

## 5. Zusammenfassung

**Einleitung:** Leukozyten, die in entzündetes Gewebe einwandern, enthalten Opioidpeptide. Diese Opioidpeptide werden z.B. unter dem Einfluss von Stress oder lokaler Injektion von Corticotropin Releasing Hormone (CRH) freigesetzt, binden an Opioidrezeptoren auf peripheren Nerven und wirken antinozizeptiv. Im Verlauf der Entzündung spielen verschiedene Leukozytensubpopulationen eine Rolle. In der frühen Entzündung (2 h nach FCA-Injektion) wandern vor allem polymorphkernige Granulozyten ins Gewebe, in der späten Entzündung (96 h nach FCA-Injektion) Monozyten/Makrophagen<sup>8</sup>. Bislang war jedoch unklar, welche funktionelle Bedeutung die einzelnen Leukozytensubpopulationen im Rahmen der peripheren, Stress-induzierten, Opioid-vermittelten Antinozizeption haben. Die in dieser Arbeit untersuchte Hypothese lautete: Monozyten/Makrophagen sind für die periphere Opioid-vermittelte Antinozizeption in der späten Phase der durch FCA-induzierten Entzündung verantwortlich. In diesem Zusammenhang wurden folgende Fragen untersucht: Zu welchem Zeitpunkt sind Monozyten/Makrophagen im entzündeten Gewebe vorhanden? Welcher Anteil der Monozyten/Makrophagen enthält Opioidpeptide? Lassen sich Monozyten/Makrophagen und Opioidpeptid-haltige Leukozyten im Gewebe selektiv und effizient depletieren? Welchen Einfluss hat die Depletion von Monozyten/Makrophagen auf die periphere, Stress-induzierte, Opioid-vermittelte Antinozizeption?

**Material und Methoden:** Als Entzündungsmodell diente die lokale Entzündung der Rattenhinterpfote nach einer FCA-Injektion. Das Pfortengewebe wurde zu verschiedenen Zeitpunkten nach Entzündungsinduktion entnommen. Die einzelnen Leukozytenpopulationen wurden durch spezifische Antikörperfärbungen in der Durchflusszytometrie bezüglich Zelltyp und Opioidpeptid-Expression charakterisiert. Die Zellzahl wurde unter Verwendung von TruCOUNT™ Partikeln bestimmt. Die Monozyten/Makrophagen wurden durch intraplantare Injektion von Clodronat-haltige Liposomen depletiert. Zum besseren Verständnis der funktionellen Bedeutung der gewonnenen zellulären Ergebnisse wurden die Verhaltensuntersuchungen (Pfortendruckschwelle nach Kalt-Wasser-Schwimmstress) von Frau Dr. Labuz angeführt.

**Ergebnisse:** In der frühen Entzündung (< 24 h) bildeten RP-1<sup>+</sup> Granulozyten mit 38 ± 6 % bis 54 ± 11 % die größte Leukozytensubpopulation, zu späten Zeitpunkten der Entzündung (> 24

h) waren dagegen vor allem ED1<sup>+</sup> Monozyten/Makrophagen mit 56 ± 8 % bis 66 ± 5 % vorhanden. Nach 48 h bzw. 96 h Entzündung enthielten 36 bzw. 37 % der Monozyten/Makrophagen Opioidpeptide. Gleichzeitig bildeten die Monozyten/Makrophagen die größte Gruppe der Opioidpeptid-haltigen Leukozyten mit 71 % nach 48 h Entzündung und 77 % nach 96 h Entzündung. Nach intraplantarer Injektion Fluoreszenz-haltiger Liposomen ließ sich nach 48 h bzw. 96 h Entzündung in 99 % bzw. 77 % der CD45<sup>+</sup> Leukozyten Fluoreszenz nachweisen. Nach intraplantarer Injektion Clodronat-haltiger Liposomen nahm die Anzahl der ED1<sup>+</sup> Monozyten/Makrophagen in der behandelten Gruppe im Vergleich zur PBS-Kontrolle signifikant um 30 % nach 48 h Entzündung und um 35 % nach 96 h ab. Die Granulozyten wurden nicht signifikant beeinflusst. Die Lymphozyten nahmen zum Zeitpunkt 48 h, nicht aber nach 96 h Entzündung signifikant zu. Auch die Opioidpeptid-haltigen Leukozyten wurden nach intraplantarer Injektion Clodronat-haltiger Liposomen signifikant um 35 % bzw. 42 % nach 48 h bzw. 96 h Entzündung reduziert. Gleichzeitig verringerte sich die periphere, Stress-induzierte, Opioid-vermittelte Antinozizeption gemessen in der Pfortendruckschwelle zu beiden Zeitpunkten um jeweils 20 %.

**Schlussfolgerung:** Monozyten/Makrophagen stellen in der späten Entzündung (> 24 h) die größte Leukozytensubpopulation dar und sind gleichzeitig die Hauptproduzenten von Opioidpeptiden. Die intraplantare Injektion Clodronat-haltiger Liposomen ist eine geeignete Strategie, um Monozyten/Makrophagen und Opioidpeptid-haltige Leukozyten in der späten Entzündung selektiv zu reduzieren. Jedoch ist diese Maßnahme nur von mittelgradiger Effizienz (Abnahme der Monozyten/Makrophagen um 35 - 40 %). Die Depletion von Monozyten/Makrophagen reduziert die periphere, Stress-induzierte, Opioid-vermittelte Antinozizeption. Daraus folgt, dass Monozyten/Makrophagen eine Rolle in der peripheren Opioid-vermittelten Antinozizeption spielen.

**Ausblick:** Die zunehmenden Erkenntnisse über die periphere Opioid-vermittelte Antinozizeption rücken neue Wege der Schmerztherapie ins Zentrum des Interesses. Sowohl die Anwendung exogener peripher wirkender Opioide als auch die gentechnisch verstärkte Expression endogener Opioide oder Opioidrezeptoren sind Gegenstand der Forschung<sup>24, 81-83</sup>. Sie bieten möglicherweise in der Zukunft Ansätze für neue therapeutische Strategien in der Schmerztherapie.