt die monozytäre HLA-DR-Expression [37] ▪ hemmt die Synthese von TNFα, IL-1β & IL-6 in APZ, IFNγ & IL-2 in Th1-Zellen [38, 39] ▪ schützt APZ vor Lyse durch Induktion von Komplement [40] ▪ stimuliert Proliferation & Differenzierung von B-Zellen [41] 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kawasaki et al. fanden 90-120 min nach Inzision einen signifikanten Anstieg der IL-10-Plasmakonzentration [42, 43] ▪ höchste IL-10-Plasmakonzentrationen finden sich nach Ende einer OP bis 6 h postoperativ [25, 44] ▪ am 2.-4. postoperativen Tag fällt der IL-6-Plasmaspiegel auf Ausgangsniveau [42, 44] ▪ unverhältnismäßig hohe IL-10-Plasmakonzentrationen postoperativ sind signifikant mit höherem Risiko für POI assoziiert [35, 45]

1.1.2 Systemische perioperative Immunreaktion – Zelluläre Immunantwort

Granulozyten: Postoperativ kommt es zu einem Anstieg der Granulozytenzahl im Blut (i.B.), vorwiegend zurückzuführen auf eine Zunahme neutrophiler Granulozyten [46]. Auch Motilität bzw. Chemotaxis Neutrophiler können perioperativ gestört sein [47]. Fahlenkamp et al. wiesen nach, dass sich bereits 1 Stunde nach Beginn einer Operation eine verminderte Phagozytosefähigkeit neutrophiler Granulozyten beobachten lässt, unabhängig von den in der Studie verglichenen Anästhetika [48].

Lymphozyten: Postoperativ kommt es zu einem Abfall der Lymphozytenzahl i.B. Dies ist v.a. durch einen Abfall der T-Lymphozytenzahl erklärt. Die B-Lymphozytenzahl unterliegt perioperativ nur geringen Veränderungen [49]. Albertsmeier et al. zeigten an einem kleinen Patientenkollektiv, dass es bereits zwei Stunden nach einer Operation (OP) zu einem signifikanten Abfall der T-Lymphozytenzahl i.B. kommt. Dieser Effekt überdauerte den ersten postoperativen Tag. Ident verhielt sich die Subgruppe der CD4+-T-Lymphozyten. Die Zahl der CD8+-T-Lymphozyten war lediglich zwei Stunden nach Ende der Operation signifikant verringert [50]. Die Lymphozytendepression kann bis zum fünften bzw. siebten postoperativen Tag überdauern und ist mit einem erhöhten Risiko für postoperative Infektionen (POI) assoziiert [10]. Die Ausprägung des Lymphozytenabfalls bzw. dessen Dauer scheinen mit dem Ausmaß des Gewebeschadens zu korrelieren. Minimal-invasive Verfahren sind mit einer geringer ausgeprägten bzw. kürzer anhaltenden Lymphozyten-

depletion assoziiert [51]. Mehrere Arbeitsgruppen versuchten in den letzten zwei Jahrzehnten die postulierte postoperative Verschiebung des Gleichgewichts zwischen Th1- und Th2-Zellen zu Gunsten der Th2-Antwort mittels klinischer Studien nachzuvollziehen. Es zeigte sich, dass nach mitogener Stimulation *ex vivo* die Sekretion von Th1-typischen Zytokinen wie IL-2 oder IFN γ intra- und direkt postoperativ stärker inhibiert wird, als die Fähigkeit zur Sekretion immunmodulierender Zytokine wie IL-4 oder IL-10 aus Th2-Zellen [52] [53]. Decker et al. demonstrierten mit Hilfe von Patienten, die sich einer Cholezystektomie unterzogen, dass es postoperativ gar zu einem Anstieg der mitogen-stimulierten IL-4 Sekretion aus T-Helfer-Zellen kommt [52]. Als Ausdruck dieser „Th2-Shift“ ließ sich sowohl bei großen abdominellen als auch bei kardiochirurgischen Eingriffen direkt postoperativ ein signifikanter Abfall der IFN γ /IL-4-Ratio [54] bzw. der IFN γ /IL-10-Ratio nachweisen [55]. Am zweiten bis fünften postoperativen Tag findet sich meist eine Erholung der Syntheseleistung auf das präoperative Niveau [6, 7]. Die IFN γ - und IL-4-Sekretion *ex vivo* korreliert postoperativ negativ mit dem Ausmaß des Gewebeschadens. So sind minimal-invasive Verfahren mit einem milderem Abfall der Zytokin-Sekretion *ex vivo* assoziiert [20, 56]

Monozyten: Die Monozytenzahl i. B. steigt postoperativ an und kann bis zum 7. postoperativen Tag signifikant erhöht bleiben [57, 58]. Ferner findet sich perioperativ eine Funktionsstörung von Monozyten, gekennzeichnet durch eine Beeinträchtigung der Chemotaxis, Phagozytosefähigkeit sowie Antigenpräsentation [59, 60]. So ist die Expression des humanen Leukozyten-Antigen DR (HLA-DR), einem Schlüsselprotein der Antigenpräsentation und letztlich damit auch T-Zellaktivierung, in der frühen postoperativen Phase vermindert [61, 62]. Kürzere Operationszeiten und minimal-invasive Techniken sind mit einem milderem Abfall bzw. rascherer Erholung der HLA-DR Expression assoziiert [56]. Die perioperative Monozytenfunktionsstörung lässt sich ferner an einer verminderten Fähigkeit zur Sekretion von Zytokinen nach mitogener Stimulation *ex vivo* nachvollziehen. Bereits zwei Stunden nach Inzision ist die Fähigkeit von Monozyten zur Sekretion von TNF α nach mitogener Stimulation *ex vivo* signifikant vermindert. Dies kann bis

zum ersten postoperativen Tag überdauern [7, 56]. Die monozytäre IL-6 Synthese *ex vivo* kann direkt postoperativ bis zum 3. postoperativen Tag vermindert sein [63, 64].

1.2 Suppressor of Cytokine Signaling

1.2.1 JAK/STAT – Signalweg

Die meisten Zytokinrezeptoren haben keine intrinsische Tyrosinkinaseaktivität. Die intrazelluläre Signaltransduktion vieler Zytokine erfolgt u.a. mit Hilfe des Januskinase (JAK) - Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT)-Signalwegs (JAK-STAT-Signalweg). Funktion dieses Signalweges ist die Weiterleitung des extrazellulären Signals in den Nucleus. Durch Bindung eines Zytokins an seinen spezifischen Rezeptor auf der Zelloberfläche wird eine Konformationsänderung des Rezeptors induziert. Die intrazellulären Domänen des Rezeptors sind mit sog. Januskinasen (JAK) assoziiert. Durch die Konformationsänderung des Rezeptors kommt es zur Autophosphorylierung der assoziierten JAK. Diese können nun spezifische Tyrosinreste der intrazellulären Domänen des Zytokinrezeptors phosphorylieren. Konsekutiv entsteht eine Bindungsstelle für STAT-Proteine. Die Bindung der STAT-Proteine initiiert deren Phosphorylierung durch die assoziierten Januskinasen. Die aktivierten STAT-Proteine bilden konsekutiv Dimere und werden in den Nucleus transloziert, wo sie an spezifische Promotorregionen binden und die Transkription des jeweiligen Zytokin-Zielgens initiieren. Unterschiedliche Zytokinrezeptoren sind jeweils spezifisch mit bestimmten JAK und STAT-Proteinen assoziiert. Es werden insgesamt 4 JAK- und 7 STAT-Proteine unterschieden [65-68].

1.2.2 Suppressor of Cytokine Signaling Proteine

Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS) Proteine sind eine Familie aus 8 intrazellulär vorkommenden Proteinen. Zu ihnen zählt das Cytokine inducible SH2 Protein (CIS) sowie die SOCS-Proteine 1 bis 7. Ihre Aufgabe ist die Hemmung der intrazellulären Signaltransduktion von Zytokinen und anderen Gewebshormonen. Sie verhindern damit eine überschießende Wirkung dieser Mediatoren. Die Genexpression der meisten SOCS-Proteine kann binnen Minuten bis weniger Stunden u.a. durch Zytokine, Wachstumsfaktoren und bestimmte Pathogene induziert werden [69]. Z.T. geschieht dies i. S. einer negativen

Rückkopplungsschleife: hierbei induzieren bestimmte Zytokine bzw. andere Stimuli die Expression von SOCS-Proteinen. Die SOCS-Proteine wiederum hemmen die intrazelluläre Signaltransduktion ihrer Induktoren. Ausprägung und Dauer der SOCS-Genexpression sind gewebsspezifisch und abhängig vom jeweiligen Induktor der Genexpression [70-72]. Prinzipiell ist die Stabilität der SOCS-Proteine gering. Ihre Halbwertszeit beträgt im Mittel 1 bis 2 Stunden, ihre Expression wird v.a. transkriptionell reguliert [73]. Gemeinsam ist allen SOCS-Proteinen die Grundstruktur aus 3 funktionellen Domänen:

- ⇒ ein Amino-Ende unterschiedlicher Länge und Aminosäure-Sequenz,
- ⇒ eine zentrale Src homology 2 (SH2)-Domäne,
- ⇒ sowie ein Carboxyl-Ende, in dem sich eine 40 Aminosäuren lange, hochkonservierte Region findet, die sogenannte SOCS-Box.

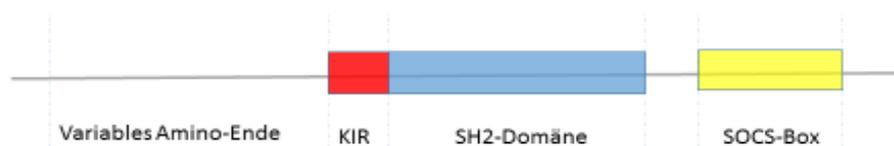


Abbildung 2: Grundstruktur der SOCS-Proteine

Abbildung modifiziert nach Dimitriou et al, Immunological Reviews 2008 [74].

Aus dieser Grundstruktur lassen sich 3 Wirkprinzipien ableiten mit deren Hilfe die SOCS-Proteine die intrazelluläre Signaltransduktion von Zytokinen u.a. Molekülen inhibieren:

1. Die Funktion des Amino-Endes ist für die meisten SOCS-Proteine bislang nicht geklärt. *SOCS1* und *SOCS3* besitzen in diesem Bereich eine sog. *Kinase Inhibitory Region* (KIR), die als Pseudosubstrat für die Januskinase 2 (JAK2) fungieren kann [75].
2. Die zentrale SH2-Domäne der SOCS-Proteine besitzt eine Bindungsstelle für Zytokin-Rezeptoren bzw. Januskinasen. Die Bindung ist spezifisch. Es binden jeweils bestimmte SOCS-Proteine an bestimmte Rezeptoren bzw. Januskinasen. Die Bindung und damit kompetitive Hemmung von Januskinasen m.H. der zentralen SH2-Domäne ist allein *SOCS1* und in geringerem Maße *SOCS3* vorbehalten [76].
3. Über Bildung einer E3-Ligase kann mit Hilfe der SOCS-Box die Ubiquitinierung und letztlich der Abbau von Signaltransduktionsmolekülen im Proteasom erfolgen. Zur Bildung dieser E3-Ligase bindet die SOCS-Box weitere im Cytosol vorkommende

Proteine: Elongin-B und -C, Cullin 5, ein *RING finger-containing proteine* (Rbx 2) und ein E2 *ubiquitin conjugating enzyme* [77].

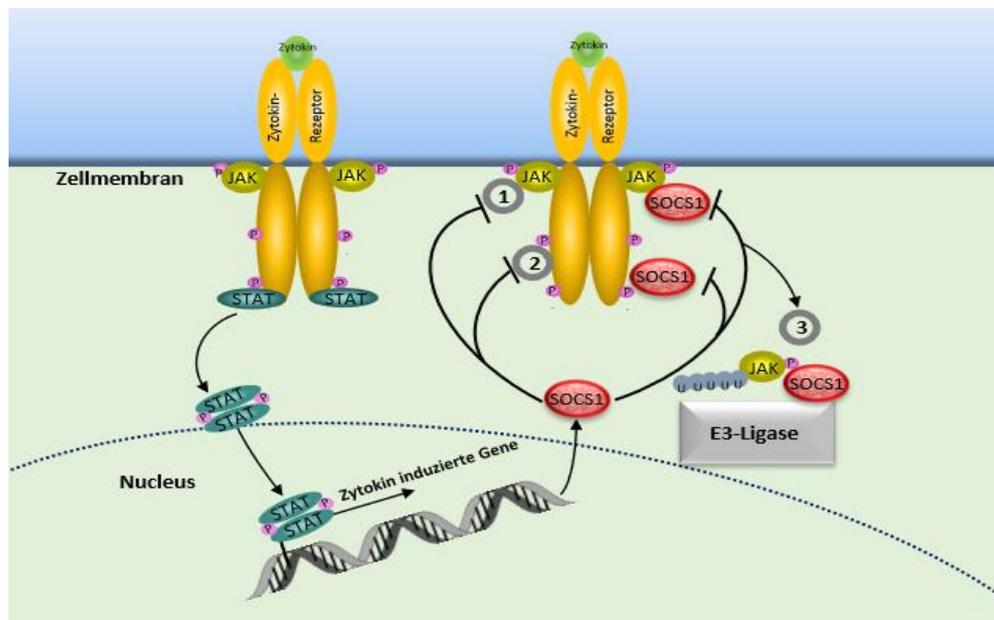


Abbildung 3: Funktion der SOCS-Proteine am Beispiel von SOCS1

1: Bindung und kompetitive Hemmung der JAK2

2: direkte Bindung des Zytokinrezeptors

3: Ubiquitinierung der JAK m.H. der E3-Ligase

Abbildung modifiziert nach Davey et al., 2006, *Tissue Antigens* [78].

1.2.3 SOCS1

SOCS1 ist in Thymus, Milz, Zellen der Lunge und des Hodens konstitutiv exprimiert, kann jedoch durch eine Vielzahl an Molekülen in unterschiedlichsten Zelltypen induziert werden [70, 79]. Neben Hemmung des JAK-STAT-Signalwegs, gibt es Hinweise, dass auch andere Signalmoleküle durch SOCS1 inhibiert werden. Beispielfhaft seien folgende genannt: MyD88 Adapter-like (Mal)- bzw. Toll-Interleukin-1-Rezeptor Domain Containing Adapter Protein (TIRAP) und Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPKinase) [80] sowie p65-Nuclear Factor kappa B (NFkB) [81].

SOCS1 weist ein komplexes Wirkungsspektrum auf. Seine Gen-Expression wird u.a. induziert durch IFN γ , TNF α , IL-4, IL-6, IL-10, Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF), Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor (GM-CSF) und Wachstumsfaktoren wie Insulin und Growth Hormone. Auch Bestandteile von Pathogenen wie Lipopolysaccharid (LPS) und CpG-DNA können die Genexpression von SOCS1 induzieren.

Vice versa hemmt *SOCS1* die intrazelluläre Signaltransduktion einer Vielzahl dieser Moleküle, wie beispielsweise IFN γ , TNF α , IL-4, IL-6 und GM-CSF [82, 83]. Durch Inhibierung der Signaltransduktion des G-CSF bzw. GM-CSF hemmt *SOCS1* die Proliferation von Granulozyten, Monozyten bzw. Makrophagen [84]. Im Weiteren fanden sich Hinweise für den Einfluss von *SOCS1* auf die Makrophagenpolarisation. *SOCS1* wird v.a. in alternativ aktivierten M2 Makrophagen exprimiert. In klassisch aktivierten M1 Makrophagen findet sich eine deutlich geringere *SOCS1* Expression [85, 86].

SOCS1 ist einer der wichtigsten Inhibitoren der intrazellulären Signaltransduktion von IFN γ in Makrophagen. IFN γ selbst ist ein potenter Induktor von *SOCS1* und für die Differenzierung von T-Helfer-Zellen zu T-Helfer-Zellen Typ 1 (Th1-Zellen) essentiell. Konsekutiv weisen Th1-Zellen eine deutliche stärkere *SOCS1*-Expression auf als naive CD4 $^{+}$ -T-Zellen oder T-Helfer-Zellen Typ 2 (Th2-Zellen) [87].

Andererseits fanden mehrere Arbeitsgruppen Hinweise, dass *SOCS1* die Differenzierung naiver CD4 $^{+}$ -T-Zellen zu Th1-Zellen hemmt [88, 89]. So zeigten Diehl et al., dass die *SOCS1*-Genexpression in aktivierten CD4 $^{+}$ -T-Zellen durch IL-6 stimuliert wird. *SOCS1* wiederum hemmt die intrazelluläre IFN γ -Signaltransduktion. Eine Hemmung der intrazellulären Weiterleitung des IFN γ -Signals hatte eine Inhibition der Th1-Zelldifferenzierung zur Folge [90].

Über die Hemmung der intrazellulären Signalweiterleitung von Interleukin-7 bzw. Interleukin-15 hemmt *SOCS1* die Proliferation von CD8 $^{+}$ -T-Zellen sowohl im Thymus als auch peripher [91].

1.2.4 SOCS3

SOCS3 findet sich konstitutiv exprimiert in Zellen der Lunge, des Thymus, der Milz, des Fettgewebes und der Epidermis [70]. Neben dem JAK-STAT-Signalweg inhibiert *SOCS3* auch andere intrazelluläre Signalwege bzw. -moleküle, z.B. p38 oder die MAPKinase [92]. *SOCS3* wird durch eine Vielzahl unterschiedlicher Moleküle induziert. Hierzu gehören u.a. IL-4, IL-6, Interleukin-10, IFN γ , Leptin, Growth Hormone, LPS. *SOCS3* inhibiert die intrazelluläre Signaltransduktion u.a. von IL-6, Interleukin-12 (IL-12), IFN γ , TNF α , G-CSF und GM-CSF [69, 93, 94]. Neben Zytokinen induzieren auch Pathogene bzw. deren

Bestandteile wie LPS oder CpG DNA binnen Minuten bis wenigen Stunden die Genexpression von SOCS3 in Antigen-präsentierenden Zellen (APZ) [95]. SOCS3 hemmt die Granulopoese und Proliferation von APZ über Hemmung der Signaltransduktion des G-CSF sowie des GM-CSF [96]. Ferner beeinflusst SOCS3 die Polarisierung von Makrophagen. Zwei unterschiedliche Arbeitsgruppen konnten am Mausmodell und in Zellkulturen zeigen, dass SOCS3 v.a. in klassisch aktivierten M1 Makrophagen exprimiert wird und deren Differenzierung fördert [97, 98]. Berlato et al. zeigten, dass IL-10 in Makrophagen die Expression von SOCS3 induziert. Konsekutiv kam es zu einer signifikanten Reduktion der Synthese von TNF α , IL-6 sowie der mRNA-Expression der iNOS [99].

SOCS3 beeinflusst ferner die Proliferation und Differenzierung von T-Zellen. Interleukin-2 (IL-2) ist ein wichtiger Proliferationsfaktor für T-Zellen. SOCS3 hemmt die intrazelluläre Signaltransduktion von IL-2 und damit die Proliferation von T-Zellen [100]. Eine Überexpression von SOCS3 in T-Zellen hemmt die Th1-Antwort, stimuliert jedoch die Differenzierung von CD4+-T-Zellen zu Th2-Zellen [101, 102].

1.3 SOCS1 und SOCS3 im Kontext der perioperativen Immunantwort

Bislang wurden lediglich zwei Analysen publiziert, die die Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Rahmen der humanen perioperativen Immunantwort untersuchen. So zeigten Kolseth et al., dass es bei 16 elektiv laparoskopisch operierten Patienten postoperativ zu einem Anstieg der SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression in peripheren Monozyten kam. Dieser Anstieg war jedoch nur für SOCS3 signifikant [103]. Von Dossow et al. fanden bei insgesamt 40 Patienten, die sich elektiv einer koronaren Bypass-Operation unterzogen, ebenfalls postoperativ einen signifikanten Anstieg der SOCS3 mRNA Expression. Hierbei ließ sich unter Verwendung von Remifentanyl statt Fentanyl für die Narkose am zweiten postoperativen Tag eine im direkten Vergleich signifikant niedrigere SOCS3 mRNA Expression im Blut messen. Die Autoren werteten dies als Ausdruck der immunsuppressiven Wirkung von Remifentanyl [55].

1.4 Zielsetzung

Jede Operation führt zu einer Aktivierung des Immunsystems, initial lokal, je nach Ausmaß des Gewebeschadens und anderer Begleitfaktoren auch systemisch. Diese Immunantwort ist ein komplexes Zusammenspiel unterschiedlicher zellulärer und humoraler Faktoren, allen voran Zytokinen u.a. Gewebshormonen. Die Interaktion und Regulation dieser Faktoren ist von immenser Bedeutung. Eine überschießende Immunantwort, beispielsweise im Sinne eines „Systemic Inflammatory Response Syndrome“ (SIRS) oder die unzureichende Reaktion des Immunsystems im Sinne einer Immunparalyse können fatale Folgen für den perioperativen Verlauf haben [4].

SOCS-Proteine gehören neben den Familien der SH2-Containing Phosphatase Proteins (SHP) und Protein Inhibitors of activated STATs (PIAS) zu den wichtigsten Regulatoren des Zytokin-Signalings [104].

Systematische Analysen zur Bedeutung von *SOCS1* und *SOCS3* im Rahmen der perioperativen Immunantwort fehlen aktuell.

Ziel der vorliegenden prospektiven Observationsstudie war es zu klären:

1. inwieweit es im Kontext der perioperativen Immunantwort großer elektiver abdominalen Operationen zu einer im Blut messbaren Induktion von *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA kommt.
2. inwieweit Veränderungen der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression im Blut mit Veränderungen Veränderungen der humoralen bzw. zellulären systemischen Immunantwort assoziiert sind.
3. ob sich soziodemografische oder perioperative Faktoren identifizieren lassen, die mit der Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* assoziiert sind.

Dieses Wissen könnte dazu beitragen perioperative Immundysbalancen und assoziierte Risiken wie postoperative Infektionen frühzeitig zu erkennen und damit frühzeitig behandeln zu können.

2 Methoden

2.1 Studiendesign

Die vorliegende Untersuchung ist eine prospektive Observationsstudie mit retrospektiver Analyse des Auftretens nosokomialer Infektionen. Sie ist Teil eines größeren Studienprojekts, das den Einfluss von Lebensstilfaktoren auf die Anästhesie und Immunantwort während elektiver Operationen untersuchte. In diesen Studienarm wurden lediglich Patienten der ASA-Klassifikation P3 und P4 eingeschlossen. Untersucht wurden die peri- und postoperative Immunreaktion sowie das Auftreten postoperativer Infektionen. Die vorliegende Untersuchung ist eine Substudie des genannten Studienarmes. Ein- und Ausschlusskriterien sind in Abschnitt 2.2 benannt.

Die Studie wurde von Mai 2006 bis August 2008 in der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Charité Campus Mitte und Campus Virchow-Klinikum durchgeführt. Die Untersuchung wurde im Rahmen der Erweiterung des Ethikkommissionsvotums „Prävention Nikotin-assoziiertes Erkrankungen durch Raucherentwöhnung“ durchgeführt: Ethikkommission Charité – Universitätsmedizin Berlin, EK-Nr. 2258/Si304.EA 1/23/2004 vom 07.02.2006.

2.2 Studienpopulation

Alle Patienten, die im o.g. Untersuchungszeitraum elektiv operiert wurden und vor der Operation in die Prämedikationsambulanz der Charité am Campus Mitte oder Campus Virchow Klinikum kamen, wurden auf ihre Einschlussfähigkeit geprüft.

Der Studienarm umfasste initial 240 Patienten. Die vorliegende Untersuchung ist eine Substudie, in die 66 dieser 240 Patienten eingeschlossen wurden. Kriterien für den Einschluss in den Studienarm waren: ein Mindestalter von 18 Jahren, Einwilligungsfähigkeit und Einwilligung zur Teilnahme an der Studie, ausreichende Deutschkenntnisse, ausreichende Kenntnisse zur Bedienung eines Computers zur Durchführung eines Computerbasierten Fragebogens, elektive Operation, ASA-Klassifikation P3 bzw. P4. Die ASA-Klassifikation beschreibt den präoperativen Gesundheitszustand des Patienten und dient zur Abschätzung perioperativer Risiken (s. Tabelle 2) [105]. Die Einschätzung erfolgte durch den prämedizierenden Anästhesisten. Patienten der ASA-Klasse P3 und P4 haben

infolge ihrer schweren Allgemeinerkrankungen ein erhöhtes Risiko für perioperative Komplikationen, einschließlich eines erhöhten Risikos für postoperative Infektionen [106].

Tabelle 2: ASA-Klassifikation

Klasse	Beschreibung
ASA P1	gesunder Patient
ASA P2	Patient mit leichter Allgemeinerkrankung
ASA P3	Patient mit schwerer Allgemeinerkrankung
ASA P4	Patient mit schwerer Allgemeinerkrankung, die eine ständige Lebensbedrohung ist
ASA P5	moribunder Patient, der ohne Operation voraussichtlich nicht überleben wird
ASA P6	hirntoter Patient, Operation mit dem Ziel der Organspende

Ausschlusskriterien waren: gleichzeitige Teilnahme an einer anderen Studie, Mitarbeiter der Charité bzw. Verwandter eines Mitarbeiters, bestehende Immunsuppression, z.B. durch immunsuppressive Medikation, bekannte Autoimmunerkrankungen oder HIV-Erkrankung, präoperative Infektion, Operation mit dem Ziel der Organtransplantation.

Alle Patienten die o.g. Kriterien erfüllten, sich einer elektiven Laparotomie unterzogen und einer Blutentnahme präoperativ sowie nach Beendigung der Operation und am ersten postoperativen Tag mit Bestimmung der SOCS1 und SOCS3 mRNA-Expression zustimmten, wurden in diese Substudie aufgenommen. Letztlich konnten 66 Patienten in die Substudie eingeschlossen werden (siehe 3).

Im Vorfeld erfolgte bereits eine Analyse und Veröffentlichung eines Teils der Daten im Rahmen einer Dissertation. Konkret handelt es sich hierbei um die perioperativen Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentrationen der 240 Patienten des oben erwähnten Studienarmes durch Kristin Schilling, „Der prädiktive Wert inflammatorischer Marker für postoperative Infektionen bei Risikopatienten mit nichtkardiochirurgischem Eingriff“, im Jahr 2013, Charité Universitätsmedizin Berlin [107]. Die 66 Patienten der vorliegenden Substudie entstammen dem Kollektiv dieser 240 Patienten. Aufgrund der zu vermutenden Bedeutung der Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentrationen für die SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression im Blut, wurden diese Werte für die 66 Patienten der vorliegenden Substudie erneut in die Datenauswertung miteinbezogen.

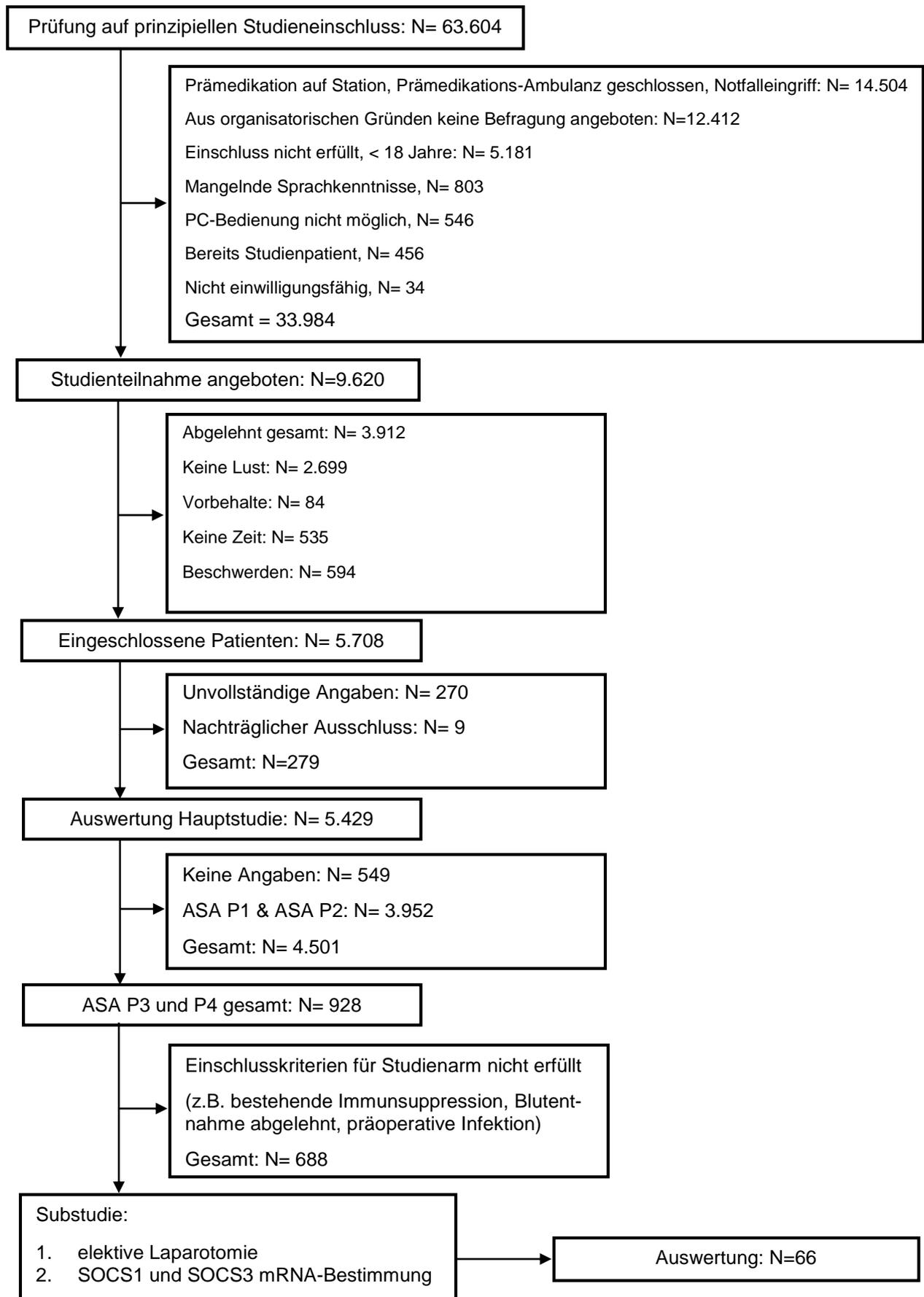


Abbildung 4: Übersicht Patienteneinschluss

2.3 Computer-basierte Patientenbefragung

Nach Einschluss in die Studie erfolgte eine Computer-gestützte Befragung der Patienten zu unterschiedlichen sozio-demographischen Punkten sowie Lebensstilfaktoren. Der Fragebogen umfasste insgesamt 111 Fragen, z.T. bestehend aus Multiple-Choice-Fragen. Mehrfachantworten waren hier möglich. Gefragt wurde unter anderem nach: Alter, Geschlecht, Familienstand, Gewicht, Größe, Vorerkrankungen, Schlafverhalten, Ernährungsgewohnheiten, Sportliche Betätigung, Rauchen, Alkoholkonsum, subjektivem Wohlbefinden.

Zur Evaluation des Nikotinkonsums wurde u.a. der Fagerström-Test zur Nikotinabhängigkeit (FTNA) verwendet [108]. Zur Abschätzung eines etwaig schädlichen Alkoholkonsums fand u.a. der Alcohol Use Disorder Identification Test (AUDIT) Anwendung [109]. Als schädlicher Alkoholkonsum wurde für männliche Patienten ein Testergebnis von 8 oder mehr Punkten definiert. Für weibliche Patienten galt gleiches für 5 oder mehr Punkte im AUDIT.

2.4 Blutentnahmeprotokoll

Insgesamt erfolgten drei Blutentnahmen: präoperativ direkt vor Einleitung der Narkose, direkt nach Ende der Operation im Aufwachraum bzw. auf der Intensivstation sowie am Morgen des ersten postoperativen Tages. Das Blutbild wurde unmittelbar nach der Blutentnahme im Zentrallabor der Charité bestimmt. Die Untersuchungen mittels Durchflusszytometrie sowie mitogener Stimulation der Zytokinsekretion wurden unmittelbar nach der Blutentnahme im Institut für Medizinische Immunologie Charité Campus Mitte bzw. Campus Virchow-Klinikum durchgeführt. Der andere Teil der Blutuntersuchungen erfolgte zeitversetzt, nach dem die Proben zwischenzeitlich bei -84°C konserviert wurden.

2.5 Geräte und Materialien

Tabelle 3: Verwendete Geräte und Materialien

Blutentnahmezubehör	Hersteller
Butterfly-21	Venisystem, Irland
BD-Vacutainer (EDTA, Heparin, Serum)	Becton Dickinson, New Jersey, USA
PAXgene Blood RNA Tube	Qiagen, Hilden
Vacutainer Luer Adapter	Becton Dickinson, New Jersey, USA
Vacutainer Brand Direct Draw Adapter	Becton Dickinson, New Jersey, USA

Geräte	Hersteller
Absaugpumpe Laboport	KNF Neuberger, Freiburg
Brutschrank Jouan IG150	Cotech GmbH Berlin
Eppendorfgefäße (1.5 ml)	Eppendorf, Hamburg
FACS-Calibur™-Durchflusszytometer	Becton Dickinson, New Jersey, USA
IMMULITE™	DPC Biermann, Bad Nauheim
Kühlzentrifuge CR 422	Jouan, Saint Nazaire, Frankreich
Micronicröhrchen	ICN Biomedicals, Irvine, USA
Microzentrifuge	Eppendorf, Hamburg
Pipetten, 10-100µl, 50-200ml, 100-1000µl	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht
Thermocycler	Eppendorf, Hamburg
Vortex-Genie 2	Scientific Industries, Philadelphia, USA

Chemikalien, Puffer & Medien	Hersteller
BD Lysing Solution, Arbeitslösung 1:10 mit aqua dest. Verdünnt	Becton Dickinson, New Jersey, USA
Concanavalin A (ConA), Konzentration: 1 mg/ml, vorportioniert à 70 µl, gelagert bei 4°C	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen,
Destilliertes Wasser Aqua dest.	Delta Pharma Inc., Canada
Dulbecco´s PBS, 1 Liter Gebinde	PAA Laboratories GmbH, Cölbe,

Ethanol, 100%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen,
FACS-Puffer: Dulbecco´s PBS + 2% FCS + 0,1 NaN ₃	
Fetales Kälberserum (FCS)	Biochrom GmbH, Berlin
IMMULITE™: Chemilumineszenz-Substrat	Siemens Healthcare GmbH, Erlangen
IMMULITE™: gepufferte Proteinmatrix (Reagenz 1)	Siemens Healthcare GmbH, Erlangen
Lyophilisiertes LPS (10.000 pg)	Milenia Biotec GmbH, Gießen
N-Acetyl-L-Alanyl-L-Glutamin (200 mMol)	Biochrom GmbH, Berlin
RNase freies Wasser	Qiagen, Hilden
RPMI 1640 (low endotoxin) Zellzuchtmedium, steril vorportioniert (750 µl in Eppendorfgefäß), gelagert bei -80° C	PAA Laboratories GmbH, Cölbe

Antikörper/Antikörpergemische	Hersteller
IMMULITE™: Küvetten mit TNF α bzw. IL-6/IL-10 Kugelcontainer, Polystyrolkugel beschichtet mit TNF α bzw. IL-6-/IL-10-Antikörper (monoklonal, Maus)	Siemens Healthcare GmbH, Erlangen
IMMULITE™: Anti- TNF α /-IL-6 /-IL-10 Antikörper (polyklonal, Schaf), konjugiert mit alkalischer Phosphatase in Pufferlösung (Reagenz 2)	Siemens Healthcare GmbH, Erlangen
Quantibrite™ PE Quantibrite HLA-DR-PE/Anti-Monocyte PerCP-Cy5.5	Becton Dickinson, New Jersey, USA

Primer, Enzyme & Kits	
Cytometric Bead Array (CBA) "Th1/Th2 Cytokine Kit"	Becton Dickinson, New Jersey, USA
„PAXgene Blood RNA Kit“	Qiagen, Hilden
„PAXgene Shredder spin column“	Qiagen, Hilden
Oligo(dT)-Primer	Promega, Mannheim
Reaktionspuffer (RB)	Promega, Mannheim
dNTP	Promega, Mannheim
Taq-DNA-Polymerase	Fermentas, St. Leon-Rot
RNasin Plus RNase Inhibitor (RI)	Promega, Mannheim
Primer: „SOCS1“, „SOCS3“, „HPRT“	Metabion, München

2.6 Zytokinbestimmung mittels IMMULITE™-Assay

Die Bestimmung der Zytokine TNF α , IL-6 und IL-10 im Plasma erfolgte mittels IMMULITE™-Assay (DPC Biermann GmbH, Siemens). Hierbei handelt es sich um einen Festphasen-Chemolumineszenz-Assay. Die Bestimmung erfolgt halbautomatisch. Das Prinzip beruht auf der Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. Geliefert werden Küvetten, welche mit monoklonalen Antikörpern beschichtete Polystyrol-Kugeln beinhalten. Für die Messung von IL-6 erfolgte die Zugabe von 100 μ l EDTA-Plasma, für die Messung von TNF α und IL-10 die Zugabe von 100 μ l Heparin-Plasma. Außerdem werden die Proben mit einer Pufferlösung (Reagenz 1) versetzt. Binnen einer Inkubationszeit von 30 min bei 37 °C kommt es zur Bindung von IL-6 bzw. IL-10 aus dem Plasma mit den Antikörpern auf den Polystyrol-Kugeln. Es folgt ein Waschvorgang. Anschließend wird die Probe mit dem Reagenz 2 versetzt, welches mit alkalischer Phosphatase markierte polyklonale Antikörper gegen IL-6 bzw. IL-10 beinhaltet. Der letzte Punkt ist die Zugabe des Chemilumineszenzsubstrats Adamantylidioxetanphenylphosphat (ADPP 2-). Binnen einer Inkubation von 10 min kommt es zu einer durch die Alkalische Phosphatase katalysierten Dephosphorylierung des ADPP 2-. Dabei wird Licht ausgesandt. Die Lichtemissionen sind direkt proportional zur Konzentration von IL-6 bzw. IL-10 in der gemessenen Probe.

Im Institut für Medizinische Immunologie der Charité Berlin gelten folgende Referenzbereiche:

IL-6: <5 pg/ml | IL-10: <5 pg/ml | TNF α : <8.1 pg/ml

2.7 Monozytäre Zytokinsekretion nach Stimulation mit LPS

Die Messung der Zytokinsekretion nach Stimulation mit LPS beruht auf der Immulite™-Messmethode. Dazu werden 500 μ l eines *Low Endotoxin* Zellzucht Mediums mit 50 μ l heparinisiertem Vollblut vermischt. Es folgt eine Inkubation von 4 h (TNF α) bzw. 24 h (IL-10) bei 37 °C. Anschließend wird der Ansatz erneut gemischt und für 5 min bei 1000 g zentrifugiert. Im Überstand kann dann m.H. der Immulite™ Methode die Konzentration von TNF α und IL-10 gemessen werden.

Im Institut für Medizinische Immunologie der Charité, wo die Messungen durchgeführt wurden, gelten folgende Normwerte:

TNF α : 100 - 500 pg/ml | IL-10: 50 - 370 pg/ml

2.8 Zytokinsekretion nach Vollblutstimulation mit Concanavalin A

Untersuchungsprinzip und Durchführung: Concanavalin A (ConA) ist ein pflanzliches Lektin, welches über Interaktion mit dem Oberflächenmolekül CD3, in Abhängigkeit von Antigen-präsentierenden Zellen, T-Zellen stimuliert. Stimulierte T-Zellen sezernieren, je nach Subtyp und Aktivierungsniveau, unterschiedliche Zytokine in unterschiedlichem Ausmaß. Nach Inkubation mit ConA können die von T-Zellen sezernierten Zytokine nach Zentrifugation im Überstand gemessen werden. Zur Vorbereitung der Messung wurden 750 µl RPMI-Lösung mit 50 µl ConA versetzt. Anschließend wurden 200 µl heparinisier-tes Vollblut hinzupipettiert und suspendiert. Nach 24 h Inkubation im Brutschrank (37 °C, 5 % CO₂) erfolgte eine neuerliche vorsichtige Re-Suspension. Danach wurde die Probe für 5 min bei 1000 g zentrifugiert, der Überstand konnte direkt zur Messung verwendet werden. Hierfür wurde das Cytometric Bead Array (CBA) Th1/Th2 Cytokine Kit (Becton Dickinson, USA) verwendet. Die Durchführung erfolgte entsprechend den Herstelleran-gaben ("Cytometric Bead Array (CBA) Th1/Th2 Cytokine Kit").

Im Institut für Medizinische Immunologie der Charité, wo die Messungen durchgeführt wurden, gelten folgende Normwerte:

IFN γ : 450 - 2000 pg/ml		TNF α : 25-900 pg/ml
IL-4: 50 - 250 pg/ml		IL-10: 800 - 2000 pg/ml

2.9 Bestimmung der mRNA-Expression von SOCS1 und SOCS3

2.9.1 RNA-Extraktion

Für die Blutentnahme wurde ein „PAXgene Blood RNA Tube“ (Qiagen) verwand. Die RNA-Extraktion erfolgte mittels „PAXgene Blood RNA Kit“ und der „PAXgene Shredder spin column“ (beides Qiagen). Nach Zentrifugation der Blutentnahmemonovetten für 10 min bei 4000 g und anschließendem Verwerfen des Überstands erfolgte die Zugabe von 5 ml RNase freiem Wasser. Anschließend wurde die Probe durchmischt und erneut für 10 min bei 4000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen. Es folgte die Zugabe von 350 µl BR1-Puffer. Nach erneutem Durchmischen wurde die Probe in ein 1,5 ml Microzentrifugengefäß überführt und mit 300 µl BR2-Puffer sowie 40 µl Proteinkinase K

versetzt. Nach neuerlichem Mischen, folgte eine Schüttelinkubation für 10 min bei 55 °C. Anschließend wurde die Probe in die „PAXgene Shredder spin column“ überführt und für 3 min bei 10000 g zentrifugiert. Das Zentrifugat wurde anschließend in ein neues 1,5 ml Microzentrifugengefäß pipettiert und mit 350 µl 100 % Ethanol vermischt. 700 µl der Probe wurden auf eine „PAXgene RNA spin column“ gegeben, die Probe anschließend für 1 min bei 10000 g zentrifugiert. Die abzentrifugierte Lösung wurde verworfen, 350 µl BR3-Puffer auf die „PAXgene RNA spin column“ pipettiert. Die 1-minütige Zentrifugation wurde wiederholt, die abzentrifugierte Flüssigkeit erneut verworfen. Anschließend wurden 10 µl DNase I in 70 µl RDD-Puffer vorsichtig suspendiert. 75 µl dieser Lösung wurden direkt auf die Membran der „PAXgene RNA spin column“ pipettiert, die Probe bei Raumtemperatur für 30 min inkubiert. Anschließend wurden 350 µl BR3-Puffer hinzugefügt und die Probe neuerlich zentrifugiert (1 min, 10000 g). Die abzentrifugierte Flüssigkeit wurde verworfen. Dieser Schritt wurde zweimal mit jeweils 500 µl BR4-Puffer wiederholt. Die Zentrifugation beim zweiten Zentrifugieren nach Zugabe von BR4-Puffer erfolgte für 3 min. Nach neuerlichem Verwerfen der abzentrifugierten Flüssigkeit wurde die Probe erneut für 1 min bei 10000 g zentrifugiert. Die Flüssigkeit erneut verworfen. Anschließend wurden 30 µl BR5-Puffer auf die Säule pipettiert, die Probe zentrifugiert (1 min, 10000 g). Dieser Schritt wurde anschließend mit 20 µl BR5-Puffer wiederholt. Das Eluat wurde für 5 min bei 65 °C inkubiert und anschließend bei -80 °C gelagert oder direkt weiterverwand.

2.9.2 cDNA-Synthese

Zur cDNA-Synthese wurden 21,5 µl der extrahierten RNA mit 2 µl Oligo(dT)-Primer versetzt. Anschließend wurde die Probe für 10 min auf 75 °C im Thermocycler erhitzt. Danach wurde die Probe mit 14,5 µl des folgenden Reaktionsansatzes versetzt:

- 8 µl Reaktionspuffer (RB)
- 4 µl dNTP
- 2 µl DNase
- 0,5 µl RNasin Plus RNase Inhibitor (RI)

und im Thermocycler für 30 min auf 37 °C temperiert, anschließend für 5 min auf 75 °C erhitzt. Nach Zugabe von 1 µl reverser Transkriptase + RI wurde die Probe für 60 min auf 42 °C temperiert, im Anschluss für 5 min bei 94 °C erwärmt. Anschließend wurde die Probe mit der gewonnenen cDNA bei -20 °C eingefroren

2.9.3 Real-time PCR

Die Normalisierung der gemessenen Werte für SOCS1 und SOCS3 erfolgte gegen das Haushalts-Gen Hypoxanthin-Phosphoribosyltransferase (HPRT) und mittels der $2^{-\Delta\Delta CT}$ -Methode nach Livak und Schmittgen [110]. Für jede Blutprobe (Blutentnahme 1, 2 und 3) wurde der Ct-Wert für SOCS1, SOCS3 und HPRT jeweils zweifach bestimmt. Es wurden jeweils nur die Messergebnisse in die Auswertung eingeschlossen, deren Ct-Werte nicht größer als 40 Zyklen waren und in der doppelten Messung um weniger als 0,5 Zyklen differierten. Die Werte für SOCS1 bzw. SOCS3 direkt nach Ende der Operation sowie am ersten postoperativen Tag sind als Vielfache des präoperativen Wertes angegeben.

Verwendete Primer:

SOCS1:

- Vorwärts: CCG CGA CTA CCT GAG CTC CTT
- Rückwärts: AGT TAA TGC GTG CAC GG
- Sonde: TTC CAG ATT TGA CCG GCA GCG C

SOCS3:

- Vorwärts: CTT TCT GAT CCG CGA CAG CT
- Rückwärts: TCA CAC TGG ATG CGC AGG T
- Sonde: CCA GCG CCA CTT CAC GCT CAG

HPRT:

- Vorwärts: ATG CTG GCT TAT ATC CAA CAC TTC G
- Rückwärts: GAC TTT GCT TTC CTT GGT CAG G
- Sonde: TTT CAC CAG CAA GCT TGC GAC CTT GA

Amplifikationsprotokoll:

1. Anfangsdenaturierung: 95° C, 2 min
2. Primerannealing und -verlängerung: 60° C, 1 Minute (insges. 40 Zyklen)
3. Abschlussdenaturierung: 95 °C, 15 Sekunden

2.10 Dokumentation klinischer Parameter

Der peri- und postoperative Verlauf wurde für jeden dokumentierten postoperativen Tag retrospektive mittels Patientenakte und der in der Charité Campus Mitte und Virchow Klinikum verwandten medizinischen Dokumentationssoftware – *Medvision*TM und *COPRA*TM – erhoben. Parameter die erhoben wurden waren: Anästhesieverfahren, Operationsdauer, Dauer der mechanischen Ventilation, Gabe von Erythrozytenkonzentraten u.a. Blutprodukten, peri- bzw. postoperative Komplikationen, mit besonderem Augenmerk auf postoperativen Infektionen, Erregernachweis, Verlaufslaborkontrollen, Vitalparameter, Revisionen, Verabreichung von Antibiotika bis einschließlich zum zweiten postoperativen Tag, Verweildauer auf Intensiv- und Überwachungsstationen, Verweildauer im Krankenhaus, u.U. auch der Tod des Patienten.

2.11 Definition des Ereignisses postoperative Infektion

Postoperative Infektionen wurden nach den Kriterien des Center for Disease Control (CDC) erfasst [111]. Bezüglich dem Auftreten postoperativer Pneumonien wurden die Diagnosekriterien einer nosokomialen Pneumonie (*Hospital Acquired Pneumonia – HAP*) verwandt. SIRS und Sepsis wurden entsprechend den Empfehlungen der *International Sepsis Definitions Conference 2001 (ISDC)* klassifiziert [112].

2.12 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mithilfe der Software IBM® SPSS® Statistics, Version 22.0.0.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) erstellt. Die Daten wurden mittels Histogramm und Shapiro-Wilks-Test auf Normalverteilung überprüft. Häufigkeiten wurden in Prozent angegeben. Normalverteilte Variablen wurden als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. Nicht-normalverteilte Variablen wurden als Median sowie 25%-75% Quartile angegeben. Metrische Daten, die normalverteilt waren, wurden mittels t-Test (2 unabhängige Stichproben) bzw. einfaktorieller Varianzanalyse (> 2 unabhängige Stichproben) analysiert. Metrische Daten, die nicht normalverteilt waren, wurden mittels Mann-Whitney-U-Test (2 unabhängige Stichproben) verglichen. Bei Vergleich von > 2 unabhängigen Stichproben wurde als Globaltest der Kruskal-Wallis-Test verwandt. Die Post-Hoc-

Analyse erfolgte dann mittels paarweiser Vergleiche nach Dunn. Normalverteilte, abhängige bzw. gepaarte Stichproben wurden mit Hilfe des gepaarten t-Tests (2 Stichproben) bzw. Varianzanalyse mit Messwiederholungen (>2 Stichproben) analysiert. Nichtparametrische, abhängige bzw. gepaarte Stichproben wurden mittels Wilcoxon-Test (2 Stichproben) bzw. Friedmann-Test (>2 Stichproben) verglichen. Die multiple lineare Regressionsanalyse wurde zur Abschätzung des Einflusses von Parametern eingesetzt, für die in den zuvor durchgeführten Tests signifikante Zusammenhänge mit der SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression i.B. gefunden wurden. Untersucht wurde jeweils das Bestimmtheitsmaß R^2 , der standardisierte Regressionskoeffizient Beta (β_s) sowie nicht standardisierte Regressionskoeffizient Beta (β_u) und das Signifikanzniveau. Mittels Korrelationsanalyse nach Spearman für Rangdaten wurde die Wechselwirkung zwischen der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. sowie klinischen Parametern bzw. Interleukin-Plasmakonzentrationen, Leukozytenzellzahlen sowie deren Funktionstests überprüft. Das Signifikanzniveau wurde wie üblich bei $\alpha=0,05$ festgelegt. Da es sich bei den Untersuchungen zu SOCS1 und SOCS3 primär um explorative Untersuchungen handelt, erfolgte diesbzgl. die Adjustierung des Signifikanzniveaus. Im Weiteren wurde bei Untersuchungen mit konfirmativem Charakter (Zytokinantwort) und multiplen Vergleichen das Signifikanzniveau mit der Bonferroni-Korrektur adjustiert, um eine α - Fehlerinflation zu vermeiden. Hierzu wurde das globale α -Niveau zu gleichen Teilen auf die Einzeltests umgelegt. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden mit einem (*) gekennzeichnet.

3 Ergebnisse

Anmerkung: Sofern im Text Ergebnisse in eckigen Klammern erwähnt sind, handelt es sich hierbei um Angabe des Medians, des Interquartilsbereichs 25-75% sowie der Standardabweichung [Median; Interquartilsbereich 25-75%; Standardabweichung].

3.1 Studienpopulation – Basischarakteristika

Insgesamt wurden 66 Patienten in diese Substudie eingeschlossen. Die Patienten waren im Durchschnitt 66 Jahre alt. 63.6% der Patienten waren männlich. 81.8% der Patienten litten an einer malignen Erkrankung. Knapp 2/3 der Patienten wurde primär an Leber oder Pancreas operiert. Bei 40.9% der Patienten erfolgte eine Leberteilresektion, bei 22.7% war das Pancreas das primäre Zielorgan. 11 Patienten (16.7%) entwickelten eine postoperative Infektion. Die Operationsdauer unterschied sich z.T. beträchtlich (mediane Operationsdauer: 249 min, Interquartilsbereich: 179-322 min). Knapp die Hälfte der Patienten wurde länger als 240 min operiert. Weitere demografische Daten, die Häufigkeit von Komorbiditäten sowie peri- und postoperative Charakteristika der Studienpopulation sind in Tabelle 4 und 5 aufgeführt.

Tabelle 4: Demografische Daten und Komorbiditäten

Parameter		Patienten (n=66)
Alter	in Jahren	66 [60 – 72]
Geschlecht	weiblich/männlich	24/42 (36,4% / 63,6%)
BMI	in kg/m ²	25,2 [22,4-27,9]
Raucher/Nichtraucher	ja/nein	9/57 (13,6% / 86,4%)
AUDIT	positiv/negativ	2/64 (3% / 97%)
Kardiale Erkrankung	ja/nein	18/48 (27,3% / 72,7%)
Arterieller Hypertonus	ja/nein	39/27 (59,1% / 40,9%)
Lungenerkrankung	ja/nein	7/59 (10,6% / 89,4%)
Lebererkrankung	ja/nein	27/39 (40,9% / 59,1%)
Diabetes mellitus	ja/nein	9/57 (13,6% / 86,4%)
Maligne Erkrankung	ja/nein	52/14 (78,8 / 21,2%)

„Alter“ Angabe des Mittelwertes, Interquartilsbereich in Klammern. „BMI“ Angabe des Median, Interquartilsbereich in Klammern. Bei den weiteren Faktoren Angabe der absoluten Zahlen, in Klammern Prozentangabe

Tabelle 5: Peri- und postoperative Charakteristika

Parameter	Patienten (n=66)
Operationsdauer (min) gesamt	249 [179-322]
▪ 60-119 min	5 (7,6 %)
▪ 120-179 min	11 (16,7 %)
▪ 180-239 min	15 (22,7 %)
▪ 240-300 min	13 (19,7 %)
▪ >300 min	22 (33,3 %)
Primäres Ziel-Organ	
▪ Leber	27 (40,9 %)
▪ Magen	5 (7,6 %)
▪ Darm	12 (18,2 %)
▪ Pankreas	15 (22,7 %)
▪ Andere	7 (10,6 %)
Postoperative Infektion	ja/nein 11/55 (16,7 % / 83,3 %)
▪ Wundinfekt	8 (72,7 %)
▪ Pneumonie	2 (18,2 %)
▪ Harnwegsinfekt	1 (9,1 %)
Verstorben während Krankenhausaufenthaltes	ja/nein 5/61 (7,6 % / 92,4 %)

„Operationsdauer“ Angabe des Median, Interquartilsbereich in eckigen Klammern. Weitere Parameter: Angabe absoluter Zahlen, Prozentangabe in runden Klammern.

3.2 SOCS1 und SOCS3 mRNA-Expression präoperativ

Präoperativ liess sich bei allen Patienten SOCS1 und SOCS3 mRNA im Blut (i.B.) nachweisen. Sowohl SOCS1 [0,5; 0,2 - 1,4; 2,8] als auch SOCS3 [0,6; 0,3 - 1,1; 1,9] zeigten gemessen an der Untersuchungsmethode nur relativ gering ausgeprägte interindividuelle Schwankungen (siehe Abbildung 5).

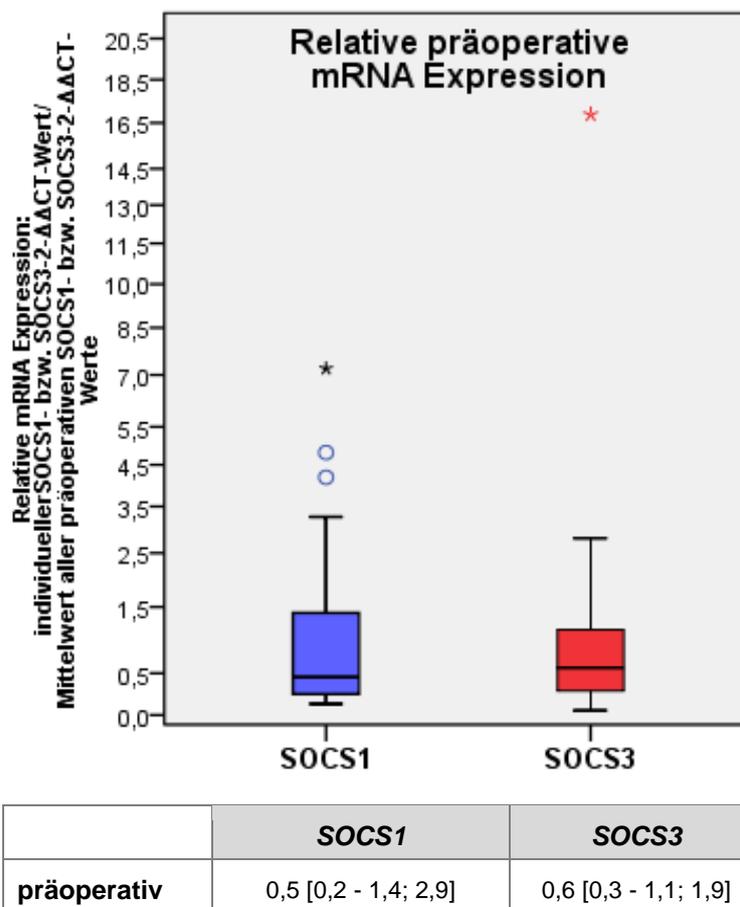


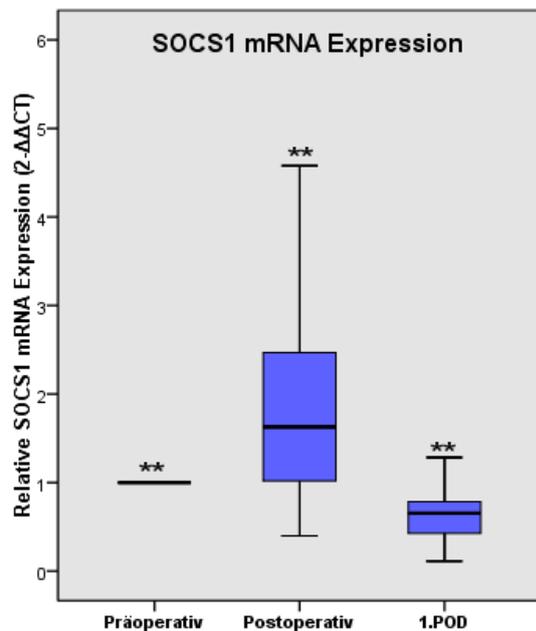
Abbildung 5: Relative präoperative SOCS1 & SOCS3 mRNA Expression
 Angegeben ist jeweils der Median. Interquartilsbereich und Standardabweichung
 in eckigen Klammern.
 °Ausreißer, *Extreme.

3.3 SOCS1 mRNA-Expression postoperativ

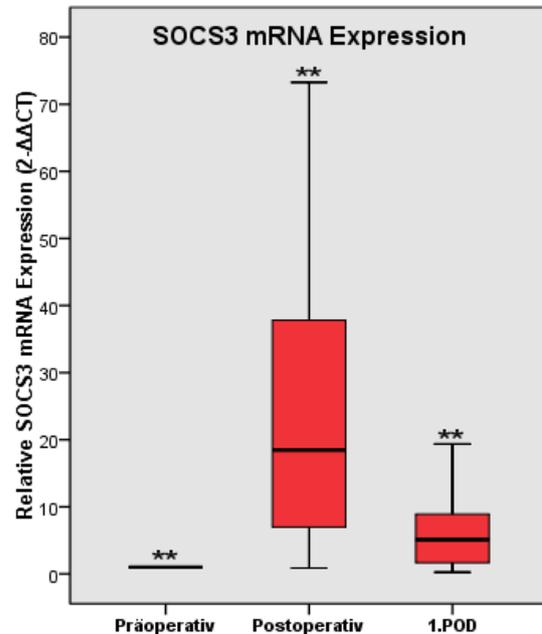
Direkt postoperativ lag keine Normalverteilung der SOCS1 mRNA Expression i.B. vor. Am ersten postoperativen Tag war die Expression grenzwertig normalverteilt. Die Veränderungen des SOCS1 mRNA Gehalts i.B. waren im Beobachtungszeitraum (präoperativ, direkt postoperativ sowie am 1. POD) insgesamt gering ausgeprägt. Direkt postoperativ kam es zu einem milden, aber signifikanten Anstieg der SOCS1 mRNA Expression i.B. [1,7; 1,1 - 2,5; 1,6]. Am ersten postoperativen Tag (1. POD) fiel die Expression unter das Ausgangsniveau [0,7; 0,4 - 0,8; 0,3]. Bezogen auf den Median unterschieden sich die Werte der SOCS1 mRNA Expression i.B. zu allen drei Zeitpunkten signifikant voneinander (Friedman-Test, Post Hoc-Analyse: Wilcoxon-Test: p jeweils < 0.001).

3.4 SOCS3 mRNA-Expression postoperativ

Für die SOCS3 mRNA Expression lag weder direkt postoperativ, noch am 1. POD eine Normalverteilung vor. Direkt postoperativ zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Expression ($p < 0,001$). Der Median stieg auf das ~19-fache des Ausgangsniveaus [direkt postoperativ: 7.1 - 39.4; 34.0]. Am 1. POD fiel die SOCS3-Expression deutlich ab, war jedoch im Vergleich zum präoperativen Median immer noch um das ~5-fache erhöht [1. POD: 1.9 - 9.1; 5.9]. Bezogen auf den Median unterschieden sich die Werte der SOCS3 mRNA Expression i.B. zu allen drei Messzeitpunkten signifikant voneinander (Friedman-Test, Post Hoc-Analyse: Wilcoxon-Test: p jeweils < 0.001).



	Präoperativ	Postoperativ	1. POD
SOCS1	1,00	1,7 [1,1 – 2,5; 1,6]**	0,7 [0,4 – 0,8; 0,3]**



	Präoperativ	Postoperativ	1. POD
SOCS3	1,00	18,8 [7,1 – 39,4; 34,0]**	5,2 [1,9 – 9,1; 5,9]**

Abbildung 6: Relative postoperative SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression

Individueller präoperativer $2^{-\Delta\Delta CT}$ gleich 1. Angegeben ist jeweils der Median.

Interquartilsbereich und Standardabweichung in Klammern.

Ausreißer und Extreme nicht dargestellt.

**signifikanter Unterschied der Mediane zwischen allen 3 Messzeitpunkten. Testmethode: Friedman-Test.

p^{**} jeweils $< 0,001$; 1. POD: 1. postoperativer Tag.

3.5 SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Kontext der perioperativen systemischen Immunantwort

3.5.1 Zytokin-Antwort

Im Vorfeld wurde bereits eine Analyse der perioperativen Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentrationen für 240 Patienten des Studienarmes, dem das Studienkollektiv der vorliegenden Substudie entnommen ist, veröffentlicht. Die Publikation erfolgte im Rahmen einer Dissertation durch Kristin Schilling, „Der prädiktive Wert inflammatorischer Marker für postoperative Infektionen bei Risikopatienten mit nichtkardiochirurgischem Eingriff“, im Jahr 2013, Charité Universitätsmedizin Berlin [107]. Aufgrund der zu vermutenden Bedeutung der Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentrationen für die SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression im Blut, wurden diese Werte für die 66 Patienten der vorliegenden Substudie erneut in die Datenauswertung miteinbezogen.

Tumornekrosefaktor α

Die Werte der TNF α -Plasmakonzentration waren zu keinem Messzeitpunkt normal verteilt. Die TNF α -Plasmakonzentration zeigte zu den 3 Messzeitpunkten lediglich geringe, nicht signifikante Änderungen (Friedman-Test, $p > 0,05$). Signifikante Korrelationen zwischen TNF α -Plasmakonzentration und SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. fanden sich zu keinem Messzeitpunkt (s. Tabelle 6).

Interleukin-6

Die Werte der IL-6-Plasmakonzentration waren zu keinem Messzeitpunkt normal verteilt. Der Vergleich der Mediane erfolgte mittels Friedman-Test, die paarweise Post Hoc-Analyse mit Wilcoxon-Test. Direkt postoperativ stieg die IL-6-Plasmakonzentration deutlich und signifikant an [präoperativ: 4.75 pg/ml; 2.2-10.95 pg/ml; 15.2// direkt postoperativ: 141.00 pg/ml; 79.33-319.75 pg/ml; 286.8] ($p < 0.001$). Am 1. POD kam es zu einem leichten bis mäßigen, nicht signifikanten Abfall der IL-6-Konzentration im Plasma [107.00 pg/ml; 35.85-223.00 pg/ml; 242.3] ($p = 0.063$). Eine signifikante Korrelation der IL-6-Plasmakonzentration mit der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. fand sich zu keinem Messzeitpunkt (s. Tabelle 6).

Interleukin-10

Die Werte der IL-10-Plasmakonzentration waren zu keinem Messzeitpunkt normalverteilt. Der Vergleich der Mediane erfolgte mittels Friedman-Test, die Post Hoc-Analyse mittels Wilcoxon-Test. Aus methodischen Gründen lag die Nachweisgrenze von Interleukin-10 im Plasma bei 5 pg/ml. Präoperativ ließ sich lediglich bei 10 Patienten (15,2%) ein IL-10-Plasmaspiegel > 5pg/ml nachweisen. Die maximale IL-10-Konzentration im Plasma betrug präoperativ 9.8 pg/ml. Direkt postoperativ kam es zu einem signifikanten Anstieg der IL-10-Plasmakonzentration [26.1 pg/ml; 10-101 pg/ml; 121.8] ($p < 0.001$). Am ersten postoperativen Tag sank der IL-10-Spiegel im Plasma nahezu auf das Ausgangsniveau [7.9 pg/ml; 5.25-13.25 pg/ml; 19.7], war jedoch im Vergleich zu diesem weiterhin leicht, aber signifikant erhöht ($p < 0.001$). Die IL-10-Plasmakonzentration direkt nach Ende der Operation korrelierte mit der SOCS1 mRNA Expression i.B. (Spearman Rho r_s für SOCS1: 0.455, $p < 0.001$) was bedeutet, dass eine höhere IL-10-Plasmakonzentrationen mit einer höheren SOCS1 mRNA Expression i.B. einherging. Am 1. POD fand sich keine signifikante Korrelation der SOCS1 mRNA Expression i.B. mit der IL-10-Plasmakonzentration. Ebenso korrelierte die SOCS3 mRNA Expression i.B. zu keinem Messzeitpunkt mit der IL-10-Plasmakonzentration (s. Tabelle 6).

Plasmazytokine

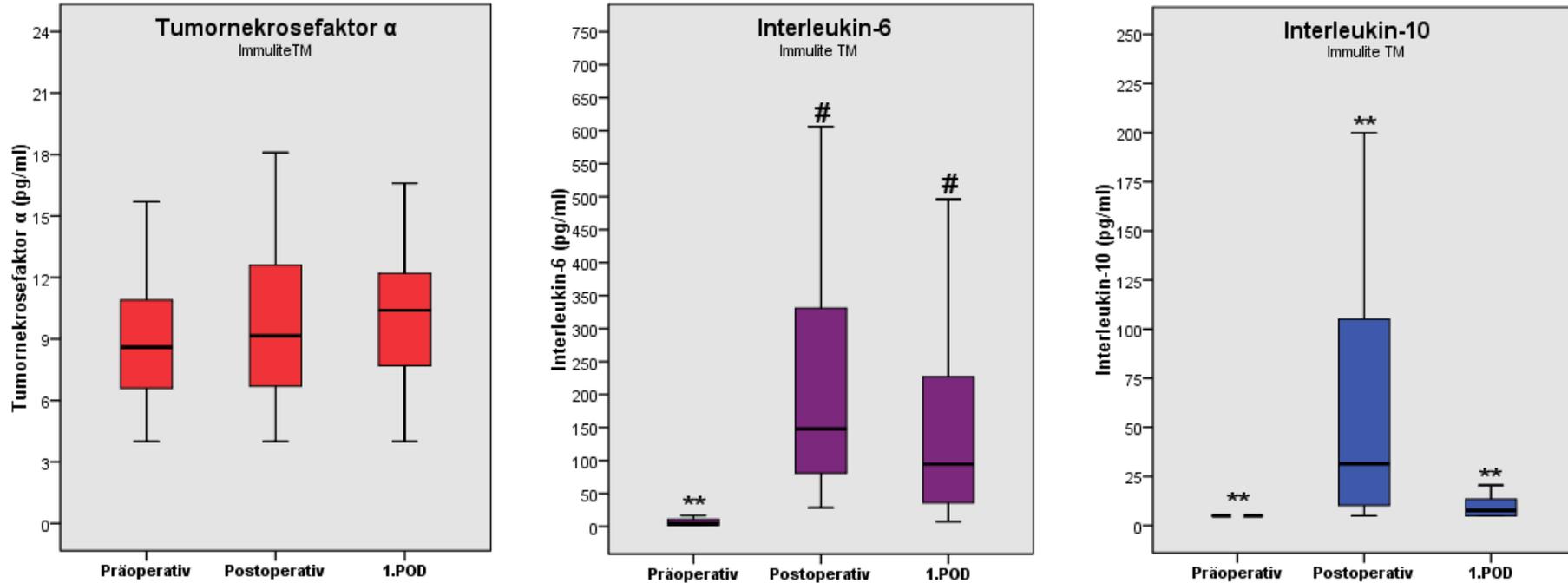


Abbildung 7: Konzentrationen von Interleukin-6, Interleukin-10 und Tumornekrosefaktor- α im Plasma präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag in pg/ml.

Bestimmungsmethode: Immulite TM. Boxplot mit Darstellung des Median sowie des Interquartilsbereichs. Extreme und Ausreißer nicht dargestellt. Friedmann-Test, Post Hoc Analyse mittels Wilcoxon-Test. Signifikante Unterschiede im Median, wenn $p < 0.05$.

**Median unterscheidet sich signifikant vom Median zu beiden anderen Messzeitpunkten.

1. POD: 1. postoperativer Tag.

Tabelle 6: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Plasmakonzentration von Interleukin-6, Interleukin-10 bzw. Tumornekrosefaktor- α mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.

	Tumornekrosefaktor α Immulate TM		Interleukin-6 Immulate TM		Interleukin-10 Immulate TM	
	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD
SOCS1	-0.227; $p=0.086$	0.147; $p=0.263$	0.167; $p=0.215$	0.096; $p=0.465$	0.455* ; $p < 0.001$	0.041; $p=0.758$
SOCS3	-0.254; $p=0.055$	0.183; $p=0.161$	0.134; $p=0.320$	-0.107; $p=0.416$	0.163; $p=0.221$	0.243; $p=0.061$

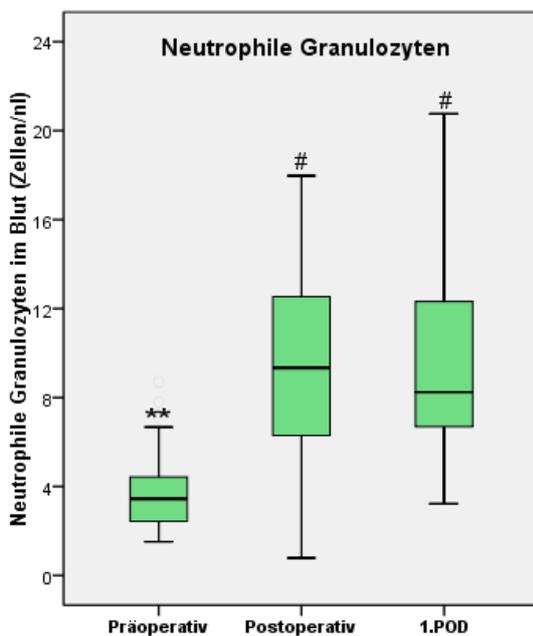
1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*) $p < 0,05$

3.5.2 Zelluläre Immunantwort

Neutrophile Granulozyten

Die Neutrophilenzahl i.B. war lediglich direkt postoperativ normalverteilt. Zur Prüfung signifikanter Unterschiede bzgl. des Medians zu den drei Messzeitpunkten erfolgte die Verwendung des Friedman-Tests sowie zur Post Hoc-Analyse des Wilcoxon-Tests. Direkt postoperativ kam es zu einem signifikanten Anstieg der Neutrophilenzahl i.B. [präoperativ: 3.4 Neutrophile/nl; 2.5 - 4.5 Neutrophile/nl; 1,6 // direkt postoperativ: 9.3 Neutrophile/nl; 6.2 -12.4 Neutrophile/nl; 4,0] ($p < 0.001$). Am ersten postoperativen Tag fiel die Neutrophilenzahl i.B. gering, jedoch nicht signifikant ab [8.2 Neutrophile/nl; 6.4 - 12.4 Neutrophile/nl; 4,4] ($p = 0.645$). Es fanden sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Korrelationen der Neutrophilenzahl i. B. mit der SOCS1 mRNA Expression i.B. Die SOCS3 mRNA Expression i.B. korrelierte direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag positiv mit der Neutrophilenzahl i.B. (Spearman Rho rs direkt postoperativ: 0.306, $p = 0.020$; Spearman Rho rs am 1. POD: 0.252, $p = 0.048$). Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Neutrophile



Spearmankorrelation		
Neutrophile		
	Postoperativ	1. POD
SOCS1	0.255; $p = 0.054$	-0.085; $p = 0.513$
SOCS3	0.306* ; $p = 0.020$	0.252* ; $p = 0.048$

Tabelle 7: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Neutrophilenzahl im Blut mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag.

1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*) $p < 0,05$

Abbildung 8: Neutrophilenzahl im Blut (Zellen/nl) präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

Darstellung als Boxplot mit Angabe des Median sowie des Interquartilsbereichs. Ausreißer und Extreme nicht dargestellt. Friedmann-Test. Post Hoc Analyse mittels Wilcoxon-Test. Signifikante Unterschiede im Median, wenn $p < 0.05$.

**Median unterscheidet sich signifikant vom Median zu den beiden anderen Blutabnahmezeitpunkten.
Median unterscheidet sich signifikant von einem weiteren Blutabnahmezeitpunkt.

Monozyten

Die Monozytenzahl i.B. war zu keinem Messzeitpunkt normalverteilt. Zur Prüfung signifikanter Unterschiede bzgl. des Medians zu den drei Messzeitpunkten erfolgte die Verwendung des Friedman-Tests, die Post Hoc-Analyse m.H. des Wilcoxon-Test. Postoperativ fand sich innerhalb des Bestimmungszeitraumes ein kontinuierlicher Anstieg der Monozytenzahl i.B. Die Korrelationsanalyse erbrachte zu keinem Messzeitpunkt signifikante Korrelationen der Monozytenzahl i.B. mit der mRNA Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* i.B. (s. Tabelle 8).

Monozytenfunktion

Zur Prüfung der Monozytenfunktion erfolgte die Stimulation von Monozyten aus Vollblut mit Lipopolysaccharid (LPS). Konsekutiv wurde die monozytäre Sekretion von IL-10 und TNF α gemessen. Die Ergebnisse wurden mit der mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* i.B. korreliert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tumornekrosefaktor- α Sekretion nach Stimulation mit Lipopolysaccharid

Die Werte waren zu keinem Messzeitpunkt normverteilt, es erfolgte ein Vergleich der Mediane zu den Messzeitpunkten mittels Friedman-Test bzw. die Post Hoc-Analyse mit Hilfe des Wilcoxon-Test. Ähnlich wie die Sekretion von IL-10 zeigte sich auch das Vermögen der Monozyten zur Sekretion von TNF α nach Stimulation mit LPS direkt postoperativ signifikant vermindert [präoperativ: 960 pg/ml; 620-1257 pg/ml; 610.2// direkt postoperativ: 334 pg/ml; 129-716 pg/ml; 2743.3] ($p < 0.001$). Es folgte eine noch inkomplette, aber signifikante Erholung dieser Funktion am ersten postoperativen Tag [673 pg/ml; 435-1230 pg/ml; 485.5] ($p < 0.001$). Hierbei korrelierte die verminderte Syntheseleistung direkt postoperativ negativ mit der *SOCS1* mRNA Expression i.B. (Spearman Rho rs: -0.379, $p = 0.009$), was bedeutet, dass eine höhere mRNA Expression von *SOCS1* i.B. war mit einer verminderten Fähigkeit der Monozyten zur Sekretion von TNF α assoziiert ist. Andere signifikante Korrelationen der monozytären TNF α Sekretion nach Stimulation mit LPS und der mRNA Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* i.B. fanden sich nicht.

Interleukin-10 Sekretion nach Stimulation mit Lipopolysacharid

Die Fähigkeit von Monozyten zur Sekretion von IL-10 nach Stimulation mit LPS war zu keinem Messzeitpunkt normalverteilt und zeigte sich direkt postoperativ deutlich und signifikant vermindert [präoperativ: 68.8 pg/ml; 33.6 - 112.5 pg/ml; 0,2 // direkt postoperativ: 17.8 pg/ml; 9.1 - 35.3 pg/ml; 0,4] (Wilcoxon-Test: $p < 0.001$).

Monozyten

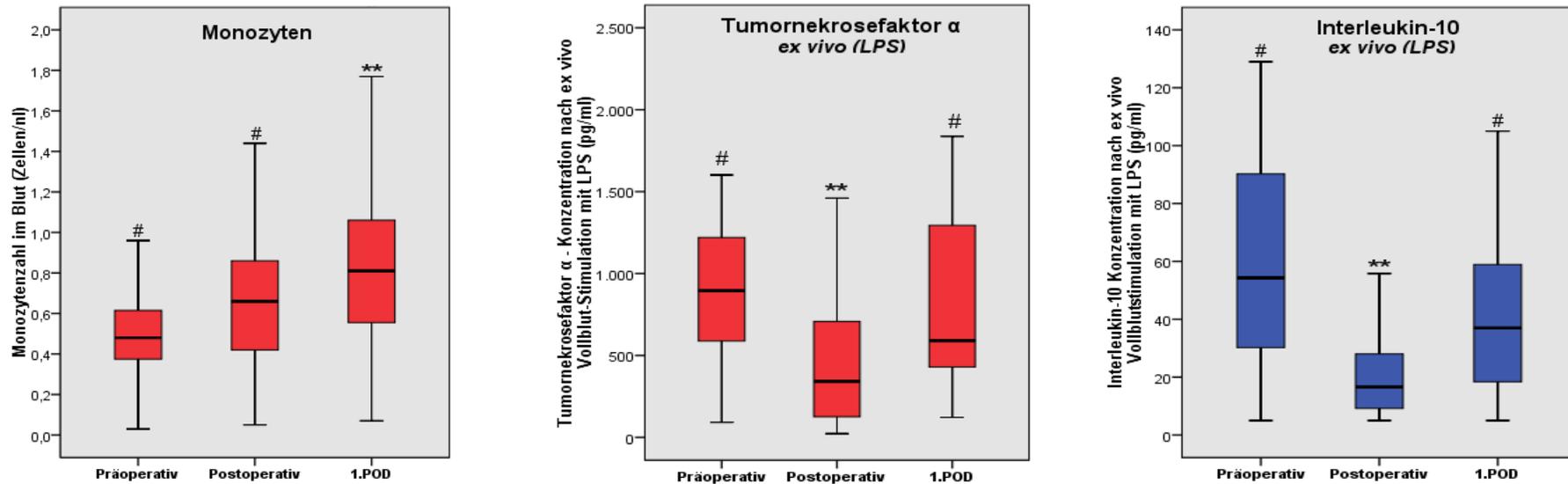


Abbildung 9: Monozytenzahl im Blut, Konzentration von Tumornekrosefaktor α bzw. Interleukin-10 nach Vollblutstimulation mit Lipopolysacharid (in pg/ml) präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag
 Darstellung als Boxplot mit Angabe des Median sowie des Interquartilsbereichs. Ausreißer und Extreme nicht dargestellt. Friedman-Test, Post Hoc Analyse mittels Wilcoxon-Test Signifikante Unterschiede im Median, wenn $p < 0.05$.
 **Median unterscheidet sich signifikant vom Median zu den beiden anderen Messzeitpunkten.
 # Median unterscheidet sich signifikant von einem weiteren Messzeitpunkt.
 LPS: Lipopolysacharid; 1. POD: 1. postoperativer Tag.

Tabelle 8: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Monozytenzahl im Blut, Tumornekrosefaktor α bzw. Interleukin-10-Konzentration nach Vollblutstimulation mit Lipopolysacharid mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

	Monozyten		Tumornekrosefaktor α (LPS)		Interleukin-10 (LPS)	
	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD
SOCS1	0.119; $p=0.374$	-0.096; $p=0.457$	-0.379* ; $p=0.009$	-0.009; $p=0.944$	0.029; $p=0.836$	0.042; $p=0.750$
SOCS3	0.117; $p=0.380$	0.028; $p=0.831$	-0.238; $p=0.111$	-0.173; $p=0.189$	-0.051; $p=0.709$	-0.287* ; $p=0.027$

LPS: Lipopolysacharid;; 1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*) $p < 0,05$

Am ersten postoperativen Tag fand sich eine noch inkomplette, aber signifikante Erholung dieser Fähigkeit [38.8 pg/ml; 18.0-59.1 pg/ml; 0,6] (Wilcoxon-Test: $p=0.012$). Das Vermögen zur Sekretion von IL-10 nach Stimulation mit LPS korrelierte negativ mit der mRNA Expression von *SOCS3* i.B. am ersten postoperativen Tag (Spearman Rho rs: -0.287, $p=0.027$). Eine erhöhte mRNA Expression von *SOCS3* i.B. am ersten postoperativen Tag war mit einer verminderten Fähigkeit von Monozyten zur Sekretion von IL-10 assoziiert. Andere signifikante Korrelationen der monozytären IL-10 Sekretion nach Stimulation mit LPS und der mRNA Expression von *SOCS1* oder *SOCS3* i.B. fanden sich nicht.

T-Lymphozytenfunktion

Zur Prüfung der perioperativen T-Lymphozytenfunktion sowie Evaluierung des Th1/Th2-Gleichgewichts erfolgte die Stimulation von T-Zellen aus dem Blut mit Concanavalin A. Nach Stimulation wurde die Konzentration Th1-typischer Zytokine wie TNF α und IFN γ sowie Th2-typischer Zytokine wie IL-4 und IL-10 bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit der mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* i.B. korreliert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 und Abbildung 10 dargestellt.

Th1-Antwort - Sekretion von TNF α nach Stimulation mit Concanavalin A

Die Fähigkeit von Lymphozyten zur Sekretion von TNF α nach Stimulation mit ConA war zu keinem Messzeitpunkt normalverteilt und direkt nach Beendigung der Operation deutlich und signifikant vermindert [präoperativ: 181 pg/ml; 112 - 285 pg/ml; 166.8// direkt postoperativ: 22 pg/ml; 6 - 73.5 pg/ml; 69.6] (Wilcoxon-Test, $p<0.001$). Am ersten postoperativen Tag ließ sich eine geringe, nicht signifikante Erholung der Fähigkeit zur Sekretion von TNF α verzeichnen [61 pg/ml; 26.5 - 120 pg/ml; 68.8] ($p=0.072$). Direkt postoperativ korrelierte die mRNA Expression von *SOCS1* i.B. negativ mit der TNF α -Syntheseleistung der T-Lymphozyten (Spearman Rho rs: -0.288, $p=0.039$), was bedeutet, dass eine stärkere *SOCS1* mRNA Expression i.B. direkt postoperativ mit einer verminderten TNF α -Syntheseleistung einherging. Andere signifikante Korrelationen zwischen TNF α Sekretion nach Stimulation mit ConA und der mRNA Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* i.B. fanden sich zu keinem Messzeitpunkt.

Th1-Antwort - Sekretion von INF γ nach Stimulation mit Concanavalin A

Die Werte waren zu keinem Messzeitpunkt normverteilt. Vergleichbar der Sekretion von TNF α kam es postoperativ zu einem deutlichen, signifikanten Abfall der INF γ -Synthesefähigkeit von T-Lymphozyten nach Stimulation mit ConA [präoperativ: 1143 pg/ml; 477 - 1970 pg/ml; 1400.9 // direkt postoperativ: 228 pg/ml; 75 - 681 pg/ml; 765.4] (Wilcoxon-Test, $p < 0.001$). Am ersten postoperativen Tag zeigte sich eine leichte, aber signifikante Erholung der INF γ -Syntheseleistung [408 pg/ml; 224,5 - 837 pg/ml; 744.6] (Wilcoxon-Test, $p = 0.024$). Signifikante Korrelationen der INF γ -Sekretion nach Stimulation mit ConA und der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. fanden sich zu keinem Messzeitpunkt.

Th2-Antwort - Sekretion von IL-4 nach Stimulation mit Concanavalin A

Die Werte waren zu keinem Messzeitpunkt normverteilt. Grundsätzlich fand sich postoperativ auch eine signifikant verminderte Fähigkeit der T-Lymphozyten i.B. zur Sekretion von IL-4 nach Stimulation mit ConA (Wilcoxon-Test, $p < 0.001$). Allerdings war der Abfall der Syntheseleistung geringer ausgeprägt als bei den Th1-Zytokinen TNF α und INF γ [präoperativ: 14 pg/ml; 9.5 - 19 pg/ml; 9.4 // direkt postoperativ: 7 pg/ml; 4 - 12 pg/ml; 12.6]. Am ersten postoperativen Tag kam es zu einer leichten, nicht signifikanten Erholung der IL-4-Syntheseleistung nach Stimulation mit ConA [9 pg/ml; 6 - 14 pg/ml; 8.9] ($p = 0.924$). Signifikante Korrelationen zwischen IL-4 Sekretion nach Stimulation mit ConA und der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 i.B. ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt.

Th2-Antwort - Sekretion von IL-10 nach Stimulation mit Concanavalin A

Die Werte waren zu keinem Messzeitpunkt normverteilt. Es ergaben sich keine signifikanten Änderungen des Medians der IL-10-Sekretion von T-Lymphozyten i.B. nach Stimulation mit ConA zu den 3 Bestimmungszeitpunkten (Friedmann-Test, $p = 0.623$). Signifikante Korrelationen zwischen IL-10 Sekretion nach Stimulation mit ConA und der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 fanden sich zu keinem Messzeitpunkt.

Th1/Th2-Gleichgewicht

U.a. zur Erfassung der perioperativen Veränderungen des Gleichgewichts zwischen Th1- und Th2-Zellen diente die Bestimmung des Th1-Zytokins IFN γ nach Stimulation mit ConA sowie des Th2-Zytokin IL-10 ebenfalls nach Stimulation mit ConA. Konsekutiv erfolgte die Berechnung der IFN γ /IL-10-Ratio.

Th1/Th2-Gleichgewicht - Interferon- γ /Interleukin-10-Ratio

Die Werte waren zu keinem Messzeitpunkt normverteilt. Direkt postoperativ kam es zu einem signifikanten Abfall der Ratio [präoperativ: 25.3; 12.5 - 55.5; 40.5// direkt postoperativ: 7.3; 2.3 - 22.0; 17.3] (Wilcoxon-Test, $p < 0.001$). Am ersten postoperativen Tag ließ sich ein geringer, aber signifikanter Anstieg der Ratio beobachten [10.8; 3.9 - 21.4; 15.9] (Wilcoxon-Test, $p = 0.046$). Fazit ist, dass es direkt postoperativ sowie am ersten postoperativen Tag zu einer Verschiebung des Th1/Th2-Gleichgewichts zu Gunsten der Th2-Antwort kam. Signifikante Korrelationen mit der mRNA Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* i.B. fanden sich zu keinem Messzeitpunkt.

T-Helferzell-Antwort

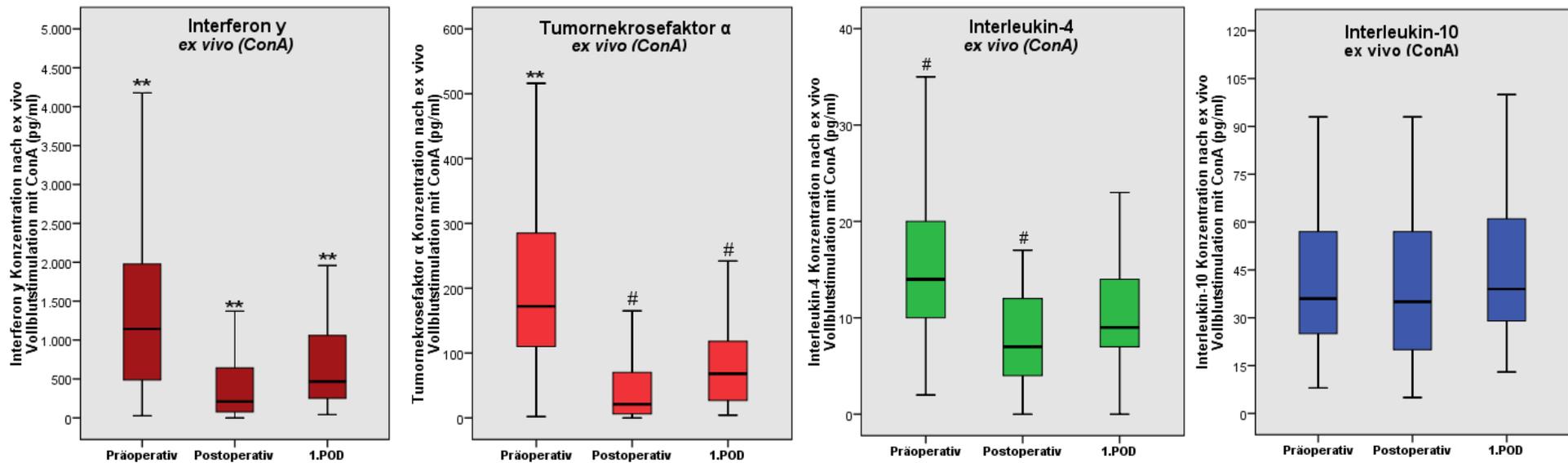


Abbildung 10: Konzentration von Interferon- γ , Tumornekrosefaktor α , Interleukin-4 bzw. Interleukin-10 nach Vollblutstimulation mit Concanavalin A (in pg/ml) präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

Darstellung als Boxplot mit Angabe des Median sowie des Interquartilsbereichs. Ausreißer und Extreme nicht dargestellt. Friedman-Test, Post Hoc Analyse mittels Wilcoxon-Test. Signifikante Unterschiede im Median, wenn $p < 0.05$.

*Median unterscheidet sich signifikant vom Median zu den beiden anderen Messzeitpunkten.

Median unterscheidet sich signifikant von einem weiteren Messzeitpunkt.

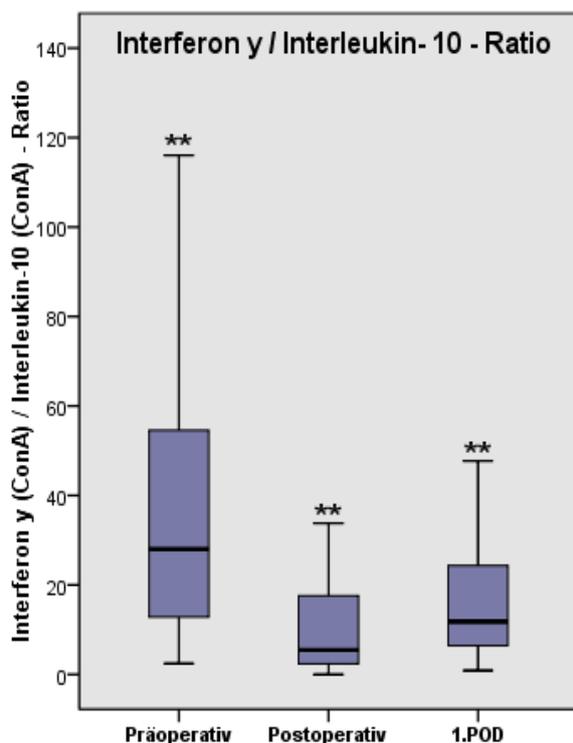
ConA: Concanavalin A; 1. POD: 1. postoperative Tag.

Tabelle 9: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Interferon γ -, Interleukin-4, Interleukin-10 bzw. Tumornekrosefaktor α -Konzentration nach Vollblutstimulation mit Concanavalin A mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

	Interferon- γ (ConA)		Tumornekrosefaktor α (ConA)		Interleukin-4 (ConA)		Interleukin-10 (ConA)	
	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD	Postoperativ	1. POD
SOCS1	-0.122; $p=0.387$	0.077; $p=0.561$	-0.288* ; $p=0.039$	0.185; $p=0.157$	-0.245; $p=0.080$	0.129; $p=0.325$	-0.034; $p=0.809$	-0.050; $p=0.702$
SOCS3	-0.006; $p=0.967$	-0.088; $p=0.502$	-0.149; $p=0.292$	-0.156; $p=0.234$	-0.153; $p=0.278$	-0.020; $p=0.878$	-0.099; $p=0.817$	0.017; $p=0.897$

ConA: Concanavalin A; 1. POD: 1. postoperativer Tag; P: Signifikanz; (*) $p < 0,05$

Th1/Th2-Gleichgewicht



Spearmankorrelation		
Interferon-y (ConA)/ Interleukin-10 (ConA) Ratio		
	Postoperativ	1. POD
SOCS1	-0.051; P=0.722	0.082; P=0.533
SOCS3	0.082; P=0.562	-0.084; P=0.523

Tabelle 10: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Interleukin-10 Ratio mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.
1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*)p<0,05

Abbildung 11: Interferon-y/Interleukin-10 Ratio präoperativ, direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

Darstellung als Boxplot mit Angabe des Median sowie des Interquartilbereichs. Ausreißer und Extreme nicht dargestellt. Friedmann-Test, Post Hoc Analyse mittels Wilcoxon-Test. Signifikante Unterschiede im Median, wenn $p < 0.05$.

**Median unterscheidet sich signifikant vom Median zu den beiden anderen Messzeitpunkten. IFN γ : Interferon γ ; ConA: Concanavalin A; 1. POD: 1. postoperativer Tag.

3.6 Beeinflussung der SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression durch soziodemografische Faktoren & Komorbiditäten

3.6.1 Geschlecht

Es erfolgte die Aufteilung der Gesamtstudienpopulation (n=66 Patienten) nach Geschlecht in zwei Gruppen: Frauen (n=24) und Männer (n=42).

SOCS1

Am ersten postoperativen Tag fand sich ein signifikanter Unterschied der SOCS1 mRNA Expression i.B. zwischen Männern und Frauen bezogen auf den Median beider Gruppen (Mann-Whitney U Test, $p=0.036$). So zeigten Frauen eine niedrigere SOCS1 mRNA Expression i.B. [0.5; 0.3 - 0.7; 0.3] als Männer [0.7; 0.5 - 0.9; 0.3]. Zwar waren die Unterschiede statistisch signifikant, gemessen an der verwendeten Untersuchungsmethode der quantitativen Real-time-PCR jedoch gering ausgeprägt.

Signifikante Unterschiede der Konzentrationen von IL-6-, IL-10- bzw. TNF α im Plasma bezogen auf das Geschlecht und als potentielle Induktoren von SOCS1 bzw. SOCS3 i.B. fanden sich am ersten postoperativen Tag nicht. Gleiches gilt für die Zahl der neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten im Blut (Mann-Whitney U Test, p jeweils > 0.05; Daten nicht gezeigt).

Präoperativ und direkt postoperativ fand sich kein signifikanter Unterschied der SOCS1 mRNA Expression in Abhängigkeit vom Geschlecht (Mann-Whitney U Test, p jeweils > 0.05)

SOCS3

Zwischen Frauen und Männern ergab sich bezogen auf den Median beider Gruppen zu keinem Messzeitpunkt ein signifikanter Unterschied der SOCS3 mRNA Expression i. B. (Mann-Whitney U Test, präoperativ p=0.379, direkt postoperativ p=0.246, am ersten postoperativen Tag p=0.689).

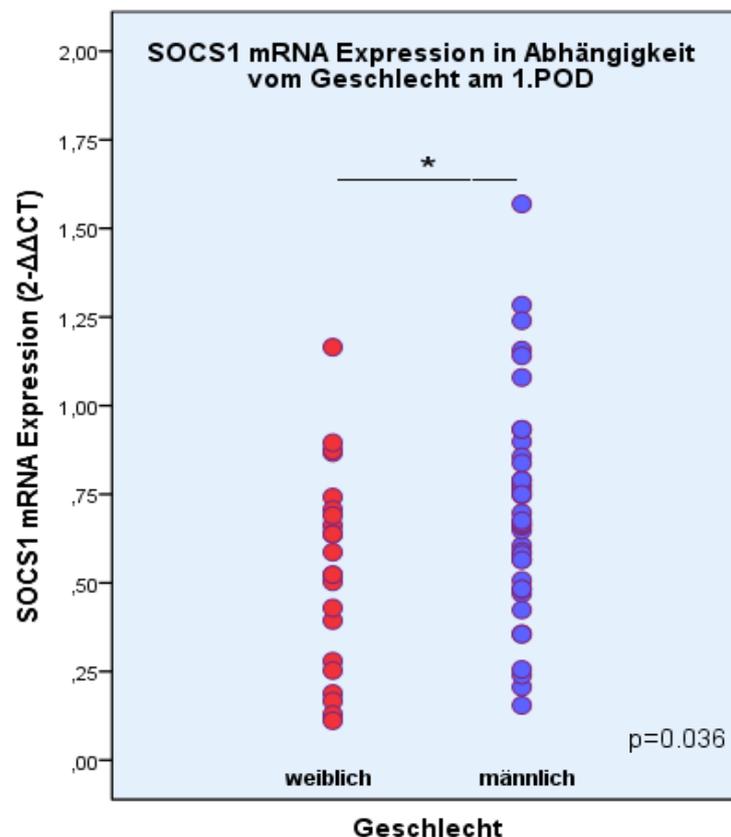


Abbildung 12: SOCS1 mRNA Expression in Abhängigkeit vom Geschlecht am 1. postoperativen Tag. Mann-Whitney U Test
1. POD: 1. postoperativer Tag; p= Signifikanz; (*) p < 0,05.

3.6.2 Body Mass Index

Es erfolgte die Aufteilung der Gesamtstudienpopulation anhand des Body Mass Index (BMI) in 3 Gruppen nach den Kriterien der WHO: Normalgewicht BMI = 18.50-24.99 kg/m² (n=34; 51.5%), Übergewicht BMI = 25.00-29.99 kg/m² (n=23; 34.8%), Adipositas BMI > 29.99 kg/m² (n=9; 13,6%). Patienten, deren BMI <18.50 kg/m² war (Untergewicht), wurden nicht in diese Substudie eingeschlossen, wobei dies kein Ausschlusskriterium war.

SOCS1

Bezogen auf den Median der 3 Gruppen ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede der SOCS1 mRNA Expression i. B. in Abhängigkeit vom BMI (Kruskal-Wallis Test, $p > 0.05$).

SOCS3

Tendenziell zeigte sich direkt postoperativ eine Assoziation zwischen BMI und SOCS3 mRNA Expression i.B. So korrelierte der BMI mäßig, jedoch signifikant negativ mit der SOCS3 mRNA Expression i.B. direkt postoperativ ($p=0.033$) (s. Tabelle 11). Passend hierzu wiesen Patienten mit höherem BMI, also Übergewicht [16.4; 6.4 - 28.2; 2.2] bzw. Adipositas [9.7; 3.0 - 26.3; 0.9], eine geringere SOCS3 mRNA Expression i.B. auf als normalgewichtige Patienten [28.7; 11.0 - 48.7; 1.4]. Die niedrigste SOCS3 mRNA Expression i.B. fand sich in der Gruppe der adipösen Patienten. Dieser Trend war im Globaltest (Kruskal-Wallis-Test) signifikant ($p=0.047$), in der Post-Hoc-Analyse (paarweiser Vergleich nach Dunn) ließ sich jedoch kein signifikanter Unterschied mehr nachweisen (p jeweils > 0.05).

Tabelle 11: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) des BMI in kg/m² mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag.

	BMI	
	Postoperativ	1. POD
SOCS1	0.104; $p=0.433$	0.008; $p=0.951$
SOCS3	-0.278; $p=0.033^*$	-0.083; $p=0.516$

1. POD: 1. postoperativer Tag; p : Signifikanz; (*) $p < 0,05$

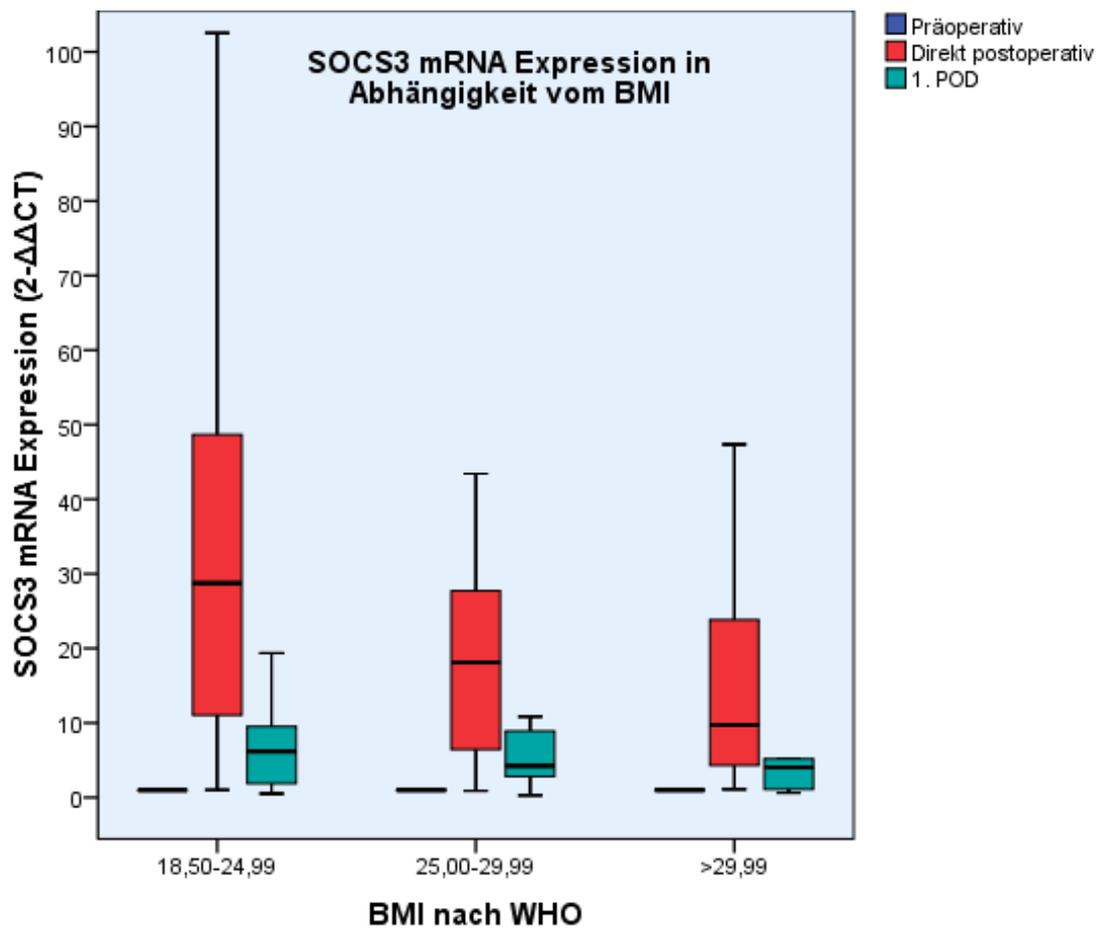


Abbildung 13: SOCS3 mRNA Expression i.B. in Abhängigkeit vom BMI
 Kruskal-Wallis-Global-Test: $p=0.047^*$, Post-Hoc-Analyse p jeweils > 0.05 .

Signifikante Unterschiede der Plasmakonzentrationen von IL-6, IL-10 und TNF α sowie der verschiedenen Leukozytenzellzahlen (Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten) in den drei verschiedenen BMI-Gruppen fanden sich zu keinem Messzeitpunkt. Signifikante Korrelationen des BMI mit den Plasmazytokinkonzentrationen (IL-6, IL-10, TNF α) oder Leukozytenzellzahlen (Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten) fanden sich ebenfalls nicht (Daten nicht gezeigt). Signifikante Unterschiede des BMI fanden sich zwischen in den 5 Operationszeitgruppen nicht.

3.6.3 Malignom

Die Studienpopulation wurde anhand des Kriteriums einer zum Studienzeitpunkt bekannten malignen Erkrankungen in zwei Gruppen aufgeteilt: maligne Erkrankung zum Stu-

dienzeitpunkt bekannt (n=52; 78,8%) versus keine maligne Erkrankung zum Studienzeitpunkt bekannt (n=14; 21,2%). Die histopathologischen Ergebnisse der durchgeführten Operationen wurden in die Gruppeneinteilung miteinbezogen.

SOCS1

Direkt postoperativ fand sich bezogen auf den Median kein signifikanter Unterschied der SOCS1 mRNA Expression i. B. zwischen den beiden Gruppen ($p=0.351$). Am ersten postoperativen Tag zeigte sich bei Patienten mit maligner Erkrankung bezogen auf den Median eine signifikant geringere SOCS1 mRNA Expression i.B. [0.6; 0.4 - 0.8; 0.3] als bei Patienten, die nicht an einem Malignom litten [0.8; 0.7 - 0.9; 0.2] (Mann-Whitney U-Test, $p < 0.001$). Dabei ist erwähnenswert, dass Patienten mit Malignom eine signifikant längere Operationszeit aufwiesen als Patienten, die nicht an einer malignen Erkrankung litten (Mann-Whitney U-Test, $p=0.002$). Im Mittel betrug die Operationszeit von Patienten mit maligner Erkrankung 279 min (Standardabweichung: 106 min) und bei Patienten ohne Malignom 185 min (Standardabweichung: 78 min). Ferner ging mit der verlängerten Operationszeit eine signifikant höhere mediane IL-6- sowie IL-10-Plasmakonzentration direkt postoperativ einher. Präoperativ und am ersten postoperativen Tag fand sich kein signifikanter Unterschied der Zytokinkonzentrationen im Plasma (s. Tabelle 12). Bezogen auf das Blutbild fand sich am ersten postoperativen Tag eine signifikant höhere Neutrophilenzahl i. B. bei Patienten, die an einem Malignom litten [Neutrophilenzahl am ersten postoperativen Tag: Patienten mit maligner Erkrankung: 8.7/nl; 6.6/nl-12.6/nl; 4.6// Patienten ohne maligne Erkrankung: 6.7/nl; 5.2/nl-9.5/nl; 2.7] (Mann-Whitney U Test; $p=0.030$). Im Weiteren fanden sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede der Neutrophilen-, Lymphozyten- oder Monozytenzellzahl i.B. (Daten nicht gezeigt).

SOCS3

Es ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede der SOCS3 mRNA Expression i. B. in Abhängigkeit vom Vorhandensein einer malignen Erkrankung (s. Tabelle 13).

Tabelle 12: Interleukin-6, Interleukin-10 und Tumornekrosefaktor α Konzentration im Plasma in Abhängigkeit vom Bestehen einer malignen Erkrankung.

	Maligne Erkrankung bekannt	Keine maligne Erkrankung bekannt	Signifikanter Unterschied der medianen Zytokin konzentration?
IL-6 Präoperativ in pg/ml	5.6 [2.2-11.1; 16.8]	3.0 [2.1-9.9; 5.0]	Nein, p=0.441
IL-6 Postoperativ in pg/ml	171.0 [83.4-402.0; 290.9]	100.0 [53.8-148.5; 258,3]	Ja, p=0.023*
IL-6 1. POD in pg/ml	106.0 [27.1-213.3; 252.0]	112.0 [44.4-359.5; 211.5]	Nein, p=0.423
IL-10 Präoperativ in pg/ml	5.0 [5.0-5.0; 1.0]	5.0 [5.0-5.0; 0.9]	Nein, p=0.919
IL-10 Postoperativ in pg/ml	49.7 [10.7-141.8; 132.7]	13.5 [5.0-30.9; 19.8]	Ja, p=0.006*
IL-10 1. POD in pg/ml	8.0 [5.5-12.3; 22.0]	7.7 [5.0-15.2; 5.3]	Nein, p=0.839
TNF α Präoperativ in pg/ml	8.8 [6.0-13.4; 8.2]	9.2 [7.0-12.4; 23.7]	Nein, p=0.987
TNF α Postoperativ in pg/ml	9.2 [6.6-14.0; 7.3]	10.0 [7.4-12.4; 5.7]	Nein, p=0.964
TNF α 1. POD in pg/ml	10.4 [7.8-12.1; 125.2]	11.0 [9.3-12.6; 7.9]	Nein, p=0.341

Angegeben ist der Median, Interquartilsbereich und Standardabweichung in eckigen Klammern. Mann-Whitney-U-Test

1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*) $p < 0,05$

3.6.4 Weitere soziodemografische Faktoren und Komorbiditäten

Das Patientenkollektiv wurde im Weiteren bzgl. folgender Faktoren unterteilt:

- *Alter*: 4 Untergruppen (< 60 Jahre, 60-69 Jahre, 70-79 Jahre, >79 Jahre)
- Bestehender *Nikotinkonsum* („ja“ bzw. „nein“)
- Vorhandensein eines medikamentös behandelten Diabetes mellitus („ja“ bzw. „nein“)

Es ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i. B. in Abhängigkeit von der Ausprägung der o.g. Faktoren (s. Tabelle 13).

Tabelle 13: SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression in Abhängigkeit von soziodemographischen Variablen sowie Vorerkrankungen.

Parameter	N (%)	G/F	SOCS1 Postoperativ	P	G/F	SOCS1 1. POD	P	G/F	SOCS3 postoperativ	P	G/F	SOCS3 1. POD	P
Alter				0.934			0.573			0.772			0.319
▪ < 60 Jahre	16 (24.2%)	15/1	1.8 [0.8-3.0; 1.8]		14/2	0.7 [0.4-0.8; 0.3]		15/1	18.1 [5.7-34.1; 14.0]		14/2	4.6 [1.3-8.5; 3.7]	
▪ 60-69 Jahre	30 (45.5%)	27/3	1.6 [1.1-2.1; 1.0]		30/0	0.6 [0.4-0.8 0.3]		27/3	17.9 [7.6-40.2; 26.6]		30/0	4.3 [1.8-8.3; 5.2]	
▪ 70-79 Jahre	17 (25.8%)	15/2	1.7 [1.1-3.1; 2.3]		16/1	0.8 [0.5-0.9; 0.4]		15/2	26.7 [6.9-47.3; 51.9]		16/1	8.6 [3.0-17.9; 7.6]	
▪ >79 Jahre	3 (4.5%)	2/1	2.1 [0.8 - -; 1.6]		3/0	0.7 [0.6 - -; 0.3]		2/1	13.9 [8.9 - -; 9.0]		3/0	6.4 [1.4 - -; 3.6]	
Geschlecht				0.573			0.036*			0.246			0.689
▪ Frauen	24 (36.4%)	22/2	1.6 [1.0-2.4; 1.1]		23/1	0.5 [0.3-0.7; 0.3]		22/2	23.7 [11.7-44.0; 25.7]		23/1	5.2 [1.9-8.4; 6.0]	
▪ Männer	42 (63.6%)	37/5	1.8 [1.0-3.0; 1.9]		40/2	0.7 [0.5-0.9; 0.3]		37/5	17.9 [6.4-37.8; 38.4]		40/2	5.1 [1.8-10.2; 6.0]	
BMI				0.906			0.993			0.047*;			0.405
▪ < 18.50	0 (0%)	-	-		-	-		-	-		-	-	
▪ 18.50-24.99	34 (51.5%)	31/3	1.6 [1.1-2.4; 1.4]		32/2	0.6 [0.5-0.9; 0.3]		31/3	28.7 [11.0-48.7; 42.7]	PA:	32/2	6.3 [1.9-10.1; 5.9]	
▪ 25.00-29.99	23 (34.8%)	20/3	1.8 [0.7-3.2; 2.2]		22/1	0.7 [0.4-0.8; 0.3]		20/3	16.4 [6.4-28.2; 13.1]	P jeweils > 0.05	22/1	4.3 [2.3-9.3; 5.3]	
▪ > 29.99	9 (13.6%)	8/1	1.7 [1.3-2.8 0,9]		9/0	0.7 [0.5-0.8 0.4]		8/1	9.7 [3.0-26.3; 15.8]		9/0	3.0 [1.1-5.2; 8.0]	
Nikotinkonsum				0.658			0.099			0.768			0.280
▪ Raucher	9 (13.6%)	9/0	1.6 [0.7-2.7; 1.0]		9/0	0.7 [0.6-1.0; 0.3]		9/0	20.3 [6.6-32.6; 15.8]		9/0	2.1 [1.4-7.2; 6.6]	
▪ Nichtraucher	57 (86.4%)	50/7	1.7 [1.1-2.6; 1.7]		54/3	0.6 [0.4-0.8; 0.3]		50/7	18.5 [7.0-39.8; 36.2]		54/3	5.3 [2.4-9.6; 5.9]	
Diabetes mellitus				0.965			0.433			0.223			0.203
▪ Ja	9 (13.6%)	8/1	1.6 [1.3-2.7; 1.5]		8/1	0.5 [0.4-0.8; 0.4]		8/1	10.7 [2.4-36.7; 17.3]		8/1	4.3 [2.1-5.2; 2.3]	
▪ Nein	57 (86.4%)	51/6	1.7 [1.0-2.5; 1.7]		55/2	0.7 [0.5-0.8; 0.3]		51/6	20.3 [7.8-39.7; 35.7]		55/2	5.9 [1.9-9.8; 6.2]	
Maligne Erkrankung				0.214			0.003*			0.407			0.529
▪ Ja	52 (78.8%)	46/6	1.7 [1.1-3.0; 1.8]		49/3	0.6 [0.4-0.8; 0.3]		46/6	19.1 [7.7-39.5; 34.9]		49/3	5.1 [2.0-8.7; 6.0]	
▪ Nein	14 (21.2%)	13/1	1.3 [0.8-2.1; 0.9]		14/0	0.8 [0.7-0.9; 0.2]		13/1	18.8 [5.5-43.2; 31.7]		14/0	6.0 [1.5-10.5; 5.9]	

Angegeben ist der Median [25. und 75. Perzentile; Standardabweichung]. Prüfung bzgl. signifikanter Subgruppenunterschiede: bei 2 möglichen Ausprägungen eines Parameters Verwendung des Mann-Whitney U Test. Bei mehr als 2 möglichen Ausprägungen („Alter“, „BMI“) Verwendung des Kruskal-Wallis-Test als Globaltest. Wenn $p < 0.05$: Post-Hoc-Analyse mittels paarweiser Vergleiche nach Dunn. N (Prozent): Anzahl der Pat. in den jeweiligen Subgruppen, in Klammern prozentualer Anteil am Gesamtkollektiv; G/F: Verhältnis gültiger (G) und fehlender (F) Werte für die SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Bestimmung; P: Signifikanz der Gruppenunterschiede; (*)= $p < 0,05$; 1. POD: 1. postoperativer Tag; PA: Post-Hoc-Analyse

3.7 Beeinflussung der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression durch perioperative Faktoren und Parameter des klinischen Verlaufs

Das Patientenkollektiv wurde ferner nach unterschiedlichen perioperativen Charakteristika sowie Parametern des klinischen Verlaufs in Untergruppen unterteilt.

Hierzu zählten:

- Primäres Zielorgan der Operation, unterteilt in 5 Untergruppen:
Leber mit Gallengangsystem (n=27, 40,9%), Dünn- bzw. Dickdarm (n=12, 18,2 %), Pancreas (n=15, 22,7 %), Magen und distaler Ösophagus (n=5, 7,6 %), andere Zielorgane (n= 7, 10,6 %) wie Niere, abdominelle Aorta oder Gebärmutter mit Adnexen
- Operationszeit: unterteilt in 5 Subgruppen („60-119 min“, „120-179 min“, „180-239 min“, „240-299 min“, „>= 300 min“)
- Auftreten einer postoperativen Infektion („ja“ bzw. „nein“)

Es ergaben sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i. B. in Abhängigkeit vom primären Zielorgan bzw. dem Auftreten einer POI (s. Tabelle 14).

Tabelle 14: SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression in Abhängigkeit von operativen und postoperativen Faktoren

Parameter	N (Prozent)	G/F	SOCS 1 postoperativ	P	G/F	SOCS 1 1. POD	P	G/F	SOCS3 postoperativ	P	G/F	SOCS3 1. POD	P
Primäres OP-Ziel-Organ				0.132			0.354			0.206			0.829
▪ Leber	27 (40.9%)	26/1	2.0 [1.4-3.4; 0.3]		25/2	0.6 [0.3-0.8; 0.3]		26/1	28.8 [8.7-41.2; 41.9]		25/2	6.2 [3.6-9.7; 6.2]	
▪ Darm	12 (18.2%)	9/3	1.3 [0.8-2.0; 0.9]		12/0	0.6 [0.2-1.1; 0.5]		9/3	17.51 [6.6-22.8; 30.6]		12/0	2.5 [1.4-7.8; 3.4]	
▪ Pancreas	15 (22.7%)	13/2	1.9 [2.5-1.2; 1.1]		15/0	0.6 [0.5-0.8; 0.3]		13/2	28.7 [8.5-43.9; 28.2]		15/0	6.4 [1.3-13.7; 6.2]	
▪ Magen	5 (7.6%)	4/1	0.9 [0.5-2.7; 1.3]		5/0	0.8 [0.5-0.9; 0.2]		4/1	7.5 [2.1-19.1; 9.1]		5/0	4.5 [2.8-20.0; 9.2]	
▪ andere	7 (10.6%)	7/0	1.1 [0.8-2.1; 0.6]		6/1	0.7 [0.5-0.8; 0.2]		7/0	14.9 [5.7-22.9; 16.3]		6/1	3.0 [0.8-8.1; 3.7]	
OP-Zeit				0.438			0.052			0.689			0.187
▪ 60-119 min	5 (7.6%)	5/0	1.3 [1.1-2.2; 0.7]		4/1	0.8 [0.5-1.4; 0.5]		5/0	14.6 [3.7-96.2; 49.1]		4/1	6.9 [3.2-15.8; 6.9]	
▪ 120-179 min	11 (16.7%)	11/0	1.4 [0.9-2.1; 1.4]		10/1	0.6 [0.5-0.9; 0.2]		11/0	14.9 [6.5-28.8; 15.9]		10/1	1.7 [0.7-7.7; 3.4]	
▪ 180-239 min	15 (22.7%)	13/2	2.0 [1.3-2.4; 1.3]		15/0	0.7 [0.6-0.9; 0.2]		13/2	20.3 [8.8-60.3; 54.8]		15/0	7.6 [4.0-13.7; 7.2]	
▪ 240-299 min	15 (22.7%)	11/2	2.0 [1.5-3.3; 2.5]		12/1	0.6 [0.2-0.9; 0.4]		11/2	29.1 [6.7-39.7; 15.2]		12/1	6.0 [4.1-8.9; 6.1]	
▪ > / = 300 min	11 (16.7%)	19/3	1.4 [0.7-3.1; 1.6]		22/0	0.5 [0.3-0.8; 0.3]		19/3	14.5 [7.1-33.4; 24.6]		22/0	3.5 [1.7-8.6; 5.3]	
Postoperative Infektion				0.319			0.731			0.438			0.575
▪ Ja	11 (16.7%)	8/3	0.8 [0.7-3.2; 1.6]		11/0	0.6 [0.5-0.9; 0.3]		8/3	10.9 [7.5-27.1; 34.5]		11/0	7.5 [1.9-16.1; 7.5]	
▪ Nein	55 (83.3%)	51/4	1.8 [1.2-2.4; 1.7]		52/3	0.7 [0.4-0.8; 0.3]		51/4	20.3 [6.9-39.7; 34.2]		52/3	5.1 [1.8-9.0; 5.6]	

Angegeben ist der Median [25. und 75. Perzentile; Standardabweichung]. Prüfung bzgl. signifikanter Subgruppenunterschiede: bei 2 möglichen Ausprägungen eines Parameters Verwendung des Mann-Whitney U Test. Bei mehr als 2 möglichen Ausprägungen („Alter“, „BMI“) Verwendung des Kruskal-Wallis-Test als Globaltest. Wenn $p < 0.05$: Post-Hoc-Analyse mittels paarweiser Vergleiche nach Dunn.

N: Anzahl der Pat. in den jeweiligen Subgruppen, in Klammern prozentualer Anteil am Gesamtkollektiv; G/F: Verhältnis gültiger (G) und fehlender (F) Werte für die SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Bestimmung aus dem Blut; P: Signifikanz der Gruppenunterschiede; (*) = $p < 0,05$; 1. POD: 1. postoperativer Tag.

3.7.1 Operationsdauer

Die Operationszeiten der 66 Patienten unterschieden sich z.T. beträchtlich. Nur eine Minderheit wurde kürzer als 120 min operiert (5 Patienten, 8%), knapp die Hälfte der Patienten wurde länger als 240 min operiert (35 Patienten, 53%), ein Drittel länger als 300 min (22 Patienten; 33%). Wie in Tabelle 15 und 16 dargestellt, fand sich eine signifikant positive Korrelation der IL-6- und IL-10-Plasmaspiegel mit der Dauer der Operation. Längere Operationszeiten gingen direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag mit höheren IL-6- bzw. am ersten postoperativen Tag mit höheren IL-10-Plasmaspiegeln einher. Wenngleich sich keine signifikanten Änderungen der medianen TNF α -Plasmakonzentration zu den drei Messzeitpunkten ergaben (s. hierzu Abschnitt 3.4.1), fand sich jedoch direkt postoperativ eine gut ausgeprägte, signifikante Korrelation der TNF α -Konzentration mit der Operationsdauer (s. Tabelle 16). Längere Operationszeit waren also auch mit höheren TNF α -Spiegeln im Plasma assoziiert.

Tabelle 15: Interleukin-6 bzw. Interleukin-10-Plasmakonzentration (pg/ml) in Abhängigkeit von der Operationsdauer (Einteilung in 5 Untergruppen)

Operationszeit	IL-6 Prä- operativ in pg/ml	IL-6 Post- operativ in pg/ml	IL-6 1. POD in pg/ml	IL-10 Prä- operativ in pg/ml	IL-10 Post- operativ in pg/ml	IL-10 1. POD in pg/ml
▪ 60-119 min n=5	2.5 [2.1-13.9]	74.4 [38.3- 134.5]	41.2 [35.8]	5.0 [5.0-5.0]	5.0 [5.0-9.3]	5.0 [5.9]
▪ 120-179 min n=11	3.0 [2.2-8.6]	75.0 [53.7- 148.0]	62.0 [38.8- 107.2]	5.0 [5.0-5.0]	10.7 [5.3-70.9]	5.0 [5.0-9.4]
▪ 180-239 min n=15	5.8 [2.3-11.6]	139.0 [90.5- 446.0]	112.0 [16.4-227]	5.0 [5.0-5.0]	27.0 [11.2- 105.5]	7.9 [5.0-15.1]
▪ 240-299 min n=13	2.3 [2.0-4.9]	97.4 [79.9- 373.0]	38.8 [22.0- 137.5]	5.0 [5.0-5.0]	146.0 [85.6- 200.0]	7.7 [5.1 -10.1]
▪ >299 min n=22	7.6 [3.8-13.1]	257.0 [146.3-665]	179.0 [107-463]	5.0 [5.0-5.7]	35.7 [15.6-85.0]	10.9 [7.5-14.8]

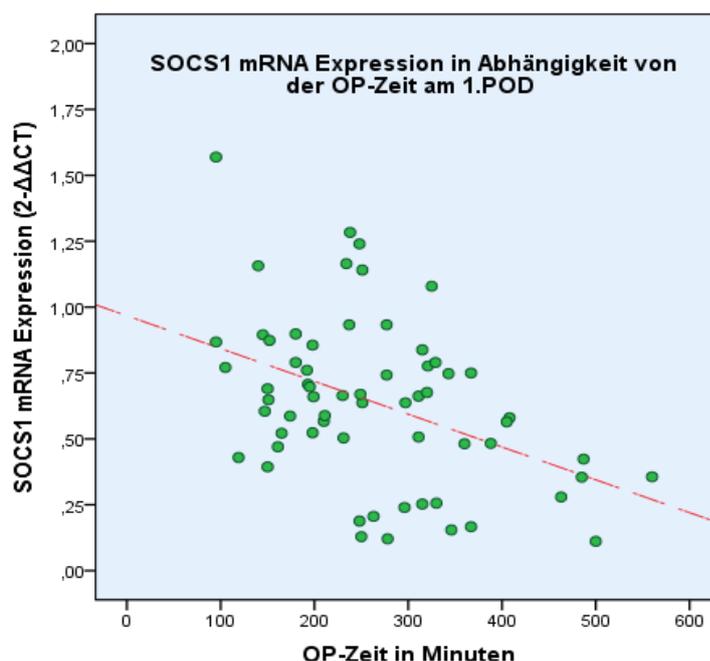
Angegeben ist der Median, Interquartilsbereich in eckigen Klammern. 1. POD= 1. postoperativer Tag

Tabelle 16: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Operationszeit in Minuten mit den Plasmaspiegeln von Interleukin-6, Interleukin-10 bzw. TNF α direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

Operationszeit	IL-6 postoperativ	IL-6 1. POD	IL-10 Postoperativ	IL-10 1. POD	TNF α postoperativ	TNF α 1. POD
Spearman Rho rs	0.490* p< 0.001	0.357* p=0.03	0.309 p=0.102	0.380* p=0.018	0.426* p=0.006	0.095 p=0.814

min: Minuten; 1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*) $p < 0,05$

IL-6, IL-10 und TNF α können als potente Induktoren der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression fungieren. Um zu prüfen, ob die Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 i.B. mit der Operationszeit korreliert, wurde das Studienkollektiv in Abhängigkeit von der Operationsdauer in 5 Untergruppen aufgeteilt. Zwar ergaben sich zwischen den 5 Untergruppen keine signifikanten Unterschiede der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. (Daten nicht gezeigt). Allerdings korrelierte am ersten postoperativen Tag die Operationsdauer negativ mit der SOCS1 mRNA Expression i.B. (Spearman Rho rs: -0.396; p=0.001), was bedeutet, dass Patienten mit kürzerer Operationszeit am ersten postoperativen Tag eine höhere SOCS1-Expression i.B. aufwiesen als Patienten die länger operiert wurden. Andere signifikante Korrelationen zwischen Operationszeit und SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. fanden sich nicht (s. Abbildung 14).



	Operationsdauer	
	Postoperativ	1. POD
SOCS1	-0.081; p=0.544	-0.396; p=0.001*
SOCS3	-0.122; p=0.357	-0.068; p=0.595

Abbildung 14: Spearman-Korrelation (Rangkorrelationskoeffizient Rho) der Operationsdauer mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 im Blut direkt postoperativ und am 1. postoperativen Tag

1. POD: 1. postoperativer Tag; p: Signifikanz; (*) $p < 0,05$.

Wie bereits erwähnt (s. Abschnitt 3.8.1) fanden sich Hinweise, dass die Expression der SOCS1 mRNA i.B. am ersten postoperativen Tag bei den weiblichen Patienten bezogen auf den Median signifikant geringer ausgeprägt war. Die Operationsdauer war hierfür jedoch nicht der ausschlaggebende Faktor. Die medianen Operationszeiten von männlichen und weiblichen Patienten unterschieden sich nicht signifikant [Mann-Whitney-U-Test: $p=0.143$].

3.7.2 Postoperative Infektionen

11 der 66 Patienten (16.7%) entwickelten eine postoperative Infektion. Davon litten 8 Patienten an Wundinfekten (72.7% der Patienten mit POI), 2 Patienten an einer Pneumonie (18.2% der Patienten mit POI) sowie ein Patient an einem Harnwegsinfekt (9.1% der Patienten mit POI). 2 Patienten entwickelten binnen drei Tagen nach der Operation einen Infekt (18.2% der Patienten mit POI). Die restlichen Patienten erkrankten zwischen dem

fünftens und 15. postoperativen Tag an einer Infektion (81.8% der Patienten mit POI). Es fanden sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i.B. zwischen Patienten, die eine POI entwickelten und Patienten bei denen dies nicht der Fall war (s. Tab 14). Sowohl das Auftreten einer POI, der Zeitpunkt der Diagnose als auch die Art der Infektion waren zu keinem Zeitpunkt signifikant mit der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i.B. assoziiert (Daten nicht gezeigt).

3.8 Einfluss der Operationsdauer, des Vorhandenseins einer malignen Erkrankung sowie der Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentration auf die *SOCS1* mRNA Expression im Blut

Zusammengefasst fand sich in den bislang erörterten Untersuchungen ein Einfluss der folgenden Faktoren auf die *SOCS1* mRNA Expression i.B.:

- a) direkt postoperativ: IL-10 Konzentration im Plasma
- b) erster postoperative Tag: Geschlecht, Vorhandensein eines Malignoms, Dauer der Operation.

Der Einfluss dieser Faktoren sowie deren Gewichtung wurden mittels multipler linearer Regression geprüft. Hier bestätigte sich der Einfluss der Interleukin-10-Plasmakonzentration auf die *SOCS1* mRNA Expression i.B. direkt postoperativ ($p < 0.001$). Zu diesem Messzeitpunkt fand sich kein signifikanter Einfluss auf die *SOCS1* mRNA Expression i.B. durch die IL-6-Plasmakonzentration, die Operationsdauer oder das Bestehen einer malignen Erkrankung (s. Tabelle 17). Am ersten postoperativen Tag fand sich kein signifikanter Einfluss der Plasmazytokine IL-6 und IL-10 sowie des Vorhandenseins eines Malignoms auf die *SOCS1* Expression. Jedoch bestätigte sich der Einfluss der Operationsdauer ($p = 0.009$) sowie des Geschlechts ($p = 0.006$) (s. Tabelle 18). Hierbei war eine längere Operationsdauer sowie weibliches Geschlecht mit einer niedrigeren *SOCS1* mRNA Expression i.B. assoziiert. Der Einfluss der Operationsdauer war gering-gradig stärker ausgeprägt als der des Geschlechts.

Tabelle 17: Multiple lineare Regression für den Einfluss der Parameter Interleukin-10-Plasmakonzentration, Interleukin-6-Plasmakonzentration, Vorhandensein einer malignen Erkrankung und Operationsdauer auf die relative mRNA Expression von SOCS1 im Blut direkt postoperativ

Parameter	Angepasstes R ²	Stand. BETA	Standardfehler	P
SOCS1 postoperativ Modell	0.259			0.001*
▪ Konstante		-	0.527	0.002*
▪ Interleukin-10 Immulate TM		0.509	0.002	<0.001*
▪ Interleukin-6 Immulate TM		0.238	0.001	0.152
▪ Maligne Erkrankung		0.070	0.503	0.588
▪ Operationsdauer		-0.146	0.002	0.277

Angepasstes R²= Bestimmtheitsmaß, Stand. BETA = standardisierter Regressionskoeffizient, P = Signifikanz, (*) = $p < 0.05$

Tabelle 18: Multiple lineare Regression für den Einfluss der Parameter Interleukin-10-Plasmakonzentration, Interleukin-6-Plasmakonzentration, Vorhandensein einer malignen Erkrankung, Operationsdauer, und Geschlecht auf die relative mRNA Expression von SOCS1 im Blut am 1. postoperativen Tag

Parameter	Angepasstes R ²	Stand. BETA	Standardfehler	P
SOCS1 1. POD Modell	0.222			0.002*
▪ Konstante		-	0.145	<0.001*
▪ Interleukin-10 Immulate TM		-0.033	0.002	0.841
▪ Interleukin-6 Immulate TM		0.115	0.001	0.529
▪ Maligne Erkrankung		-0.133	0.092	0.323
▪ Operationsdauer		-0.410	0.001	0.009*
▪ Geschlecht		0.344	0.070	0.006*

Angepasstes R²= Bestimmtheitsmaß, Stand. BETA= standardisierter Regressionskoeffizient, P= Signifikanz, (*) = $P < 0.05$, 1. POD=1. postoperativer Tag

3.9 Einfluss der Operationsdauer, des Body Mass Index sowie der Interleukin-6- und Interleukin-10-Plasmakonzentration auf die SOCS3 mRNA Expression im Blut

In der multiplen linearen Regression bestätigte sich der Einfluss des BMI auf die SOCS3 mRNA Expression i.B. direkt postoperativ ($p=0.038$). Hierbei war ein hoher BMI mit einer niedrigen SOCS3 mRNA Expression i.B. assoziiert. Ferner zeigte sich ein signifikanter Einfluss der IL-10-Plasmakonzentration auf die SOCS3 mRNA Expression i.B. direkt postoperativ ($p=0.019$). Höhere IL-10-Spiegel waren hierbei mit einer stärkeren SOCS3 mRNA Expression assoziiert. Der Einfluss des IL-10-Plasmaspiegels war leicht stärker ausgeprägt als der des BMI. Die IL-6-Plasmakonzentration bzw. die Operationsdauer zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die SOCS3 mRNA Expression i.B. direkt postoperativ (s. Tabelle 19). Ein signifikantes Modell einer multiplen linearen Regression zur SOCS3 Expression am ersten postoperativen Tag ergab sich mit den Parametern IL-6- sowie IL-10-Plasmaspiegel, BMI und Operationsdauer auch unter Ausschluss einzelner Parameter nicht.

Tabelle 19: Multiple lineare Regression für den Einfluss der Parameter Interleukin-10-Plasmakonzentration i.B., Interleukin-6-Plasmakonzentration, BMI und Operationsdauer auf die relative mRNA Expression von SOCS3 im Blut direkt postoperativ

Parameter	Angepasstes R ²	Stand. BETA	Standardfehler	P
SOCS3 postoperativ Modell	0.137			0.020*
▪ Konstante			30.266	0.002*
▪ Interleukin-10 Immulate TM		0.305	0.035	0.019*
▪ Interleukin-6 Immulate TM		0.107	0.017	0.439
▪ BMI		-0.269	1.128	0.038*
▪ Operationsdauer		-0.263	0.043	0.060

Angepasstes R²= Bestimmtheitsmaß, stand. BETA= standardisierter Regressionskoeffizient, P= Signifikanz, (*) = $P < 0.05$

4 Diskussion

Jeder chirurgische Eingriff führt über unterschiedliche Faktoren - wie das assoziierte Gewebetrauma, die Narkose bzw. die verwendeten Anästhetika, Blutverlust bzw. Substitution von Blutprodukten, das etwaige Einbringen von Fremdmaterial oder Eindringen von Pathogenen in die Wunde sowie anderen Faktoren – zu einer Reaktion des Immunsystems. Je nach Ausmaß der o.g. Begleitfaktoren ist diese Antwort lokal auf den Ort der Schädigung begrenzt oder es kommt zusätzlich zu einer systemischen Immunreaktion. Diese Immunreaktion ist unter anderem durch die systemische Freisetzung proinflammatorischer und immunmodulatorischer Zytokine, eine Störung der Monozytenfunktion sowie die Verschiebung des T-Helferzell-Gleichgewichts zu Gunsten der Th-2-Antwort gekennzeichnet. Um eine unzureichende oder überschießende Immunantwort zu verhindern, unterliegen die Reaktionen des Immunsystems unterschiedlichen Regulationsprozessen.

SOCS-Proteine regulieren in unterschiedlichsten Zell- bzw. Gewebetypen die Wirkung von Zytokinen und anderen Gewebshormonen. Sie können Einfluss nehmen auf die Proliferation und Funktion verschiedener Zellen des Immunsystems.

Ziel dieser Arbeit war zu klären, ob die Genexpression von *SOCS1* sowie *SOCS3* im Rahmen der perioperativen Immunantwort großer, elektiver abdominal-chirurgischer Eingriffe bei Patienten mit erhöhtem peri- und postoperativem Komplikationsrisiko (ASA P3 und P4) im Blut induziert wird, und ob sich Einflussfaktoren auf die Expression sowie Effektorfunktionen von *SOCS1* bzw. *SOCS3* identifizieren lassen.

4.1 Perioperative mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3*

In der aktuellen Literatur finden sich keine systematischen Informationen über die Expression von *SOCS1* und *SOCS3* im Vollblut bzw. in spezifischen Zellen des Blutes, weder auf Gen- noch auf Proteinebene. Anhand einzelner Studien kann u.a. mit Hilfe der Messungen von Proben gesunder Kontroll-Probanden auf die Expression in verschiedenen Leukozyten-Subpopulationen geschlossen werden. So zeigte sich in mehreren Arbeiten eine gering ausgeprägte, konstitutive mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* in humanen Monozyten des Blutes [113-115]. Auch in Lymphozyten und neutrophilen

Granulozyten des Blutes fand sich z.T. eine gering ausgeprägte, konstitutive mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* [115-117].

In der vorliegenden Arbeit wurde die *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression im Vollblut bestimmt. Präoperativ fanden sich in allen untersuchten Vollblut-Proben geringe Mengen *SOCS1* und *SOCS3* mRNA.

Direkt nach Beendigung der Operation ließ sich ein signifikanter Anstieg der medianen *SOCS1* sowie *SOCS3* mRNA Expression i.B. nachweisen (p jeweils <0.001). Der Anstieg der *SOCS1* mRNA Expression war jedoch bezogen auf die verwandte Messmethode – quantitative Realtime PCR – sehr gering ausgeprägt. Die mediane mRNA Expression von *SOCS3* i.B. hingegen stieg direkt postoperativ auf nahezu das 19-fache des Ausgangsniveaus. Am ersten postoperativen Tag kam es zu einem signifikanten Abfall der *SOCS1* und *SOCS3* mRNA Expression i.B. Hierbei fiel die mediane *SOCS1* Expression auf ca. 65% Prozent des präoperativen Niveaus, was formal einer Suppression der Expression entspricht. Auch zu diesem Messzeitpunkt waren die Änderungen der *SOCS1* mRNA Expression jedoch lediglich gering ausgeprägt, wenngleich statistisch signifikant ($p < 0.001$). Die mediane *SOCS3* mRNA Expression i.B. fiel am ersten postoperativen Tag auf das annähernd 5-fache des präoperativen Wertes.

Ein Grund für den unterschiedlich starken Anstieg bzw. Abfall der Expression könnte die unterschiedliche Sensitivität der Induktion von *SOCS1* bzw. *SOCS3* durch verschiedene Zytokine sein. So wird *SOCS1* allen voran durch IFN γ und andere Interferone induziert. Im Serum bzw. Plasma ist IFN γ perioperativ allerdings meist nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen messbar [20].

Im Weiteren kann aus den Korrelationsanalysen vermutet werden, dass die Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* zellspezifisch induziert wird, das heißt in den unterschiedlichen Leukozyten-Subtypen differiert die Expression. Da diese Subtypen – Neutrophile, Monozyten, verschiedene Lymphozytenspezies – jedoch zahlenmäßig unterschiedlich im Blut repräsentiert sind und eine quantitative Bestimmung der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression aus dem Vollblut erfolgte, bildet sich die zellspezifische Induktion der Expression in der vorliegenden Arbeit nicht ab.

So beobachteten beispielsweise Rastmanesh et al. in 2 Studien zur chronischen Niereninsuffizienz und deren Auswirkungen auf das Immunsystem bei gesunden Kontroll-Probanden eine zellspezifische mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* [116, 117].

In Lymphozyten überwog deutlich die *SOCS1* mRNA Expression, in Monozyten jedoch die *SOCS3* mRNA Expression und zwar unabhängig von der Stimulation mit induzierenden Zytokinen. Dies ist kongruent mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit.

Die Induktion von *SOCS1* bzw. *SOCS3* im Rahmen der perioperativen Immunantwort wurde bislang kaum in Studien untersucht. Aktuell finden sich in der Literatur zwei Publikationen, die die mRNA Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* vor und nach elektiven Operationen beschreiben. Kolseth et al. [103] untersuchten 19 Patienten, die sich aufgrund eines Kolon-Karzinoms einer laparoskopischen Kolon-Resektion unterzogen. Gemessen wurde u.a. die *SOCS1* und *SOCS3* mRNA-Expression in peripheren Monozyten des Blutes. Die Messungen erfolgten präoperativ, direkt postoperativ sowie jeweils an den ersten drei postoperativen Tagen. Bezüglich der *SOCS1* mRNA-Expression zeigte sich direkt postoperativ ein signifikanter Anstieg. Bis zum 3. postoperativen Tag fiel die Expression auf das präoperative Niveau zurück. Die Expression von *SOCS3* stieg postoperativ ebenfalls an. Das Maximum der Expression fand sich – im Gegensatz zur vorliegenden Untersuchung – jedoch am zweiten postoperativen Tag, gefolgt von einem steilen Abfall am darauffolgenden Tag. Das Expressionsniveau von *SOCS1* und *SOCS3* in den peripheren Monozyten des Blutes war zum Zeitpunkt der maximalen Induktion vergleichbar ausgeprägt. Die in der vorliegenden Studie postoperativ ausgeprägte Diskrepanz der mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* fand sich nicht. In der zweiten Untersuchung von Dossow et al. [55] wurden 33 Patienten untersucht, die sich einer kardialen Bypass-Operation unterzogen. Im Mittelpunkt der Studie stand der Vergleich der perioperativen Immunantwort unter Verwendung von Fentanyl bzw. Remifentanyl zur Analgosedierung. Bestimmt wurde u.a. die mRNA Expression von *SOCS3* im Vollblut, nicht die mRNA Expression von *SOCS1*. Die Messungen erfolgten präoperativ sowie am ersten und zweiten postoperativen Tag. Es fand sich ein signifikanter Anstieg der *SOCS3* mRNA Expression am ersten postoperativen Tag, vergleichbar mit dem Expressionsniveau am ersten postoperativen Tag in der vorliegenden Untersuchung. Am zweiten postoperativen Tag fiel die Expression ab, es zeigte sich zu diesem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied der Expression in den 2 Gruppen, mit einer signifikant höheren *SOCS3* mRNA Expression in der Fentanylgruppe. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse dieser beiden Untersuchungen mit der vorliegenden Arbeit ist eingeschränkt. Gemeinsam ist allen Studien ein transienter postoperativer Anstieg der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Ex-

pression. Die zeitliche Dynamik dieses Anstieges sowie das Expressionsniveau am ersten postoperativen Tag sind in der vorliegenden Arbeit sowie in der Untersuchung von Dossow et al. vergleichbar, wenngleich in letzterer lediglich SOCS3 untersucht wurde und keine Messung direkt postoperativ erfolgte. Das gleiche relative Expressionsniveau zwischen SOCS1 und SOCS3 am Tag der maximalen Expression sowie der protrahierte Anstieg der SOCS3 Expression in der Arbeit von Kolseth et al. stellen eindeutig Unterschiede zu der vorliegenden Arbeit dar. Dies könnte auf die unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien und eine möglicherweise zellspezifische Induktion der SOCS-Expression zurückzuführen sein. So wurden in der Untersuchung von Kolseth et al. periphere Monozyten des Blutes untersucht, keine Vollblutproben wie in der vorliegenden Arbeit. Ferner ergibt sich eine eingeschränkte Beurteilbarkeit aufgrund der unterschiedlichen Basischarakteristika der Studien wie beispielsweise der eingeschlossenen Patientenzahl, dem primären Operationsziel, der Operationstechnik (Laparoskopie vs. Thorakotomie vs. Laparatomie), der verwandten Anästhetika und der z.T. differierenden Messzeitpunkte.

Im Weiteren fand sich in der Literaturrecherche eine Publikation von Brumann et al. [118], in der u.a. die SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression in neutrophilen Granulozyten des Blutes bei polytraumatisierten Patienten untersucht wurde. Eingeschlossen wurden 20 Patienten, die ein stumpfes Trauma erlitten hatten und einen *New Injury Severity Score* > 16 Punkte zum Zeitpunkt der Krankenhauseinlieferung aufwiesen. Die Krankenhauseinlieferung musste binnen 90 min nach dem Trauma erfolgt sein. Patienten, die innerhalb der ersten 24 Stunden nach Einlieferung verstarben, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Die Messung der mRNA Expression erfolgte zum Zeitpunkt der Einlieferung sowie 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach dem Trauma. Im Vergleich zum Zeitpunkt der Einlieferung kam es 6 bis 72 Stunden nach dem Trauma zu einem Abfall der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression in neutrophilen Granulozyten des Blutes. Für SOCS1 war dieser Abfall statistisch signifikant. Aufgrund des anderen Mechanismus des Gewebeschadens, der multiplen Verletzungen der Patienten in der Untersuchung von Brumann et al. sowie weiterer differierender Begleitumstände wie z.B. die unterschiedlichen Messzeitpunkte der mRNA Expression, ist eine Vergleichbarkeit der Befunde mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung nur bedingt möglich. Interessant ist jedoch, dass die in neutrophilen Granulozyten gemessene mRNA Expression von SOCS1 und SOCS3 in ihrer Relation zueinander näherungsweise dem Verhältnis der SOCS1 und SOCS3

mRNA Expression in der vorliegenden Studie entspricht, in der die Bestimmung aus Vollblut-Proben erfolgte. So fanden sich in der Studie von Brumann et al. zum Zeitpunkt der Krankhauseinlieferung für *SOCS1* ca. 220 Kopien/ng mRNA in Neutrophilen. Die mRNA Expression von *SOCS3* in neutrophilen Granulozyten überwog dies um ein Vielfaches und betrug zum Einlieferungszeitpunkt ca. 240000 Kopien/ng mRNA. Da neutrophile Granulozyten die mit Abstand häufigste Leukozytenspezies im Blut sind, ist anzunehmen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung vor allem die Expression in Neutrophilen i.B. widerspiegelt. Die Studie von Brumann et al. unterstützt diese Annahme. Im Weiteren scheint der Verlauf der *SOCS1* und *SOCS3* mRNA Expression in der Studie von Brumann et al. und der vorliegenden Untersuchung vergleichbar, wenngleich das Expressionsniveau vor bzw. zum Zeitpunkt des Traumas bei den polytraumatisierten Patienten nicht bekannt ist. Zumindest das Expressionsniveau von *SOCS3* in Neutrophilen zum Zeitpunkt der Krankhauseinlieferung lässt jedoch auf eine starke Induktion der *SOCS3* mRNA Expression durch das Trauma schließen. Ferner legen diese Befunde nahe, dass es im Rahmen großer Gewebetraumata vor allem zu einer Induktion von *SOCS3* in Neutrophilen kommt. Die Induktion von *SOCS1* scheint, wenn überhaupt, nur sehr gering ausgeprägt, mit einer möglicherweise aktiven Supprimierung der *SOCS1* Expression im weiteren Verlauf nach dem Gewebetrauma.

4.2 SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Kontext der Zytokin-Antwort

Interleukin-6 - IL-6 wird gemeinhin als proinflammatorisches Zytokin beschrieben, welches physiologischerweise als Reaktion auf das chirurgische Trauma vor allem von Monozyten und Makrophagen sezerniert wird [34]. Shenkin et al. zeigten an Patienten, die sich einer elektiven Cholezystektomie unterzogen, dass es bereits 90 min nach Inzision zu einem signifikanten Anstieg der IL-6-Serumkonzentration kommt. Ferner korrelierte die IL-6-Plasmakonzentration in einer anderen Untersuchung positiv mit der Länge der Operation [14]. Die Angaben über den Zeitpunkt der maximalen IL-6-Plasma- bzw. -Serumkonzentration variieren zwischen 4 bis 48 h post-operationem bei einem komplikationslosen operativen Verlauf [11, 12]. In Einklang mit diesen Publikationen zeigte sich in der vorliegenden Untersuchung direkt postoperativ ein deutlicher und signifikanter Anstieg der IL-6-Plasmakonzentration mit lediglich mäßigem Abfall am ersten postoperativen Tag.

IL-6 ist ein potenter und rascher Induktor von *SOCS3* und in geringerem Maße auch von *SOCS1*. Bereits 30-60 min nach Stimulation mit IL-6 fanden unterschiedliche Arbeitsgruppen einen signifikanten Anstieg der *SOCS3* mRNA Expression in humanen Monozyten und Makrophagen, dendritischen Zellen sowie CD4+-T-Zellen [83, 88, 114]. Überraschenderweise fand sich in der vorliegenden Untersuchung zu keinem Messzeitpunkt eine signifikante Korrelation der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression mit der IL-6-Plasmakonzentration, obgleich es jeweils zeitgleich zu einem Anstieg bzw. Abfall der mRNA Expression und der IL-6-Plasmakonzentration kam. Auch in der Regressionsanalyse konnte kein signifikanter Einfluss des IL-6-Plasmaspiegels auf die *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i.B. gezeigt werden.

Sowohl *SOCS1* als auch *SOCS3* werden durch eine Vielzahl an Mediatoren induziert, IL-6 ist nur eines hiervon. Im Rahmen der perioperativen Immunantwort werden lokal und systemisch eine Vielzahl unterschiedlicher Zytokine und Gewebshormone sezerniert. Nur ein Teil dieser wurde in der vorliegenden Untersuchung bestimmt. Aufgrund der Vielzahl an Induktoren könnte der Nachweis einer Korrelation mit dem IL-6-Plasmaspiegel erschwert sein.

Ferner finden sich aktuell keine Publikationen, die die Induktion von *SOCS1* bzw. *SOCS3* durch IL-6 in neutrophilen Granulozyten untersucht haben. In der vorliegenden Arbeit wurden Vollblutproben untersucht. Neutrophile Granulozyten sind quantitativ die mit Abstand größte Leukozyten-Spezies. Eine Deutung des erhobenen Befunds könnte sein, dass IL-6 nicht oder nur in sehr geringem Anteil zur Induktion der mRNA Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* in Neutrophilen beiträgt.

Ferner fand die Arbeitsgruppe um Braun et al. anhand eines Computermodells sowie Microarray-Untersuchungen Hinweise, dass die Induktion von *SOCS3* durch IL-6 nur ein transientes Phänomen ist. So kam es 30 min nach Stimulation mit IL-6 zu einer signifikanten Induktion der *SOCS3* mRNA Expression, diese fiel jedoch binnen 90 min auf nahezu das Ausgangsniveau zurück. Im Unterschied hierzu überdauerte die Induktion der *SOCS3* mRNA Expression durch IL-10 den Beobachtungszeitraum (120 min) [119]. Da es bei abdominal-chirurgischen Operationen wie von Shenkin et al. beschrieben bereits 90 min nach Inzision zu einem signifikanten Anstieg der IL-6-Konzentration im Serum bzw. Plasma kommt [14], wäre vorstellbar, dass 150 min bis 180 min nach Inzision - trotz

in diesem Falle anhaltender Stimulation durch IL-6 - keine Korrelation der IL-6-Plasmakonzentration mit der SOCS3 mRNA Expression mehr nachweisbar ist. In der vorliegenden Untersuchung betrug die Operationszeit von 16 Patienten (24 %) 60-179 min, der überwiegende Anteil der Studienpopulation wurde länger als 179 min operiert (50 Patienten, 76 %). In der für beide Gruppen getrennt durchgeführten Korrelationsanalyse fand sich jedoch weder für die Gruppe der Patienten, die kürzer als 180 min operiert wurden, noch für die Patienten, deren Operationszeit länger als 180 min war, eine signifikante Korrelation der IL-6-Plasmakonzentration mit der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. Aktuell bleibt der Hintergrund dieses Teilergebnisses der vorliegenden Arbeit offen.

Interleukin-10

Parallel zum Anstieg des pro-inflammatorischen IL-6 kam es direkt postoperativ zu einem signifikanten Anstieg der IL-10-Plasmakonzentration. Im Gegensatz zu IL-6 zeigte sich jedoch bereits am ersten postoperativen Tag ein deutlicher Abfall der IL-10-Konzentration im Plasma auf nahezu das Ausgangsniveau. Dies entspricht dem in der Literatur beschriebenen Verlauf. So zeigten sowohl Hildebrandt et al. als auch die Arbeitsgruppe um Ogata, dass es im Rahmen elektiver abdomineller Operationen zu einem Anstieg der IL-10-Plasmaspiegel kommt, mit einem Peak direkt nach Extubation bzw. 6 h postoperativem. Binnen 24 bis 48 h nach der Operation fiel der IL-10-Plasmaspiegel in diesen Untersuchungen jeweils auf das Ausgangsniveau zurück [25, 44].

Ding et al. zeigten anhand eines murinen Zellkulturmodells, dass IL-10 ein wirksamer Induktor der SOCS1-mRNA Expression in myeloiden Zellen, proB-Zellen, CD4+-T-Zellen sowie Mastzellen ist. Die Induktion der mRNA Expression in diesem Modell erfolgte rasch. Bereits nach 30 min liess sich eine signifikante Steigerung der Expression nachweisen, welche nach einmaligem IL-10-Stimulus bis zu 90 min überdauerte [120]. Zur Induktion der SOCS1 mRNA- bzw. -Protein-Expression durch IL-10 in neutrophilen Granulozyten finden sich in der Literatur aktuell keine Angaben. Ähnlich rasch wie die Stimulation der SOCS1 mRNA Expression in o.g. Zellen, erfolgt die Induktion der SOCS3 mRNA Expression in Monozyten und neutrophilen Granulozyten. So zeigten Ito et al., dass sich SOCS3 mRNA 30 bis 120 min nach einmaliger Stimulation mit IL-10 in humanen Monozyten nachweisen liess [121]. Cassatella et al. beschrieben eine nahezu idente

Dynamik der IL-10-induzierten SOCS3-mRNA Expression in neutrophilen Granulozyten [122].

In der vorliegenden Untersuchung ließ sich parallel zum perioperativen Verlauf der IL-10-Plasmakonzentration ein signifikanter Anstieg bzw. Abfall der SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression i.B. verzeichnen. In der Korrelationsanalyse fand sich direkt postoperativ eine signifikante Korrelation der IL-10-Plasmakonzentration mit der SOCS1 mRNA Expression i.B. So ging zu diesem Zeitpunkt ein höherer IL-10-Plasmaspiegel mit einer höheren SOCS1 mRNA Expression i.B. einher und vice versa (Spearman-Rho: 0.455; $p < 0.001$). Der Einfluss der IL-10-Plasmakonzentration auf die mRNA Expression von SOCS1 direkt nach Ende der Operation bestätigte sich in der Regressionsanalyse (stand. Beta-Koeffizient: 0.509, $p < 0.001$).

Zwar fand sich in der Korrelationsanalyse zu keinem Messzeitpunkt eine signifikante Korrelation der IL-10-Plasmakonzentration mit der SOCS3 mRNA Expression i.B., allerdings zeigte sich in der Regressionsanalyse direkt nach Ende der Operation ein signifikanter Einfluss der IL-10-Plasmakonzentration auf die SOCS3 mRNA Expression i.B. (stand. Beta-Koeffizient: 0.305, $p = 0.019$). So war eine höhere IL-10-Plasmakonzentration mit einer stärkeren SOCS3 mRNA-Expression i.B. assoziiert. Dies ist ein erwartbares Ergebnis, da IL-10 insbesondere in neutrophilen Granulozyten, den zahlenmäßig am häufigsten vorkommenden Zellen im Blut, ein potenter Induktor der SOCS3 mRNA Expression ist [121, 122].

Am ersten postoperativen Tag fiel die IL-10-Konzentration im Plasma auf das niedrige Ausgangsniveau zurück, so dass eine relevante Induktion der SOCS1 bzw. SOCS3 mRNA Expression i.B. durch IL-10 nicht zu erwarten war.

Tumornekrosefaktor-alpha

Peri- und postoperativ ist TNF α im Plasma bzw. Serum meist nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen nachweisbar [25, 30]. Ursächlich ist möglicherweise die kurze Halbwertszeit bzw. Bindung an lösliche TNF α -Rezeptoren, wodurch TNF α der Detektion im Plasma bzw. Serum entgeht. In Einklang mit diesen Befunden kam es in der vorliegenden Untersuchung zu keinem Messzeitpunkt zu einer signifikanten Änderung der TNF α -Konzentration im Plasma. Eine Assoziation bzw. Korrelation mit der mRNA Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 i.B. fand sich nicht.

4.3 SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Kontext der zellulären Immunantwort

Neutrophile Granulozyten

Erwartungsgemäß kam es direkt postoperativ zu einem signifikanten Anstieg der Neutrophilenzahl i.B., welcher den ersten postoperativen Tag überdauerte. Dies entspricht der klinischen Erfahrung sowie den in der Literatur publizierten Daten [8, 46]. Die Granulopoese bzw. Zahl der Granulozyten i.B. wird maßgeblich durch Zytokine und Wachstumsfaktoren wie IL-1, Tumornekrosefaktoren sowie allen voran G-CSF und GM-CSF stimuliert [123]. Passend hierzu demonstrierte u.a. die Arbeitsgruppe um Toda et al. und Kato et al. bereits vor mehr als 15 Jahren, dass es im Rahmen von abdominellen bzw. thorako-abdominellen Operationen zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration von G-CSF im Plasma kommt. Die höchsten Konzentrationen wurden jeweils direkt nach Beendigung der Operation bzw. am ersten postoperativen Tag gemessen [124].

G-CSF und GM-CSF induzieren ferner die mRNA Expression von SOCS1 und SOCS3. Dies demonstrierten Hörtnert et al. [125] für die Expression von SOCS3 in human neutrophilen Granulozyten sowie murinen myeloiden Zellen. Die Arbeitsgruppe um Zhuang et al. fand in murinen myeloiden Zellen binnen 15 min nach Stimulation mit G-CSF eine signifikante Zunahme sowohl der SOCS1 als auch der SOCS3 mRNA Expression. Tendenziell wurde die Expression von SOCS3 stärker induziert als die von SOCS1 [126]. Diese Untersuchung ist jedoch die einzige Publikation, die eine Stimulation der SOCS1 mRNA Expression durch G-CSF zeigte. So fanden beispielsweise Metcalf et al. in ihren Studien keine Induktion der SOCS1 mRNA Expression durch G-CSF in hämatopoietischen Zellen, sondern lediglich durch GM-CSF [127]. In der vorliegenden Untersuchung korrelierte der Anstieg der medianen SOCS3 mRNA Expression i.B. direkt postoperativ sowie am ersten postoperativen Tag signifikant positiv mit der Neutrophilenzahl i.B. ($p=0.020$ bzw. $p=0.048$). Dies kann als indirekter Hinweis gewertet werden, dass es u.a. G-CSF-vermittelt sowohl zur Stimulation der Granulopoese als auch der SOCS3 mRNA Expression in neutrophilen Granulozyten kam. Für SOCS1 fand sich direkt postoperativ eine ähnliche Tendenz, diese war jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0.054$). Mutmaßlich lässt sich dieser Unterschied zwischen SOCS1 und SOCS3 ebenfalls durch die zell-

spezifische Induktion mit unterschiedlichen Konzentrationsverhältnissen der Leukozytenspezies i.B. erklären. Ferner scheint *SOCS1* wie oben erwähnt geringer durch G-CSF induziert zu werden.

Monozyten

In Übereinstimmung mit den Daten in der Literatur [57, 58] kam es postoperativ zu einem signifikanten Anstieg der Monozytenzahl i.B. Bekannt ist, dass sowohl *SOCS1* als auch *SOCS3* (mRNA) in humanen Monozyten durch GM-CSF binnen 15 min induziert werden können [128]. Eine signifikante Korrelation der Monozytenzahl und der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i.B. fand sich in der vorliegenden Untersuchung zu keinem Messzeitpunkt. Auch hier ist zu vermuten, dass dies auf den prozentual geringen Anteil der Monozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten i.B. zurückzuführen ist und sich ein etwaiger Zusammenhang in der Vollblutanalyse nicht abbildet.

Ebenfalls im Einklang mit den in der Literatur publizierten Daten ließ sich postoperativ eine Störung der Monozytenfunktion nachvollziehen [129, 130]. Ausdruck dieser Störung war die postoperativ signifikant verminderte Fähigkeit von Monozyten zur Sekretion von TNF α bzw. IL-10 nach Stimulation mit Lipopolysaccharid. Zusammenfassend fanden sich nur wenige signifikante Korrelationen der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i.B. mit der perioperativen Monozytenfunktion, was möglicherweise ebenfalls auf den Versuchsaufbau (Vollblutanalyse, geringerer Anteil der Monozyten an der Leukozytenzahl i.B.) zurückzuführen ist. Allerdings ließen sich als Hinweis einer Regulation der postoperativen Monozytenfunktion durch *SOCS*-Proteine zwei signifikante negative Korrelationen nachweisen. So war unmittelbar postoperativ eine verminderte monozytäre TNF α -Syntheseleistung nach LPS-Stimulation mit einer höheren *SOCS1* mRNA Expression i.B. assoziiert und umgekehrt. Zum anderen ging am ersten postoperativen Tag eine höhere *SOCS3* mRNA Expression i.B. mit einer verminderten Fähigkeit zur monozytären Synthese von IL-10 einher. Dies zeigt einerseits die Bedeutung von *SOCS1* für die Eindämmung der pro-inflammatorischen Reaktion im Rahmen der perioperativen Immunantwort. Andererseits überrascht die Korrelation zwischen IL-10-Synthesefähigkeit und *SOCS3* mRNA Expression. So zeigten Niemand et al. anhand humaner Makrophagen, dass *SOCS3* zwar durch IL-10 induziert wird, jedoch keinen Einfluss auf dessen intrazelluläre Signaltransduktion besitzt, da es nicht fähig ist den IL-10-Rezeptor zu binden [114]. Die Frage auf welchem Wege *SOCS3* zu einer verminderten IL-10-Synthese von Monozyten

führt bzw. warum *SOCS3* mit einer verminderten monozytären IL-10-Synthese assoziiert ist, bleibt offen.

T-Helferzell-Antwort

Unterschiedliche T-Helferzell-Arten werden jeweils durch spezifische Zytokine induziert und sezernieren diese auch. T-Helfer-Zellen Typ I produzieren v.a. IL-2, IFN γ , TNF α und TNF β . T-Helfer-Zellen Typ II sezernieren v.a. IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 und IL-13 [131]. Die Fähigkeit zur Sekretion dieser Th1- bzw. Th2-spezifischen Zytokine nach mitogener Stimulation z.B. mit ConA wird u.a. verwendet um auf die Funktion der einzelnen T-Helfer-Zellspezies rückschließen zu können. Es wird vermutet, dass es im Rahmen der perioperativen Immunantwort zu einer Hemmung der T-Helferzell-Funktion mit verminderter Zytokinsynthese kommt. Ferner fanden sich in der Vergangenheit Hinweise, dass es zu einer Verschiebung des Gleichgewichts zwischen Th1- und Th2-Zellen zu Gunsten der Th2-Antwort kommt [52, 53]. So beobachteten Ishikawa et al. postoperativ bei 58 Patienten, die sich elektiv entweder einer Leber-, Magen- oder Kolonteilresektion unterzogen, einen signifikanten Abfall der IFN γ /IL-4-Ratio als Indikator der Th2-Shift [54]. Ähnlich wurde dies auch für die IFN γ /IL-10-Ratio nach kardio-chirurgischen Eingriffen gezeigt [55]. Übereinstimmend mit den genannten Publikationen fand sich in der vorliegenden Untersuchung direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag eine signifikant verminderte Sekretion von IFN γ , TNF α und IL-4 nach mitogener Stimulation als Ausdruck der global inhibierten T-Helferzellfunktion, zum anderen ließ sich eine Verschiebung des T-Helferzell-Gleichgewichts zu Gunsten der Th2-Antwort beobachten. So zeigte sich die Sekretion von IL-10, einem Th2-Zytokin, nach mitogener Stimulation zu keinem Messzeitpunkt signifikant vermindert. Ferner kam es postoperativ zu einem signifikanten Abfall der IFN γ /IL-10-Ratio. Bis auf eine signifikant negative Korrelation der TNF α -Synthese nach Stimulation mit ConA mit der *SOCS1* mRNA Expression i.B. direkt postoperativ ($p=0.039$) fand sich kein signifikanter Zusammenhang der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression i.B. mit der T-Helferzell-Funktion. Dies ist sehr wahrscheinlich auf die geringe Zahl der T-Helferzellen im peripheren Blut zurückzuführen, so dass sich in der Vollblut-Untersuchung der *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression eine T-Helferzell-spezifische mRNA Expression bzw. die Korrelation mit dieser nicht abbilden kann. Umso bemerkenswerter erscheint die negative Korrelation der TNF α -Synthese mit der *SOCS1* mRNA Expression direkt postoperativ. So ging eine niedrige TNF α -Synthese nach Stimulation mit

ConA mit einer erhöhten *SOCS1* mRNA Expression i.B. einhergeht und umgekehrt. TNF α ist eines der wichtigsten pro-inflammatorischen Zytokine. Wie bereits erwähnt, korrelierte auch die monozytäre Synthese von TNF α nach Stimulation LPS direkt postoperativ mit der *SOCS1* mRNA Expression i.B. Aus dieser Befundkonstellation kann vermutet werden, dass *SOCS1* ein zentraler Regulator der TNF α -Synthese im Rahmen der perioperativen Immunantwort ist und eine überschießende pro-inflammatorische Immunreaktion verhindert.

4.4 Einflussgrößen auf die *SOCS1* bzw. *SOCS3* mRNA Expression im Blut

4.4.1 Geschlecht

Am ersten postoperativen Tag fand sich ein signifikanter Geschlechterunterschied der *SOCS1* mRNA Expression i.B. So wiesen Frauen eine geringere *SOCS1* mRNA Expression i.B. auf als Männer. Zwar war der Unterschied signifikant, gemessen an der Untersuchungsmethode der quantitativen Real-time PCR jedoch schwach ausgeprägt. In der Literatur finden sich keine systematischen Erhebungen zu Geschlechterunterschieden der *SOCS1* mRNA Expression. Lediglich in einer Studie, welche Gewebeproben von Patienten mit hepatocellulärem Carcinom untersuchte, fiel auf, dass Tumorproben männlicher Patienten signifikant häufiger hypermethyliert waren als Tumorproben weiblicher Patientinnen. Entgegen dem Befund in der vorliegenden Studie – soweit die Befunde aufgrund des unterschiedlichen Untersuchungsmaterials sowie der differierenden Untersuchungsmethode und deren Zielstruktur überhaupt vergleichbar sind - war die *SOCS1* Genexpression in den Tumorproben von männlichen Patienten signifikant häufiger inhibiert [132]. Die medianen Zytokinspiegel sowie die unterschiedlichen Leukozytenzellzahlen im Blut differierten am ersten postoperativen Tag nicht signifikant zwischen Männern und Frauen. Auch ergaben sich keine signifikanten Gruppenunterschiede zwischen Männer und Frauen bzgl. der Operationszeit, der einzigen anderen identifizierten und signifikanten Einflussgröße auf die *SOCS1* Expression i.B. am ersten postoperativen Tag. Grundsätzlich wäre eine geschlechtsspezifische Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* jedoch vorstellbar. So besitzen verschiedene Zellen des innaten sowie adaptiven Immunsystems Östrogen-, Progesteron- bzw. Androgenrezeptoren [133]. Ferner wiesen Steyn et al. in

einem Mausmodell nach, dass Östrogen die mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* in Zellen des Hypothalamus (Nucleus arcuatus) induzieren kann [134]. Neuwirth et al. beobachteten ferner im Tumorgewebe von Patienten mit Prostatakarzinomen, die sich einer androgenen Ablation unterzogen hatten, also einen iatrogen induzierten Androgenmangel aufwiesen, eine signifikant verminderte *SOCS1* Protein Expression in Zellen der Prostata [135]. Grundsätzlich wäre das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung mit dem Befund einer verminderten *SOCS1* mRNA Expression infolge eines – zumindest relativen – Androgenmangels konkordant. Allerdings findet sich weder prä- noch direkt postoperativ ein signifikanter Unterschied der Expression bezogen auf das Geschlecht. Ferner scheint die Vergleichbarkeit dieser Ergebnisse aufgrund der unterschiedlichen Zellarten und Begleitfaktoren deutlich eingeschränkt. Erwähnenswert ist jedoch, dass in Untersuchungen zur perioperativen Immunantwort gezeigt werden konnte, dass männliche Patienten zu einer stärker ausgeprägten postoperativen Immunsuppression neigen als weibliche Patienten. Wichmann et al. wiesen beispielsweise bei insgesamt 40 Patienten (20 Männer, 20 Frauen), die sich einer offenen Kolonoperation unterzogen, nach, dass die männlichen Patienten während der gesamten postoperativen Periode bis zum fünften Tag signifikant niedrigere B-Lymphozyten-, T-Lymphozyten-, T-Helferzellzahlen sowie NK-Zellzahlen aufwiesen. Außerdem zeigte sich, dass die weiblichen Patienten am ersten postoperativen Tag zwar signifikant höhere IL-6-Plasmaspiegel hatten, im weiteren Verlauf fielen diese bei den weiblichen Patienten jedoch schneller auf das präoperative Niveau zurück [136].

Die genannten Untersuchungen zeigen, dass es geschlechtsspezifische Unterschiede in der perioperativen Immunantwort gibt. Das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung schließt sich dem an, wenngleich die Unterschiede der *SOCS1* Expression nur gering ausgeprägt waren.

4.4.2 Maligne Erkrankung

Patienten mit maligner Erkrankung hatten am ersten postoperativen Tag eine signifikant niedrigere *SOCS1* mRNA Expression i.B als Patienten, bei denen dies nicht bekannt war. Obgleich waren auch hier die Expressionsunterschiede bezogen auf die Untersuchungsmethode der quantitativen Real-time PCR sehr gering ausgeprägt. In einer ausführlichen Überblicksarbeit stellten Coussens und Werb Reaktionen des Immunsystems auf das Bestehen einer Krebserkrankung zusammen [137]. Unter anderem findet sich je nach

Tumorentität, Größe bzw. Stadium der Erkrankung eine lokale und ggf. auch systemische Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren wie z.B. TNF α , IL-1 β , IL-2, Transforming Growth Factor α . Vor diesem Hintergrund könnte man infolge der dauerhaften Stimulation durch pro-inflammatorische Zytokine eine erhöhte SOCS1 bzw. SOCS3 Expression bei Patienten mit Malignomen erwarten, insbesondere auch präoperativ. Dies fand sich in der vorliegenden Untersuchung jedoch nicht. Die Plasmakonzentrationen von IL-6, IL-10- bzw. TNF α unterschieden sich präoperativ bzw. am ersten postoperativen Tag nicht signifikant in beiden Gruppen („Bestehen einer malignen Erkrankung“ vs. „Keine maligne Erkrankung bekannt“), wohl aber direkt postoperativ. Zu diesem Messzeitpunkt waren sowohl der mediane IL-6- als auch IL-10-Plasmaspiegel bei Patienten mit maligner Erkrankung signifikant höher. Bezogen auf das Blutbild zeigte sich als einziger signifikanter Unterschied während der drei Messzeitpunkte eine signifikant höhere Neutrophilenzahl bei Patienten mit bekanntem Malignom am ersten postoperativen Tag. Die genannten Befunde wären jedoch theoretisch mit einer stärkeren SOCS1 mRNA Expression i.B. bei Patienten mit Malignom am ersten postoperativen Tag vereinbar, so dass der erhobene Befund der vorliegenden Untersuchung hierdurch nicht erklärt wird. Außerdem zeigte sich, dass Patienten mit maligner Erkrankung eine signifikant längere Operationszeit aufwiesen. Wie in Abschnitt 5.4.4 erläutert, geht dies mit einer signifikant niedrigeren SOCS1 mRNA Expression am ersten postoperativen Tag einher. In der multiplen linearen Regression fand sich passend hierzu kein signifikanter Einfluss des Bestehens eines Malignoms auf die SOCS1 mRNA Expression am ersten postoperativen Tag, wohl aber der Operationszeit. Zusammenfassend ist davon auszugehen, dass die verminderte SOCS1 mRNA Expression am ersten postoperativen Tag auf die längere Operationszeit der Patienten mit malignen Erkrankungen zurückzuführen ist.

4.4.3 Body Mass Index

Der BMI war einer der wenigen identifizierbaren Einflussfaktoren der SOCS3 mRNA Expression i.B. So wiesen Patienten mit erhöhtem BMI (BMI \geq 25.00) direkt postoperativ eine signifikant niedrigere SOCS3 mRNA Expression i.B. auf als Patienten mit normalem BMI (BMI 18.50 - 25.00). Dieser Zusammenhang zeigte sich in der Korrelations-(Spearman-Rho r_s : -0.323, $p=0.033$) und Regressionsanalyse (standardisierter Beta-Koeffizient -0.269, $p=0.009$). Präoperativ und am ersten postoperativen Tag fand sich keine diesbzgl. Assoziation.

Signifikante Zusammenhänge zwischen BMI und der Plasmakonzentration von IL-6, IL-10 oder TNF α bzw. den Zellzahlen der Leukozytensubspezies fanden sich zu keinem Messzeitpunkt. Auch fand sich kein Zusammenhang zwischen BMI und Operationszeit.

Bekannt ist, dass Übergewicht pleiotrope Effekte auf das Immunsystem besitzt. Unter anderen findet man in weißem Fettgewebe eine Synthese pro-inflammatorischer Zytokine wie TNF α , IL-1 β oder IL-6. Diese Zytokine können in die systemische Zirkulation gelangen [138]. Vor diesem Hintergrund verglichen Ghanim et al. die mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* in peripheren Monozyten normal- und übergewichtiger Frauen [139]. Während sich bzgl. der *SOCS1* mRNA Expression kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zeigte, fand sich ein signifikanter Unterschied der *SOCS3* mRNA Expression. Die Expression in Monozyten übergewichtiger Frauen war deutlich gesteigert. Im Kontrast hierzu zeigte die Arbeitsgruppe um Teran-Cabanillas et. al [140], dass übergewichtige Patienten, welche an einer Influenza A-/H1N1-Infektion erkrankt waren, eine signifikant niedrigere *SOCS1* und *SOCS3* mRNA Expression in peripheren Monozyten aufwiesen als normalgewichtige Patienten, die ebenfalls mit H1N1 infiziert waren. Die Ergebnisse der Studie von Teran-Cabanillas sowie die Beobachtungen der vorliegenden Untersuchung nähren die Vermutungen, dass es im Kontext eines chronischen Inflammationsprozess (z.B. Adipositas) zur Entwicklung einer Toleranz bzw. Desensibilisierung von Immunzellen kommen kann. Im Falle sich zusätzlich aufpfropfender, akuter inflammatorischer Prozesse - wie z.B. der Immunreaktion im Rahmen einer Influenza-Infektion oder großer abdomineller Operationen – demarkiert sich diese Toleranz bzw. Desensibilisierung, ein Phänomen, dass bereits in mehreren Publikationen beschrieben wurde [141, 142].

Patienten, deren BMI < 18.5 bzw. > 29.99 kg/m² war, wurden leider nicht für die Studie rekrutiert, so dass sich hiermit eine eingeschränkte Beurteilbarkeit für den Einfluss des BMI auf die *SOCS3* mRNA Expression insbesondere in Extrembereichen ergibt.

4.4.4 Operationsdauer

Direkt postoperativ sowie am ersten postoperativen Tag korrelierten die IL-6- und IL-10-Plasmaspiegel signifikant mit der Operationsdauer, d.h. je länger eine Operation dauerte, desto höher waren die entsprechenden Konzentrationen im Plasma. Dies wurde für IL-6

bereits mehrfach gezeigt [143, 144]. Überraschenderweise zeigte sich in der Korrelations- und Regressionsanalyse eine signifikante und moderat bis gut ausgeprägte, negative Korrelation der *SOCS1* mRNA Expression i.B. am ersten postoperativen Tag mit der Operationsdauer. Das bedeutet, eine lange Operationsdauer war zwar signifikant mit höheren IL-6- und IL-10-Plasmaspiegeln assoziiert, jedoch auch mit einer niedrigeren *SOCS1* mRNA Expression i.B. Ohnehin war gemessen am Gesamtstudienkollektiv die mediane *SOCS1*-Expression am ersten postoperativen Tag unter das präoperative Ausgangsniveau abgefallen.

Andere identifizierte Einflussfaktoren auf die *SOCS1* Expression i.B. wie das Geschlecht der Patienten hatten keinen signifikanten Einfluss auf dieses Ergebnis.

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit anderen Untersuchungen, wenngleich der Pathomechanismus dahinter aktuell unklar bleibt. So beobachteten Chung et al. [145] bei Mäusen, bei denen durch caecale Ligatur und Punktion des Caecums eine Sepsis induziert wurde, bereits zehn Stunden nach Induktion der Sepsis einen signifikanten Abfall der *SOCS1* mRNA Expression in Thymozyten. Dieser Abfall setzte sich bis zu 50 Stunden nach Sepsis-Induktion signifikant fort. Wie bereits zuvor erwähnt, zeigten Brumann et al., dass es bei polytraumatisierten Patienten in den ersten 24 Stunden nach dem Trauma zu einem signifikanten Abfall der *SOCS1* mRNA Expression in neutrophilen Granulozyten des Blutes kommt. Ferner zeigte sich ein kontinuierlicher, signifikanter Anstieg der *IL-10* mRNA Expression bis 48 Stunden nach dem Trauma. Tendenziell wiesen Patienten, die in den ersten 90 Tagen nach dem Trauma verstarben, also mutmaßlich größere Traumata aufwiesen, in den ersten 24 h nach Trauma eine geringere *SOCS1* mRNA Expression auf. Dieser Befund war jedoch nicht statistisch signifikant [118].

Sowohl die Peritonitis-induzierte Sepsis als auch ein Polytrauma gehen mit einer Stunde bis Tage anhaltenden, systemischen Freisetzung unterschiedlicher Zytokine einher. Die genannten Studien sowie die vorliegende Untersuchung legen die Vermutung nahe, dass im Rahmen akut einsetzender und über Stunden bis Tage fortbestehender Stimulation von Immunzellen, die Induktion von *SOCS1* in Abhängigkeit von der zunehmenden Dauer der Stimulation aktiv gehemmt wird bzw. sich erschöpft. Postoperative Infektionen

Die Rate postoperativer Infektionen lag in der vorliegenden Studie bei 16.7%. Damit liegt die Infektionsrate deutlich über dem in der NIDEP-Studie publizierten gesamtdeutschen

Durchschnitt von 3.8% nosokomialer Infektionen auf chirurgischen Normalstationen [146].

Die Ursache hierfür ist vermutlich im Studiendesign der vorliegenden Studie zu sehen. So wurden lediglich Patienten der ASA-Klassifikation P3 und P4 eingeschlossen, sprich Patienten mit vorbestehenden internistischen Komorbiditäten, die ohnehin ein erhöhtes Risiko für postoperative Infektionen haben. So sind bekannte internistische Vorerkrankungen, die mit einem erhöhten Risiko postoperativer Infektionen einhergehen beispielsweise Adipositas, Diabetes, kardio-vaskuläre Erkrankungen, maligne und hepatische Erkrankungen [147, 148].

Ferner wurden nur Patienten eingeschlossen, die sich einer Laparatomie unterzogen. Bekannt ist, dass stamm-nahe Operationen ebenfalls ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten postoperativer Infektionen sind [148].

Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten postoperativer Infektionen, dem Zeitpunkt der Diagnose der Infektion bzw. der Art der Infektion mit der mRNA-Expression von *SOCS1* und *SOCS3* i.B. fand sich zu keinem Zeitpunkt. Einschränkend ist jedoch zu berücksichtigen, dass lediglich zwei der insgesamt elf Patienten, die eine nosokomiale Infektion entwickelten, diese binnen der ersten drei Tage nach der Operation entwickelten. Bei den restlichen neun Patienten wurde die Infektion zwischen dem fünften bis 15. Tag nach der Operation diagnostiziert. Die Messung der mRNA-Expression von *SOCS1* bzw. *SOCS3* erfolgte allerdings nur bis zum ersten postoperativen Tag. Ferner ist zwar der relative Anteil postoperativer Infektionen in der vorliegenden Untersuchung hoch, die absolute Zahl jedoch relativ gering.

Grundsätzlich wäre im Kontext postoperativer Infektionen eine verstärkte *SOCS1* und *SOCS3* mRNA Expression i.B. denkbar. So fanden beispielsweise Yang et al., dass es im Rahmen einer Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* zu einer Induktion von *SOCS1* mRNA in murinen Makrophagen kam [149]. Auch durch andere Bakterienarten wie *Lactobacillus rhamnosus* oder *Streptococcus thermophilus* konnte eine Induktion der *SOCS3* Expression in humanen Makrophagen gezeigt werden [150].

4.5 Limitationen der Arbeit

Wie bereits mehrfach erwähnt, lässt die in der Untersuchung durchgeführte Vollblut-mRNA-Expressionsanalyse keinen Rückschluss auf die Expression in den unterschiedlichen Leukozytensubpopulationen zu. Ferner erfolgte ausschließlich eine mRNA-Expressionsanalyse. Hieraus lässt sich die Proteinexpression lediglich mutmaßen. Eine 1 zu 1 Übertragung der Ergebnisse auf die Protein-Expression von SOCS1 bzw. SOCS3 ist nicht möglich.

Die Variabilität der durchgeführten Operationen, des Operationsziels, der Operationsdauer sowie weiterer klinischer Parameter zog letztlich eine z.T. sehr kleine Fallzahl in den Subgruppen nach sich, so dass hierdurch Verzerrungen der statischen Berechnungen möglich sind. Letztlich ist aufgrund der geringen Fallzahl beispielsweise für die Faktoren Nikotin- und Alkoholkonsum keine valide Subgruppenanalyse möglich gewesen. Um eine Beeinflussung der Daten durch geringe Fallzahlen sowie die Variabilität der klinischen Parameter auszuschließen, sollten weitere Studien mit größeren Fallzahlen und Randomisierung bzw. Standardisierung der klinischen Einflussfaktoren erfolgen.

5 Zusammenfassung

Jede Operation führt zu einer Reaktion des Immunsystems, initial lokal am Ort des Gewebeschadens und je nach Ausmaß des Gewebeschadens und anderer Begleitfaktoren auch systemisch. Eine überschießende oder unzureichende Antwort des Immunsystems kann fatale Folgen haben. Die Regulation der perioperativen Immunantwort ist deshalb von immenser Bedeutung.

SOCS-Proteine sind wichtige Regulatoren des Zytokin-Signalings und spielen eine entscheidende Rolle in der Modulation der Immunantwort.

Ziel der vorliegenden Arbeit war zu klären, ob *SOCS1* und *SOCS3* – als die bislang am besten charakterisierten Vertreter der SOCS-Proteine – an der perioperativen Immunantwort bzw. deren Regulation beteiligt sind und ob sich Einflussfaktoren auf das Expressionsniveau identifizieren lassen.

Hierzu wurden 66 ASA P3 und P4 klassifizierte Patienten in diese prospektive Observationsstudie eingeschlossen. Alle Patienten unterzogen sich elektiv einer Laparotomie. Präoperativ, unmittelbar postoperativ sowie am ersten postoperativen Tag wurden folgende Parameter bestimmt: relative mRNA Expression von *SOCS1* und *SOCS3* im Blut, Plasmakonzentrationen von IL-6, IL-10 und TNF α , TNF α und IL-10 *ex vivo* nach Stimulation mit LPS zur Prüfung der Monozytenfunktion sowie TNF α , IFN γ , IL-4 und IL-10 *ex vivo* nach Stimulation mit ConA zur Prüfung der T-Helferzell-Funktion. Ferner wurden soziodemografische und perioperative Faktoren dokumentiert.

Es liessen sich typische Veränderungen der perioperativen Immunantwort beobachten:

- Kurzzeitig deutlicher Anstieg der Konzentrationen von IL-6 und IL-10 im Plasma unmittelbar postoperativ
- Anstieg der Neutrophilen- und Monozytenzahl i.B. mit Störung der Monozytenfunktion mit verminderter Sekretion von TNF α und IL-10 nach mitogener Stimulation mit LPS *ex vivo* direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag
- Abfall der Lymphozytenzahl i.B. mit Störung der T-Lymphozytenfunktion mit verminderter Synthese von IFN γ , TNF α und IL-4 nach mitogener Stimulation mit Con A *ex vivo* direkt postoperativ und partiell auch am ersten postoperativen Tag, konsekutiv Dominanz der Th2-Antwort („Th2-Shift“)

Die mediane *SOCS1* mRNA-Expression stieg unmittelbar postoperativ signifikant um das 1.7-fache und fiel am Folgetag signifikant auf das 0.7-fache des Ausgangsniveaus ab (p jeweils <0.01). Die mediane *SOCS3* mRNA-Expression stieg direkt postoperativ signifikant um das 19-fache ($p<0.01$) und fiel am Folgetag auf das 5-fache des Ausgangsniveaus ab, war im Vergleich zu diesem jedoch weiterhin signifikant erhöht ($p<0.01$). Es fanden sich Hinweise auf eine zellspezifische Induktion der Expression. Direkt postoperativ korrelierte die Gesamtlymphozytenzahl i.B. mit der *SOCS1* mRNA-Expression i.B. (Spearman Rho: 0.282, $p=0.03$). Die *SOCS3* mRNA Expression i.B. korrelierte direkt postoperativ und am ersten postoperativen Tag positiv mit der Neutrophilenzahl i.B. (Spearman Rho direkt postoperativ: 0.306, $p=0.020$, am 1. postoperativen Tag: 0.252, $p=0.048$). Unmittelbar postoperativ korrelierte die IL-10-Plasmakonzentration positiv mit der *SOCS1* und *SOCS3* mRNA-Expression (Spearman Rho: 0.455, $p<0.01$). Der Einfluss von IL-10 - als bekannter Induktor von *SOCS1* und *SOCS3* - bestätigte sich unmittelbar postoperativ in der linearen Regression für *SOCS1* ($p<0.01$) und *SOCS3* ($p=0.019$). Als Hinweis auf die Bedeutung von *SOCS1* für die Eindämmung der Inflammation korrelierte unmittelbar postoperativ die *SOCS1* mRNA-Expression negativ mit der TNF α Sekretion *ex vivo* nach Stimulation mit LPS (Spearman Rho: -0.379, $p<0.01$) und ConA (Spearman Rho: -0.288, $p=0.04$). Längere Operationszeiten und weibliches Geschlecht waren mit einer niedrigeren *SOCS1* mRNA-Expression am ersten postoperativen Tag assoziiert (lineare Regression p jeweils <0.01). Negative Einflussgröße auf die *SOCS3* Expression unmittelbar postoperativ war der Body Mass Index (lineare Regression: $p=0.038$; Spearman-Rho: -0.278, $p=0.033$).

Mit dieser Arbeit fanden sich erstmalig Hinweise auf die funktionelle Bedeutung von *SOCS1* und *SOCS3* für die perioperative Immunantwort. Beide werden im Rahmen des operativen Traumas vermutlich zellspezifisch induziert und scheinen an der Regulation der Monozyten- und T-Helferzell-Funktion beteiligt zu sein. Weitere zum einen zellspezifische Untersuchungen sowohl auf mRNA als auch Proteinebene sowie Studien mit größeren Fallzahlen und Randomisierung bzw. Standardisierung der klinischen Einflussfaktoren sind notwendig um die Bedeutung der SOCS-Proteine für die Regulation der perioperativen Immunantwort besser eingrenzen zu können. Mit der vorliegenden Arbeit wurde somit die Grundlage für weitere Studien gelegt, um die perioperative Immunantwort besser verstehen und ggf. eines Tages positiv modulieren zu können.

Literaturverzeichnis

1. Veenhof AA, Sietes C, von Blomberg BM, et al. The surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopic or conventional total mesorectal excision in rectal cancer: a randomized trial. *Int J Colorectal Dis* 2011, 26(1):53-59.
2. Goldfarb Y, Sorski L, Benish M, et al. Improving postoperative immune status and resistance to cancer metastasis: a combined perioperative approach of immunostimulation and prevention of excessive surgical stress responses. *Annals of surgery* 2011, 253(4):798-810.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England journal of medicine* 2003, 348(2):138-150.
4. Marik PE, Flemmer M. The immune response to surgery and trauma: Implications for treatment. *The journal of trauma and acute care surgery* 2012, 73(4):801-808.
5. Koerner P, Westerholt A, Kessler W, et al. [Surgical trauma and postoperative immunosuppression]. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin* 2008, 79(4):290-294.
6. van Sandick JW, Gisbertz SS, ten Berge IJ, et al. Immune responses and prediction of major infection in patients undergoing transhiatal or transthoracic esophagectomy for cancer. *Annals of surgery* 2003, 237(1):35-43.
7. Brune IB, Wilke W, Hensler T, et al. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery. *American journal of surgery* 1999, 177(1):55-60.
8. van Dijk WC, Verbrugh HA, van Rijswijk RE, et al. Neutrophil function, serum opsonic activity, and delayed hypersensitivity in surgical patients. *Surgery* 1982, 92(1):21-29.
9. Huang C, Huang R, Jiang T, et al. Laparoscopic and open resection for colorectal cancer: an evaluation of cellular immunity. *BMC gastroenterology* 2010, 10:127.
10. Angele MK, Faist E. Clinical review: immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. *Critical care* 2002, 6(4):298-305.
11. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, et al. Systemic cytokine response after major surgery. *The British journal of surgery* 1992, 79(8):757-760.
12. Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *British journal of anaesthesia* 2000, 85(1):109-117.
13. Murphy K, Travers, P., Walport, M. *Janeway Immunologie*, vol. 7. Auflage. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2009.
14. Shenkin A, Fraser WD, Series J, et al. The serum interleukin 6 response to elective surgery. *Lymphokine research* 1989, 8(2):123-127.
15. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annual review of immunology* 1993, 11:571-611.
16. Schinkel C. The role of IFN-gamma in surgical patients. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 2003, 23(7):341-349.
17. Snapper CM, Finkelman FD, Paul WE. Regulation of IgG1 and IgE production by interleukin 4. *Immunological reviews* 1988, 102:51-75.
18. Snapper CM, Peschel C, Paul WE. IFN-gamma stimulates IgG2a secretion by murine B cells stimulated with bacterial lipopolysaccharide. *Journal of immunology* 1988, 140(7):2121-2127.
19. Hawrylowicz CM, Unanue ER. Regulation of antigen-presentation-I. IFN-gamma induces antigen-presenting properties on B cells. *Journal of immunology* 1988, 141(12):4083-4088.
20. Berguer R, Bravo N, Bowyer M, et al. Major surgery suppresses maximal production of helper T-cell type 1 cytokines without potentiating the release of helper T-cell type 2 cytokines. *Archives of surgery* 1999, 134(5):540-544.
21. Thomas L. *Labor und Diagnose*. Frankfurt/Main: TH Books-Verlag; 1998.

22. Ming WJ, Bersani L, Mantovani A. Tumor necrosis factor is chemotactic for monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *Journal of immunology* 1987, 138(5):1469-1474.
23. Steffen M, Ottmann OG, Moore MA. Simultaneous production of tumor necrosis factor- α and lymphotoxin by normal T cells after induction with IL-2 and anti-T3. *Journal of immunology* 1988, 140(8):2621-2624.
24. Dayer JM, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *The Journal of experimental medicine* 1985, 162(6):2163-2168.
25. Ogata M, Okamoto K, Kohriyama K, et al. Role of interleukin-10 on hyporesponsiveness of endotoxin during surgery. *Critical care medicine* 2000, 28(9):3166-3170.
26. Bastian D, Tambursten MV, Lyngstadaas SP, et al. Systemic and local cytokine kinetics after total hip replacement surgery. *European surgical research Europäische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes* 2008, 41(4):334-340.
27. Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nature reviews Immunology* 2015, 15(5):271-282.
28. Zhu J. T helper 2 (Th2) cell differentiation, type 2 innate lymphoid cell (ILC2) development and regulation of interleukin-4 (IL-4) and IL-13 production. *Cytokine* 2015, 75(1):14-24.
29. Severinson E. Identification of the IgG1 Induction Factor (Interleukin 4). *Front Immunol* 2014, 5:628.
30. Kvarnstrom AL, Sarbinowski RT, Bengtson JP, et al. Complement activation and interleukin response in major abdominal surgery. *Scandinavian journal of immunology* 2012, 75(5):510-516.
31. Servis D, Busic Z, Stipancic I, et al. Serum cytokine changes after gastric resection or gastrectomy for gastric cancer. *Hepato-gastroenterology* 2008, 55(86-87):1868-1872.
32. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annual review of immunology* 1990, 8:253-278.
33. Biffl WL, Moore EE, Moore FA, et al. Interleukin-6 stimulates neutrophil production of platelet-activating factor. *Journal of leukocyte biology* 1996, 59(4):569-574.
34. Biffl WL, Moore EE, Moore FA, et al. Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation? *Annals of surgery* 1996, 224(5):647-664.
35. Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, et al. Increased plasma levels of IL-6 and IL-8 are associated with surgical site infection after pancreaticoduodenectomy. *Pancreas* 2006, 32(2):178-185.
36. Spits H, de Waal Malefyt R. Functional characterization of human IL-10. *International archives of allergy and immunology* 1992, 99(1):8-15.
37. de Waal Malefyt R, Haanen J, Spits H, et al. Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. *The Journal of experimental medicine* 1991, 174(4):915-924.
38. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, et al. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *Journal of immunology* 1991, 147(11):3815-3822.
39. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, et al. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *Journal of immunology* 1991, 146(10):3444-3451.
40. Koch N, Jung M, Sabat R, et al. IL-10 protects monocytes and macrophages from complement-mediated lysis. *Journal of leukocyte biology* 2009, 86(1):155-166.
41. de Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo MG, et al. Interleukin-10. *Current opinion in immunology* 1992, 4(3):314-320.
42. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, et al. Effects of epidural anaesthesia on surgical stress-induced immunosuppression during upper abdominal surgery. *British journal of anaesthesia* 2007, 98(2):196-203.
43. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, et al. Surgical stress induces endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR expression during surgery. *Anesthesia and analgesia* 2001, 92(5):1322-1326.
44. Hildebrandt U, Kessler K, Plusczyk T, et al. Comparison of surgical stress between laparoscopic and open colonic resections. *Surgical endoscopy* 2003, 17(2):242-246.

45. Strohmeyer JC, Blume C, Meisel C, et al. Standardized immune monitoring for the prediction of infections after cardiopulmonary bypass surgery in risk patients. *Cytometry Part B, Clinical cytometry* 2003, 53(1):54-62.
46. Slade MS, Simmons RL, Yunis E, et al. Immunodepression after major surgery in normal patients. *Surgery* 1975, 78(3):363-372.
47. Moudgil GC, Pandya AR, Ludlow DJ. Influence of anaesthesia and surgery on neutrophil chemotaxis. *Canadian Anaesthetists' Society journal* 1981, 28(3):232-238.
48. Fahlenkamp AV, Coburn M, Rossaint R, et al. Comparison of the effects of xenon and sevoflurane anaesthesia on leucocyte function in surgical patients: a randomized trial. *British journal of anaesthesia* 2014, 112(2):272-280.
49. Delogu G, Moretti S, Antonucci A, et al. Apoptosis and surgical trauma: dysregulated expression of death and survival factors on peripheral lymphocytes. *Archives of surgery* 2000, 135(10):1141-1147.
50. Albertsmeier M, Quaiser D, von Dossow-Hanfstingl V, et al. Major surgical trauma differentially affects T-cells and APC. *Innate immunity* 2014.
51. Cristaldi M, Rovati M, Elli M, et al. Lymphocytic subpopulation changes after open and laparoscopic cholecystectomy: a prospective and comparative study on 38 patients. *Surgical laparoscopy & endoscopy* 1997, 7(3):255-261.
52. Decker D, Schondorf M, Bidlingmaier F, et al. Surgical stress induces a shift in the type-1/type-2 T-helper cell balance, suggesting down-regulation of cell-mediated and up-regulation of antibody-mediated immunity commensurate to the trauma. *Surgery* 1996, 119(3):316-325.
53. Le Cras AE, Galley HF, Webster NR. Spinal but not general anesthesia increases the ratio of T helper 1 to T helper 2 cell subsets in patients undergoing transurethral resection of the prostate. *Anesthesia and analgesia* 1998, 87(6):1421-1425.
54. Ishikawa M, Nishioka M, Hanaki N, et al. Hepatic resection leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2004, 30(2):96-103.
55. von Dossow V, Luetz A, Haas A, Sawitzki B, et al. Effects of remifentanyl and fentanyl on the cell-mediated immune response in patients undergoing elective coronary artery bypass graft surgery. *The Journal of international medical research* 2008, 36(6):1235-1247.
56. Brune IB, Wilke W, Hensler T, et al. Normal T lymphocyte and monocyte function after minimally invasive surgery. *Surgical endoscopy* 1998, 12(8):1020-1024.
57. Franke A, Lante W, Kollig E, et al. A comparison of monocyte counts and ex vivo and in vitro monocyte cytokine production after major surgical trauma. *The Journal of surgical research* 2009, 154(1):91-98.
58. Franke A, Lante W, Kurig E, et al. Postoperative PMBC-derived IL-6 and TNF-alpha-release is uninfluenced by IL-12-mediated restoration of IFN-gamma synthesis. *Scandinavian cardiovascular journal : SCJ* 2009, 43(2):136-144.
59. Roger T, Glauser MP, Calandra T. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) modulates innate immune responses induced by endotoxin and Gram-negative bacteria. *Journal of endotoxin research* 2001, 7(6):456-460.
60. Kain ZN, Zimolo Z, Heninger G. Leptin and the perioperative neuroendocrinological stress response. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1999, 84(7):2438-2442.
61. Docke WD, Randow F, Syrbe U, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nature medicine* 1997, 3(6):678-681.
62. Volk HD, Thieme M, Heym S, et al. Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease--predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Institute Mitteilungen* 1991(88):208-215.
63. Mokart D, Leone M, Sannini A, et al. Reduced interleukin-12 release from stimulated monocytes in patients with sepsis after major cancer surgery. *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 2010, 54(5):643-648.

64. Haupt W, Riese J, Mehler C, et al. Monocyte function before and after surgical trauma. *Digestive surgery* 1998, 15(2):102-104.
65. Shuai K, Ziemiecki A, Wilks AF, et al. Polypeptide signalling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins. *Nature* 1993, 366(6455):580-583.
66. Darnell JE, Jr., Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994, 264(5164):1415-1421.
67. Hirano T, Matsuda T, Nakajima K. Signal transduction through gp130 that is shared among the receptors for the interleukin 6 related cytokine subfamily. *Stem cells* 1994, 12(3):262-277.
68. Inagaki-Ohara K, Kondo T, Ito M, et al. SOCS, inflammation, and cancer. *Jak-Stat* 2013, 2(3):e24053.
69. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nature reviews Immunology* 2007, 7(6):454-465.
70. Starr R, Willson TA, Viney EM, et al. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. *Nature* 1997, 387(6636):917-921.
71. Krebs DL, Hilton DJ. SOCS: physiological suppressors of cytokine signaling. *Journal of cell science* 2000, 113 (Pt 16):2813-2819.
72. Chen XP, Losman JA, Rothman P. SOCS proteins, regulators of intracellular signaling. *Immunity* 2000, 13(3):287-290.
73. Dalpke A, Heeg K, Bartz H, et al. Regulation of innate immunity by suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins. *Immunobiology* 2008, 213(3-4):225-235.
74. Dimitriou ID, Clemenza L, Scotter AJ, et al. Putting out the fire: coordinated suppression of the innate and adaptive immune systems by SOCS1 and SOCS3 proteins. *Immunological reviews* 2008, 224:265-283.
75. Sasaki A, Yasukawa H, Suzuki A, et al. Cytokine-inducible SH2 protein-3 (CIS3/SOCS3) inhibits Janus tyrosine kinase by binding through the N-terminal kinase inhibitory region as well as SH2 domain. *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms* 1999, 4(6):339-351.
76. Nicholson SE, Willson TA, Farley A, et al. Mutational analyses of the SOCS proteins suggest a dual domain requirement but distinct mechanisms for inhibition of LIF and IL-6 signal transduction. *The EMBO journal* 1999, 18(2):375-385.
77. Bullock AN, Rodriguez MC, Debreczeni JE, et al. Structure of the SOCS4-ElonginB/C complex reveals a distinct SOCS box interface and the molecular basis for SOCS-dependent EGFR degradation. *Structure* 2007, 15(11):1493-1504.
78. Davey GM, Heath WR, Starr R. SOCS1: a potent and multifaceted regulator of cytokines and cell-mediated inflammation. *Tissue antigens* 2006, 67(1):1-9.
79. Naka T, Narazaki M, Hirata M, et al. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature* 1997, 387(6636):924-929.
80. Mansell A, Smith R, Doyle SL, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 negatively regulates Toll-like receptor signaling by mediating Mal degradation. *Nature immunology* 2006, 7(2):148-155.
81. Ryo A, Suizu F, Yoshida Y, et al. Regulation of NF-kappaB signaling by Pin1-dependent prolyl isomerization and ubiquitin-mediated proteolysis of p65/RelA. *Molecular cell* 2003, 12(6):1413-1426.
82. Alexander WS. Suppressors of cytokine signalling (SOCS) in the immune system. *Nature reviews Immunology* 2002, 2(6):410-416.
83. Fujimoto M, Naka T. Regulation of cytokine signaling by SOCS family molecules. *Trends in immunology* 2003, 24(12):659-666.
84. Bunda S, Kommaraju K, Heir P, et al. SOCS-1 mediates ubiquitylation and degradation of GM-CSF receptor. *PLoS one* 2013, 8(9):e76370.
85. Van Dyken SJ, Locksley RM. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. *Annual review of immunology* 2013, 31:317-343.

86. Feriotti C, Loures FV, Frank de Araujo E, et al. Mannosyl-recognizing receptors induce an M1-like phenotype in macrophages of susceptible mice but an M2-like phenotype in mice resistant to a fungal infection. *PLoS one* 2013, 8(1):e54845.
87. Egwuagu CE, Yu CR, Zhang M, et al. Suppressors of cytokine signaling proteins are differentially expressed in Th1 and Th2 cells: implications for Th cell lineage commitment and maintenance. *Journal of immunology* 2002, 168(7):3181-3187.
88. Diehl S, Anguita J, Hoffmeyer A, et al. Inhibition of Th1 differentiation by IL-6 is mediated by SOCS1. *Immunity* 2000, 13(6):805-815.
89. Alexander WS, Starr R, Fenner JE, et al. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon gamma signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell* 1999, 98(5):597-608.
90. Diehl S, Rincon M. The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation. *Mol Immunol* 2002, 39(9):531-536.
91. Chong MM, Cornish AL, Darwiche R, et al. Suppressor of cytokine signaling-1 is a critical regulator of interleukin-7-dependent CD8+ T cell differentiation. *Immunity* 2003, 18(4):475-487.
92. Caruso R, Stolfi C, Sarra M, et al. Inhibition of monocyte-derived inflammatory cytokines by IL-25 occurs via p38 Map kinase-dependent induction of Socs-3. *Blood* 2009, 113(15):3512-3519.
93. Naka T, Fujimoto M, Tsutsui H, et al. Negative regulation of cytokine and TLR signalings by SOCS and others. *Advances in immunology* 2005, 87:61-122.
94. Flores-Morales A, Greenhalgh CJ, Norstedt G, et al. Negative regulation of growth hormone receptor signaling. *Molecular endocrinology* 2006, 20(2):241-253.
95. Dalpke AH, Opper S, Zimmermann S, et al. Suppressors of cytokine signaling (SOCS)-1 and SOCS-3 are induced by CpG-DNA and modulate cytokine responses in APCs. *Journal of immunology* 2001, 166(12):7082-7089.
96. Croker BA, Metcalf D, Robb L, et al. SOCS3 is a critical physiological negative regulator of G-CSF signaling and emergency granulopoiesis. *Immunity* 2004, 20(2):153-165.
97. Spence S, Fitzsimons A, Boyd CR, et al. Suppressors of cytokine signaling 2 and 3 diametrically control macrophage polarization. *Immunity* 2013, 38(1):66-78.
98. Arnold CE, Whyte CS, Gordon P, et al. A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function in vitro and in vivo. *Immunology* 2014, 141(1):96-110.
99. Berlato C, Cassatella MA, Kinjyo I, et al. Involvement of suppressor of cytokine signaling-3 as a mediator of the inhibitory effects of IL-10 on lipopolysaccharide-induced macrophage activation. *Journal of immunology* 2002, 168(12):6404-6411.
100. Cohnen SJ, Sanden D, Cacalano NA, et al. SOCS-3 is tyrosine phosphorylated in response to interleukin-2 and suppresses STAT5 phosphorylation and lymphocyte proliferation. *Molecular and cellular biology* 1999, 19(7):4980-4988.
101. Seki Y, Inoue H, Nagata N, et al. SOCS-3 regulates onset and maintenance of T(H)2-mediated allergic responses. *Nature medicine* 2003, 9(8):1047-1054.
102. Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, et al. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins and JAK/STAT pathways: regulation of T-cell inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2011, 31(5):980-985.
103. Kolseth IB, Forland DT, Risoe PK, et al. Human monocyte responses to lipopolysaccharide and 9-cis retinoic acid after laparoscopic surgery for colon cancer. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 2012, 72(8):593-601.
104. Wormald S, Hilton DJ. Inhibitors of cytokine signal transduction. *The Journal of biological chemistry* 2004, 279(2):821-824.
105. ASA: New classification of physical status. *Anesthesiology* 1963, 24:111.
106. Woodfield JC, Beshay NM, Pettigrew RA, et al. American Society of Anesthesiologists classification of physical status as a predictor of wound infection. *ANZ journal of surgery* 2007, 77(9):738-741.
107. Schilling K. Der prädiktive Wert inflammatorischer Marker für postoperative Infektionen bei Risikopatienten mit nichtkardiologischem Eingriff. *Charité Universitätsmedizin Berlin* 2013.

108. Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, et al. The Fagerstrom Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. *British journal of addiction* 1991, 86(9):1119-1127.
109. Saunders JB, Aasland OG, Babor TF, et al. Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO Collaborative Project on Early Detection of Persons with Harmful Alcohol Consumption--II. *Addiction* 1993, 88(6):791-804.
110. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001, 25(4):402-408.
111. CDC definitions for nosocomial infections. *American journal of infection control* 1989, 17(1):42-43.
112. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive care medicine* 2003, 29(4):530-538.
113. Dogusan Z, Hooghe-Peters EL, Berus D, et al. Expression of SOCS genes in normal and leukemic human leukocytes stimulated by prolactin, growth hormone and cytokines. *Journal of neuroimmunology* 2000, 109(1):34-39.
114. Niemand C, Nimmesgern A, Haan S, et al. Activation of STAT3 by IL-6 and IL-10 in primary human macrophages is differentially modulated by suppressor of cytokine signaling 3. *Journal of immunology* 2003, 170(6):3263-3272.
115. Hamed M, Bergmeier LA, Hagi-Pavli E, et al. Differential expression of suppressor of cytokine signalling proteins in Behcet's disease. *Scandinavian journal of immunology* 2014, 80(5):369-376.
116. Rastmanesh MM, Bluysen HA, Joles JA, et al. Increased expression of SOCS3 in monocytes and SOCS1 in lymphocytes correlates with progressive loss of renal function and cardiovascular risk factors in chronic kidney disease. *European journal of pharmacology* 2008, 593(1-3):99-104.
117. Rastmanesh MM, Braam B, Joles JA, et al. Increased SOCS expression in peripheral blood mononuclear cells of end stage renal disease patients is related to inflammation and dialysis modality. *European journal of pharmacology* 2009, 602(1):163-167.
118. Brumann M, Matz M, Kusmenkov T, et al. Impact of STAT/SOCS mRNA expression levels after major injury. *Mediators of inflammation* 2014, 2014:749175.
119. Braun DA, Fribourg M, Sealfon SC. Cytokine response is determined by duration of receptor and signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) activation. *The Journal of biological chemistry* 2013, 288(5):2986-2993.
120. Ding Y, Chen D, Tarcsafalvi A, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 inhibits IL-10-mediated immune responses. *Journal of immunology* 2003, 170(3):1383-1391.
121. Ito S, Ansari P, Sakatsume M, Dickensheets H, et al. Interleukin-10 inhibits expression of both interferon alpha- and interferon gamma- induced genes by suppressing tyrosine phosphorylation of STAT1. *Blood* 1999, 93(5):1456-1463.
122. Cassatella MA, Gasperini S, Bovolenta C, et al. Interleukin-10 (IL-10) selectively enhances CIS3/SOCS3 mRNA expression in human neutrophils: evidence for an IL-10-induced pathway that is independent of STAT protein activation. *Blood* 1999, 94(8):2880-2889.
123. Nauseef WM, Borregaard N. Neutrophils at work. *Nature immunology* 2014, 15(7):602-611.
124. Toda H, Murata A, Tanaka N, et al. Changes in serum granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and interleukin 6 (IL-6) after surgical intervention. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1995, 87(3):275-286.
125. Hortner M, Nielsch U, Mayr LM, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 is recruited to the activated granulocyte-colony stimulating factor receptor and modulates its signal transduction. *Journal of immunology* 2002, 169(3):1219-1227.
126. Zhuang D, Qiu Y, Haque SJ, et al. Tyrosine 729 of the G-CSF receptor controls the duration of receptor signaling: involvement of SOCS3 and SOCS1. *Journal of leukocyte biology* 2005, 78(4):1008-1015.
127. Metcalf D, Alexander WS, Elefanty AG, et al. Aberrant hematopoiesis in mice with inactivation of the gene encoding SOCS-1. *Leukemia* 1999, 13(6):926-934.

128. Stevenson NJ, Addley MR, Ryan EJ, et al. CCL11 blocks IL-4 and GM-CSF signaling in hematopoietic cells and hinders dendritic cell differentiation via suppressor of cytokine signaling expression. *Journal of leukocyte biology* 2009, 85(2):289-297.
129. Veenhof AA, Vlug MS, van der Pas MH, et al. Surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopy or open surgery with fast track or standard perioperative care: a randomized trial. *Annals of surgery* 2012, 255(2):216-221.
130. Versteeg D, Dol E, Hoefler IE, et al. Toll-like receptor 2 and 4 response and expression on monocytes decrease rapidly in patients undergoing arterial surgery and are related to preoperative smoking. *Shock* 2009, 31(1):21-27.
131. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000, 85(1):9-18; quiz 18, 21.
132. Zhang X, Wang J, Cheng J, et al. An integrated analysis of SOCS1 down-regulation in HBV infection-related hepatocellular carcinoma. *Journal of viral hepatitis* 2014, 21(4):264-271.
133. Gabriel G, Arck PC. Sex, immunity and influenza. *The Journal of infectious diseases* 2014, 209 Suppl 3:S93-99.
134. Steyn FJ, Anderson GM, Grattan DR. Hormonal regulation of suppressors of cytokine signaling (SOCS) messenger ribonucleic acid in the arcuate nucleus during late pregnancy. *Endocrinology* 2008, 149(6):3206-3214.
135. Neuwirt H, Puhr M, Santer FR, et al. Suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1 is expressed in human prostate cancer and exerts growth-inhibitory function through down-regulation of cyclins and cyclin-dependent kinases. *The American journal of pathology* 2009, 174(5):1921-1930.
136. Wichmann MW, Muller C, Meyer G, et al. Different immune responses to abdominal surgery in men and women. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft fur Chirurgie* 2003, 387(11-12):397-401.
137. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002, 420(6917):860-867.
138. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature reviews Immunology* 2006, 6(10):772-783.
139. Ghanim H, Aljada A, Daoud N, et al. Role of inflammatory mediators in the suppression of insulin receptor phosphorylation in circulating mononuclear cells of obese subjects. *Diabetologia* 2007, 50(2):278-285.
140. Teran-Cabanillas E, Montalvo-Corral M, Caire-Juvera G, et al. Decreased interferon-alpha and interferon-beta production in obesity and expression of suppressor of cytokine signaling. *Nutrition* 2013, 29(1):207-212.
141. Ziegler-Heitbrock HW, Wedel A, Schraut W, et al. Tolerance to lipopolysaccharide involves mobilization of nuclear factor kappa B with predominance of p50 homodimers. *The Journal of biological chemistry* 1994, 269(25):17001-17004.
142. Milner JJ, Beck MA. The impact of obesity on the immune response to infection. *Proc Nutr Soc* 2012, 71(2):298-306.
143. Glaser F, Sannwald GA, Buhr HJ, et al. General stress response to conventional and laparoscopic cholecystectomy. *Annals of surgery* 1995, 221(4):372-380.
144. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, et al. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clinical science* 1990, 79(2):161-165.
145. Chung CS, Chen Y, Grutkoski PS, et al. SOCS-1 is a central mediator of steroid-increased thymocyte apoptosis and decreased survival following sepsis. *Apoptosis : an international journal on programmed cell death* 2007, 12(7):1143-1153.
146. Kampf G, Gastmeier P, Wischnewski N, et al. [Nosocomial infections in Germany--assessment and prevention. NIDEP Study, 1: On prevalence in surgery]. *Der Chirurg; Zeitschrift fur alle Gebiete der operativen Medizin* 1996, 67(6):637-642.
147. O'Leary JG, Yachimski PS, Friedman LS, et al. Surgery in the patient with liver disease. *Clin Liver Dis* 2009, 13(2):211-231.
148. Cheadle WG. Risk factors for surgical site infection. *Surg Infect (Larchmt)* 2006, 7 Suppl 1:S7-11.

149. Yang T, Stark P, Janik K, et al. SOCS-1 protects against *Chlamydia pneumoniae*-induced lethal inflammation but hampers effective bacterial clearance. *Journal of immunology* 2008, 180(6):4040-4049.
150. Latvala S, Miettinen M, Kekkonen RA, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Streptococcus thermophilus* induce suppressor of cytokine signalling 3 (SOCS3) gene expression directly and indirectly via interleukin-10 in human primary macrophages. *Clinical and experimental immunology* 2011, 165(1):94-103.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Theresa Schubert, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „*SOCS1 und SOCS3 mRNA Expression im Blut im Kontext der perioperativen Immunantwort bei offenen abdominalchirurgischen Eingriffen*“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Danksagung

Allen voran gilt mein großer Dank Frau Professor Dr. med. Claudia Spies, Direktorin der Kliniken für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum, für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit diese Arbeit innerhalb ihrer Abteilung umsetzen zu können.

Besonderer Dank gilt meinen Betreuern, Dr. med. Robin Kleinwächter und insbesondere Dr. Clarissa von Haefen, für ihre Ausdauer, umfassende und stete Unterstützung sowie konstruktive Kritik.

Ebenso gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr.med. Christoph Ploner, stellvertretender Direktor der Klinik für Neurologie Charité Campus Virchow, für den gewährten Freiraum die Arbeit fertigzustellen, seine Ausdauer dies abzuwarten und für all die Möglichkeiten und spannenden Arbeitsfelder, die mir in meiner Facharztausbildung zugänglich waren.

Ich danke herzlich Frau Birgit Brandt, medizinisch-technische Assistentin der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin Campus Virchow-Klinikum, für die großartige Unterstützung bei den Expressionsanalysen.

Im Weiteren gilt mein Dank Herrn Robert Röhle vom Koordinierungszentrum für klinische Studien der Charité-Abteilung Biometrie für seine detaillierte und gewissenhafte Beratung bei der statischen Auswertung der Arbeit.

Ferner danke ich den Mitarbeitern des Institutes für Immunologie unter der Leitung von Prof. Dr. med. Volk, Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum für ihre Unterstützung und Hilfe bei der Bestimmung der immunologischen Parameter.

Darüber hinaus gilt mein Dank den Doktoranden des Lebensstil-Projekts für die kollegiale und fruchtbare Zusammenarbeit.

Besonders erwähnen möchte ich meine Familie und meine wunderbare Shirly aka Dr. Doolittle, die mich stets liebevoll förderten und forderten. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht zu einem Abschluss gekommen.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste (Stand 11/2015)

Dinges M, Riemer T, Schubert T, Prüss H: **Musical hallucinations after pontine ischemia: the auditory Charles Bonnet syndrome?** *Journal of neurology* 2013, **260**(10):2678-2680.