

Aus der medizinischen Klinik und Polyklinik des Universitäts-
klinikums Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: R. O. Riecken
Abteilung für Kardiologie und Pulmonologie
Abteilungsleiter: H. P. Schultheiss

Thema

**Vergleich des Respiratory Burst von Monozyten und Granulozyten von
HIV-Patienten und Probanden**

**Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs
Humanmedizin
der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von: Martin Scherwinski
aus : Borken Westfalen**

Referent: Prof. Dr. G. Höffken

Koreferent: Prof. Dr.M. Mielke

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 05.09.2003

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 HIV- Infektion: Klinik und Pathophysiologie

1.1.1 Pathophysiologie

1.2 Physiologie T- Zell- vermittelter Immunreaktionen

1.2.1 Hämatopoese

1.2.2 Antigenerkennung über antigenpräsentierende Zellen

1.2.3 T-Zell abhängige Immunreaktion

1.2.3.1 Mechanismen CD4- positiver T-Lymphozyten in der Induktion der spezifischen Immunreaktion

1.2.3.1.1 Differenzierung CD4- positiver Lymphozyten in die Untergruppen TH1 oder TH2

1.2.3.2 Immunreaktion CD8- positiver T-Lymphozyten

1.3 Abwehrsystem Phagozyten

1.3.1 Neutrophile Granulozyten

1.3.1.1 Allgemeines

1.3.1.2 Generationszyklus der neutrophilen Granulozyten

1.3.1.3 Mobilität

1.3.1.4 Adhäsion

1.3.1.5 Phagozytose

1.3.1.6 Mikrobizidie

1.3.2 Monozyten

1.4 Sauerstoffanionenbildung von Phagozyten

1.5 Wirkungsweise von Phorbol-12-Myristate-13-Acetate (PMA), Natriumfluorid (NAF) und Granulocyte Monozyte-Colony Stimulating Factor (GM-CSF)

1.5.1 PMA

1.5.2 NAF

1.5.3 GM-CSF

1.6 Fragestellung

2. Versuchsaufbau, Material und Methodik

2.1 Übersicht

2.2 Zellseparation und Kultur von Monozyten und Granulozyten

2.2.1 Material und Geräte

2.2.2 Zellseparation

2.3 Zellstimulation

2.3.1 Materialien

2.3.2 Cytochrom-C

2.3.3 PMA, NAF

2.3.4 GM-CSF

2.3.5 Superoxiddismutase

2.4 Meßsystem und Messung der Sauerstoffanionenbildung

2.4.1 Material und Geräte

2.4.2 Meßsystem

2.4.3 Messung

3. Untersuchungskollektiv und statistische Auswertung

3.1 Probanden

3.2 Patienten

3.3 Statistische Auswertung

4. Versuchsergebnisse

4.1 Ermittlung geeigneter Messzeitpunkte und Konzentrationen für PMA, NAF und GM-CSF im eingesetzten Meßsystem

4.1.1 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für PMA und NAF

4.1.1.1 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Monozyten mit dem Stimulans PMA

- 4.1.1.2 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Monozyten mit dem Stimulans NAF
- 4.1.1.3 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Granulozyten mit dem Stimulans PMA
- 4.1.1.4 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Granulozyten mit dem Stimulans NAF
- 4.1.1.5 Bestimmung der optimalen Arbeitskonzentration von NAF bei Monozyten gesunder Probanden
- 4.1.1.6 Ermittlung der optimalen Arbeitskonzentration von GM-CSF in Verbindung mit dem Stimulans PMA bei Monozyten von Probanden
- 4.1.1.7 Ermittlung der optimalen Arbeitskonzentration von GM-CSF in Verbindung mit dem Stimulans PMA bei Granulozyten von Probanden
- 4.1.1.8 Bestimmung der optimalen Inkubationszeit von GM-CSF bei Monozyten von Probanden in Verbindung mit dem Stimulans PMA
- 4.1.1.9 Bestimmung der optimalen Inkubationszeit von GM-CSF bei Granulozyten von Probanden in Verbindung mit dem Stimulans PMA

4.2 Granulozyten

- 4.2.1 Probanden
 - 4.2.1.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation
 - 4.2.1.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF
 - 4.2.1.2.1 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit PMA
 - 4.2.1.2.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit NAF
- 4.2.2 Patienten
 - 4.2.2.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert, nach NAF-, PMA-Stimulation
 - 4.2.2.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF
 - 4.2.2.2.1 Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit PMA
 - 4.2.2.2.2 Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit NAF
- 4.2.3 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten
 - 4.2.3.1 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten nach Stimulation mit PMA
 - 4.2.3.2 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten nach Stimulation mit NAF

- 4.2.3.3 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten unstimuliert
- 4.2.3.4 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten nach Vorinkubation mit GM-CSF

4.3 Monozyten

- 4.3.1 Probanden
 - 4.3.1.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation
 - 4.3.1.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF
- 4.3.2 Patienten
 - 4.3.2.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation
 - 4.3.2.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF
 - 4.3.2.3 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten
 - 4.3.2.3.1 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation
 - 4.3.2.3.2 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten nach Vorinkubation mit GM-CSF

5. Diskussion

5.1 Ergebnisse GM-CSF

5.2 Ergebnisse Monozyten

5.3 Ergebnisse Neutrophile Granulozyten

6. Zusammenfassung

7. Literaturverzeichnis

8. Lebenslauf

9. Danksagung

Die G-Proteine (NAF stimuliert die G-Proteine) sind auf zwei verschiedene Arten in der Lage, den Oxidative Burst zu stimulieren:

1. G-Proteine aktivieren direkt die NADPH Oxidase.
2. G-Proteine aktivieren über die Phospholipase C, Inosit-1,4,5,-tri-phosphat und Diacylglycerin die Proteinkinase-C (PMA stimuliert die Proteinkinase-C), die ihrerseits direkt die NADPH-Oxidase aktiviert. Daraus kann gefolgert werden, daß entweder eine mangelnde Aktivität der Proteinkinase-C oder ein Mangel an ihrem Substrat ursächlich für die niedrigere Sauerstoffanionenbildung bei Granulozyten von HIV-Patienten gegenüber jener bei Granulozyten gesunder Probanden ist.

8. Lebenslauf:

Name: Scherwinski
Vorname: Martin
Geburtsdatum: 05.01.1965
Geburtsort: Borken (Nordrhein-Westfalen)

Schulische Ausbildung:

1971-1975 Besuch der Johann-Walling-Grundschule, Borken
1975- 1984 Besuch des Gymnasium Remigianum, Borken

Zivildienst:

1984-1986 DRK Kreisverband, Borken

Universitäre Ausbildung:

1986, SS Beginn des Studiums der Humanmedizin an der FU Berlin
17.08.88 ärztliche Vorprüfung in Berlin
29.08.89 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
25.08.92 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
26.04.94 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
1993-1994 Praktisches Jahr
Innere Medizin Jüdisches Krankenhaus
Gastroenterologie
Chirurgie DRK Krankenhaus Mark Brandenburg
Allgemeinchirurgie
Wahlfach Anästhesie Humboldt Krankenhaus

Arzt im Praktikum:

15.03.95-30.09.1995 Anästhesie Klinikum Frankfurt Oder
Innere Medizin Diab Berlin GMBH

Assistenzarzt:

seit 15.10.1996 Innere Medizin Diab Berlin GMBH

9. Danksagung

Besonders danken für die Unterstützung bei der Erstellung der Promotionsarbeit möchte ich meinem Betreuer, Herrn Prof. Dr. G. Höffken für die wissenschaftlichen Anregungen bei der Diskussion der Arbeit, Frau Gisela Bähge für die engagierte Unterstützung im praktischen Teil der Arbeit, Ulrike Grömping für die Beratung bei der statistischen Bearbeitung der Meßdaten und Ihrer unermüdlichen Diskussionsbereitschaft, und natürlich Alexandra, Rüdiger und Torsten.