

4. Versuchsergebnisse

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

Die Messungen wurden mit dem Ziel durchgeführt, für das Meßsystem, in Verbindung mit den verwandten Stimuli (PMA, NAF) und Zellreihen (Monozyten, Granulozyten), geeignete Versuchsmesszeitpunkte für die verwandten Stimuli zu ermitteln. Als Kriterium für einen geeigneten Versuchszeitmesspunkt galt, daß möglichst am Reaktionsmaximum gemessen werden sollte.

In den Voruntersuchungen zum Zytokin GM-CSF wurden die Endarbeitskonzentration und die Inkubationszeit, die die Sauerstoffanionenbildung der beiden verwendeten Zellreihen, in Verbindung mit einem Stimulans, am meisten steigerte, bestimmt.

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

Abb.9

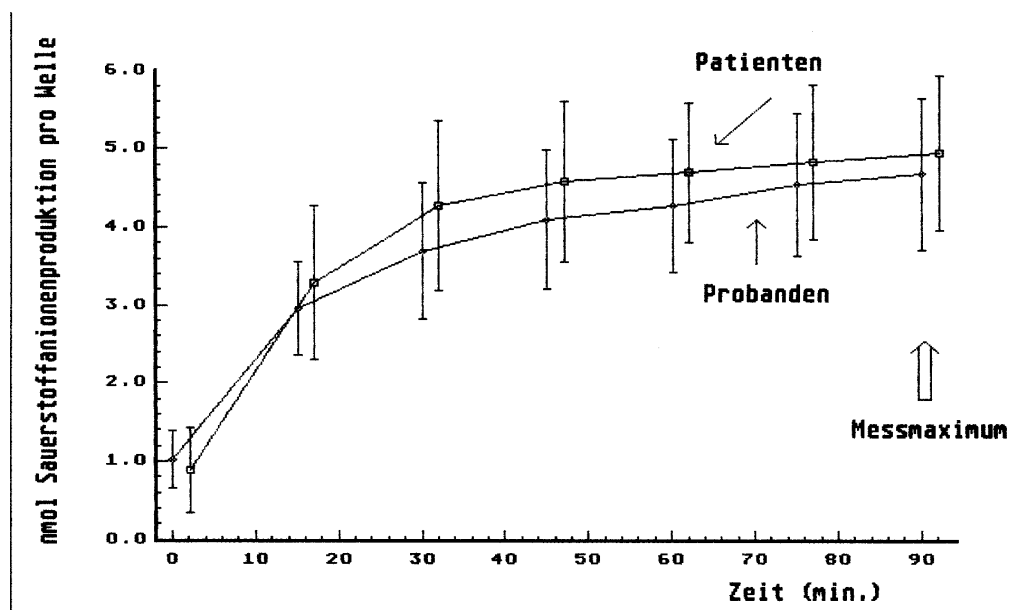


Abb.9 zeigt in zwei Kurven die Sauerstoffanionenbildung der Monozyten von Probanden (n=20) und Patienten (n=40) nach PMA-Stimulation.

Die Sauerstoffanionenproduktion zeigt in beiden Gruppen ein Maximum zum Messzeitpunkt 90 Minuten, der deshalb als Referenzzeitpunkt für weitere Messungen gewählt wurde.

4.1.1.2 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Monozyten mit dem Stimulans NAF

Abb.10

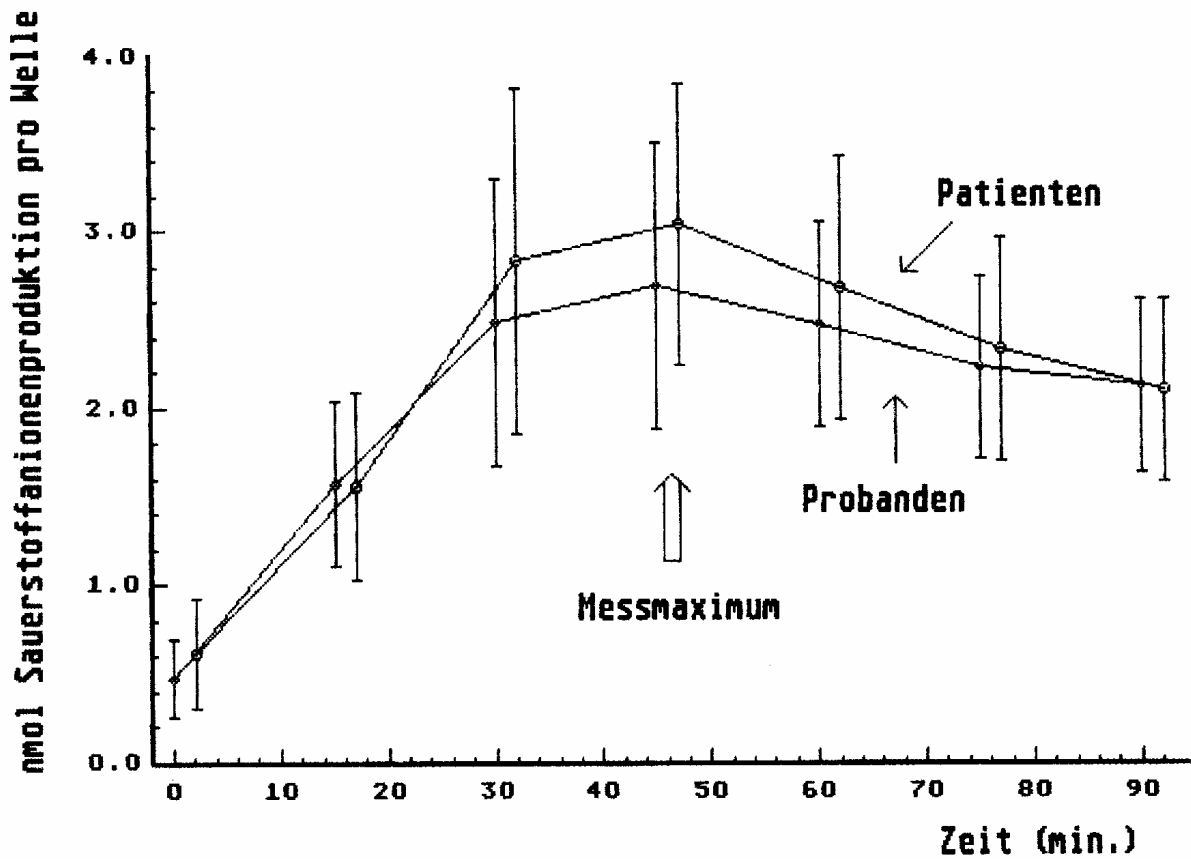


Abb.10 zeigt in zwei Kurven die Sauerstoffanionenbildung der Monozyten von Probanden (n=20) und Patienten (n=40) nach NAF-Stimulation.

Die Sauerstoffanionenproduktion zeigt in beiden Gruppen ein Maximum zum Messzeitpunkt 45 Minuten, der deshalb als Referenzzeitpunkt für weitere Messungen gewählt wurde.

4.1.1.3 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Granulozyten mit dem Stimulans PMA

Abb.11

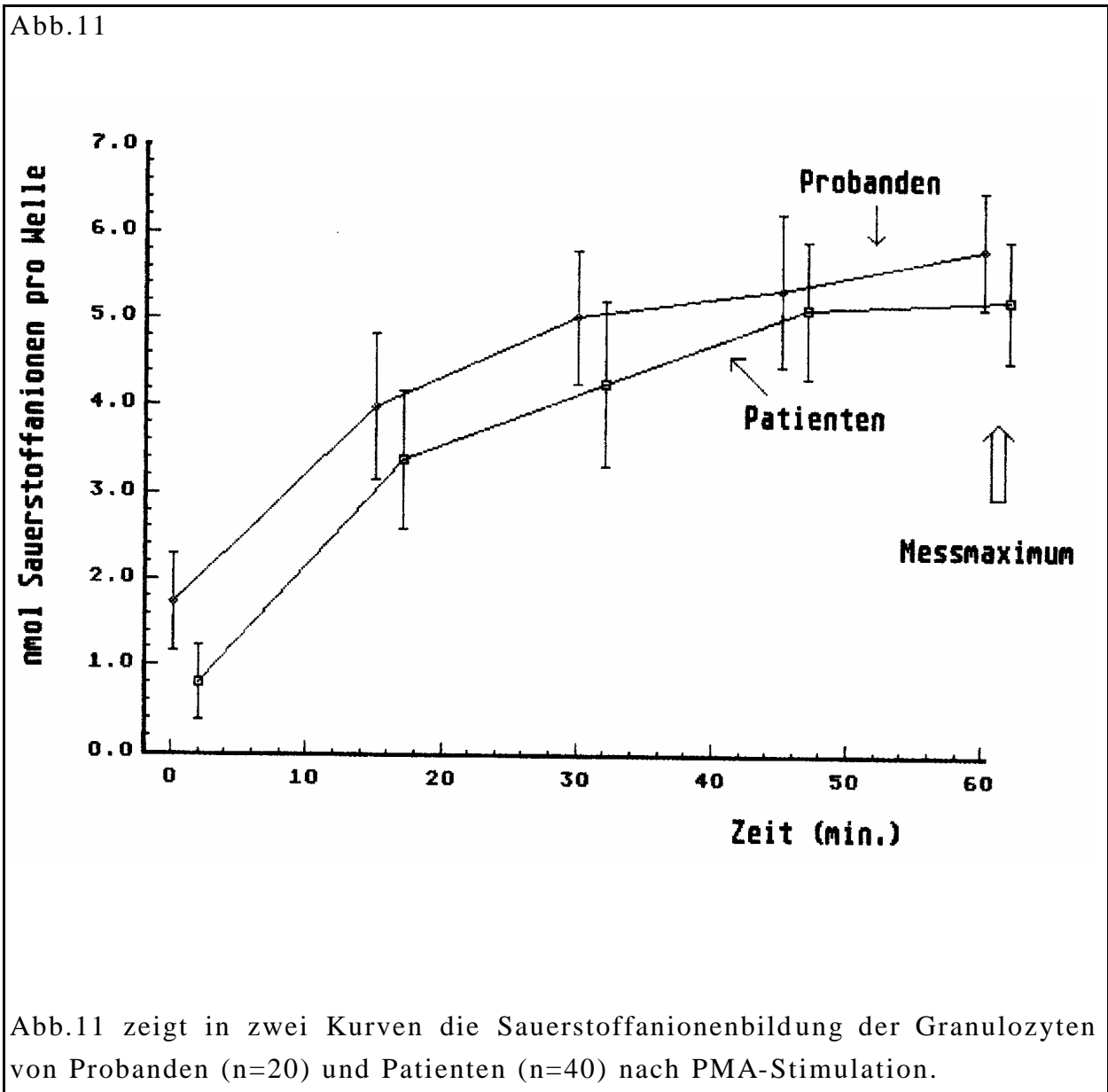


Abb.11 zeigt in zwei Kurven die Sauerstoffanionenbildung der Granulozyten von Probanden (n=20) und Patienten (n=40) nach PMA-Stimulation.

Die Sauerstoffanionenbildung zeigt in beiden Gruppen ein Maximum zum Messzeitpunkt 60 Minuten, der deshalb als Referenzzeitpunkt für weitere Messungen gewählt wurde.

4.1.1.4 Bestimmung des optimalen Messzeitpunktes für Granulozyten mit dem Stimulans NAF

Abb.12

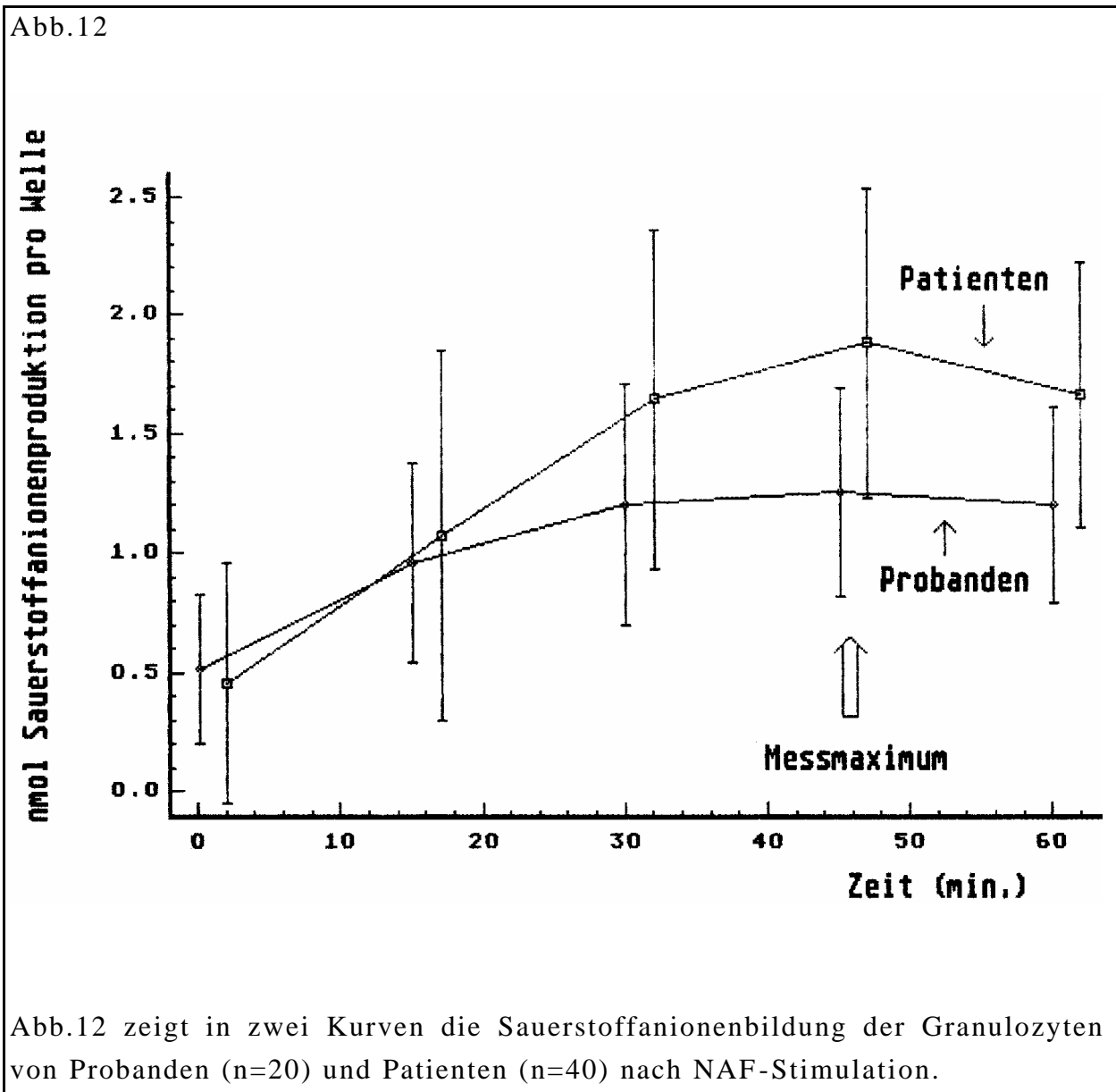


Abb.12 zeigt in zwei Kurven die Sauerstoffanionenbildung der Granulozyten von Probanden (n=20) und Patienten (n=40) nach NAF-Stimulation.

Die Sauerstoffanionenproduktion zeigt in beiden Gruppen ein Maximum zum Messzeitpunkt 45 Minuten, der deshalb als Referenzzeitpunkt für weitere Messungen gewählt wurde.

4.1.1.5 Bestimmung der optimalen Arbeitskonzentration von NAF bei Monozyten gesunder Probanden

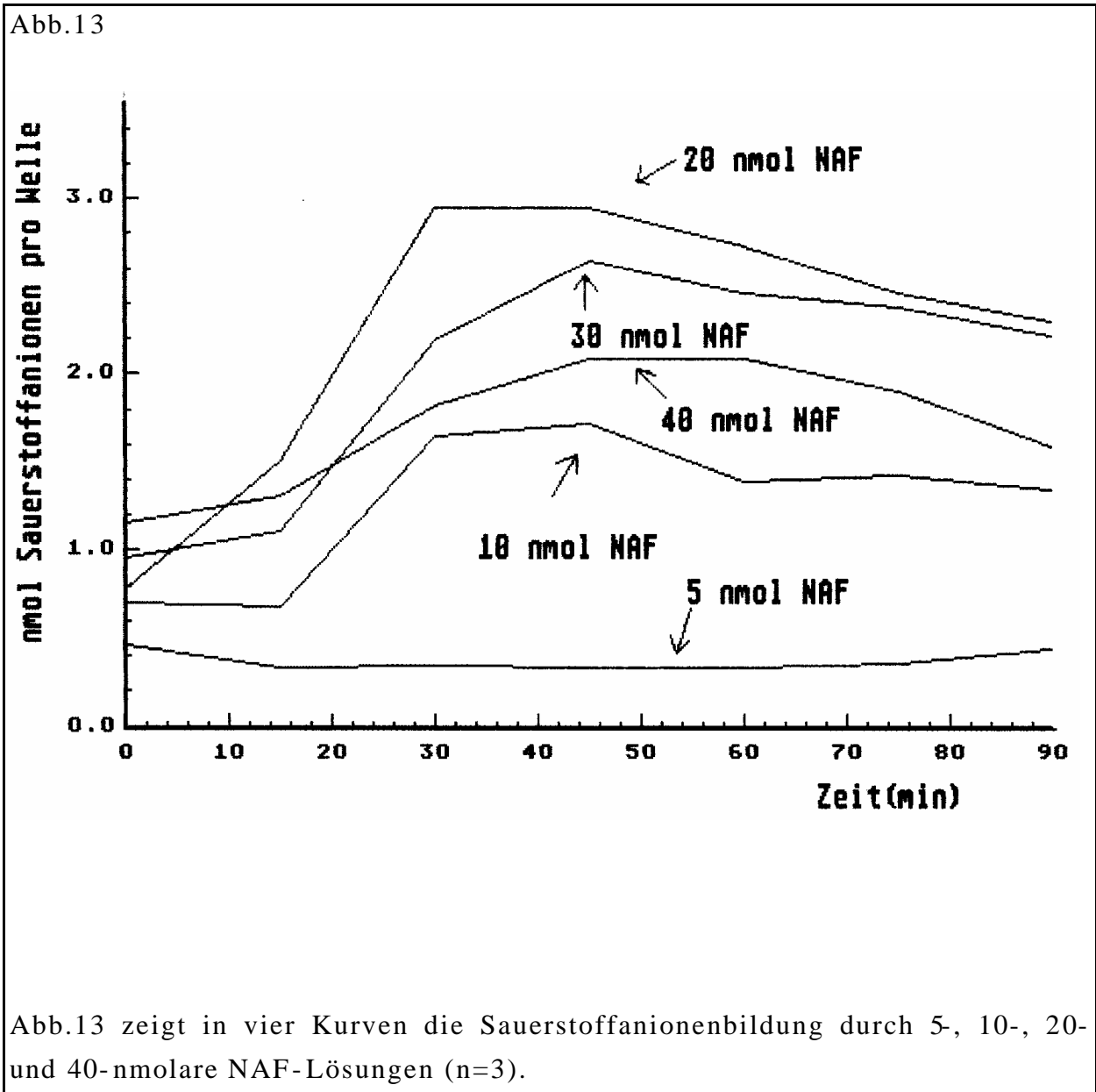


Abb.13 zeigt in vier Kurven die Sauerstoffanionenbildung durch 5-, 10-, 20- und 40-nmolare NAF-Lösungen (n=3).

Die Reaktion auf die 20-nmolare NAF-Lösung zeigt die höchste Sauerstoffanionenbildung. In folgenden Versuchen wurde deshalb mit einer 20-nmolaren NAF-Konzentration gearbeitet.

4.1.1.6 Ermittlung der optimalen Arbeitskonzentration von GM-CSF in Verbindung mit dem Stimulans PMA bei Monozyten von Probanden.

Abb.14

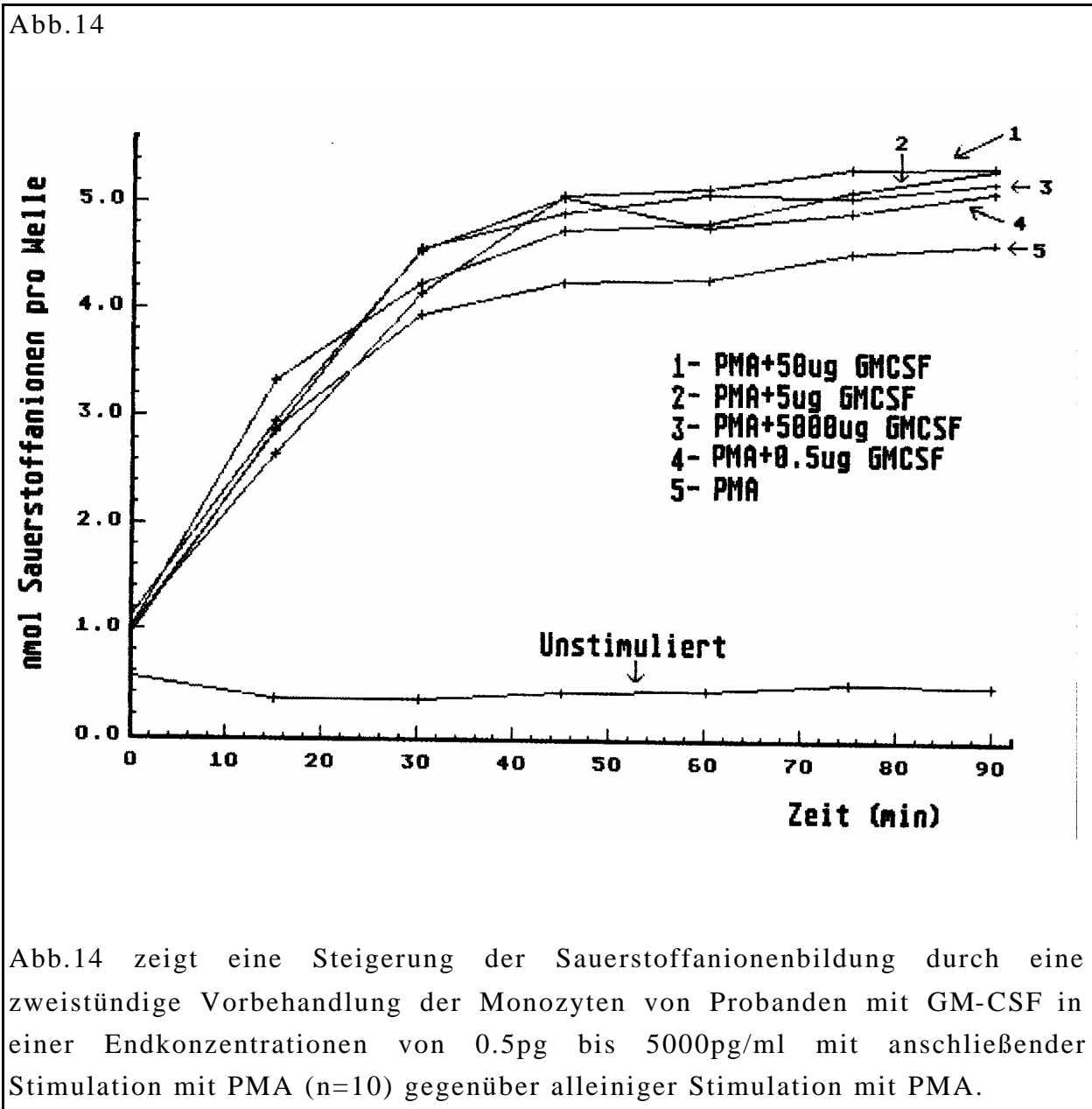


Abb.14 zeigt eine Steigerung der Sauerstoffanionenbildung durch eine zweistündige Vorbehandlung der Monozyten von Probanden mit GM-CSF in einer Endkonzentrationen von 0.5pg bis 5000pg/ml mit anschließender Stimulation mit PMA (n=10) gegenüber alleiniger Stimulation mit PMA.

Die Steigerung der Sauerstoffanionenbildung durch eine zweistündige Vorbehandlung mit GM-CSF in einer Endkonzentration von 0,5 pg/ml bis 5000 pg/ml zeigte eine vergleichbare Steigerung der Saustoffanionenbildung nach Stimulation mit PMA. Für die weiteren Versuche wurde eine Endkonzentration von 5pg/ml GM-CSF gewählt.

In dem gleichen Versuchsaufbau mit dem Stimulans NAF statt PMA zeigte, die Vorinkubation mit GM-CSF keine Steigerung der Sauerstoffanionenbildung bei Monozyten und Granulozyten der Probanden.

4.1.1.7 Ermittlung der optimalen Arbeitskonzentration von GM-CSF in Verbindung mit dem Stimulans PMA bei Granulozyten von Probanden

Abb.15

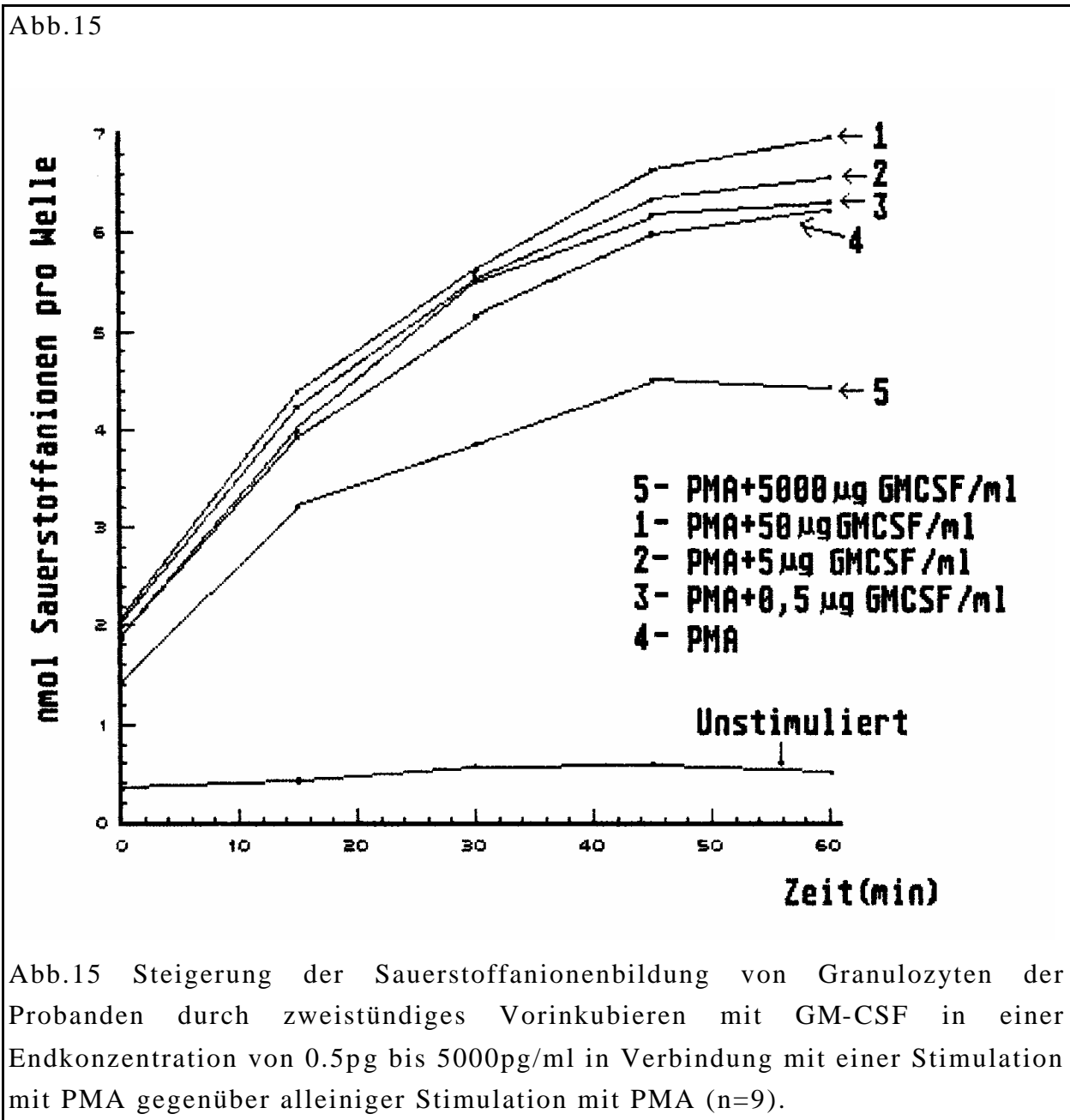
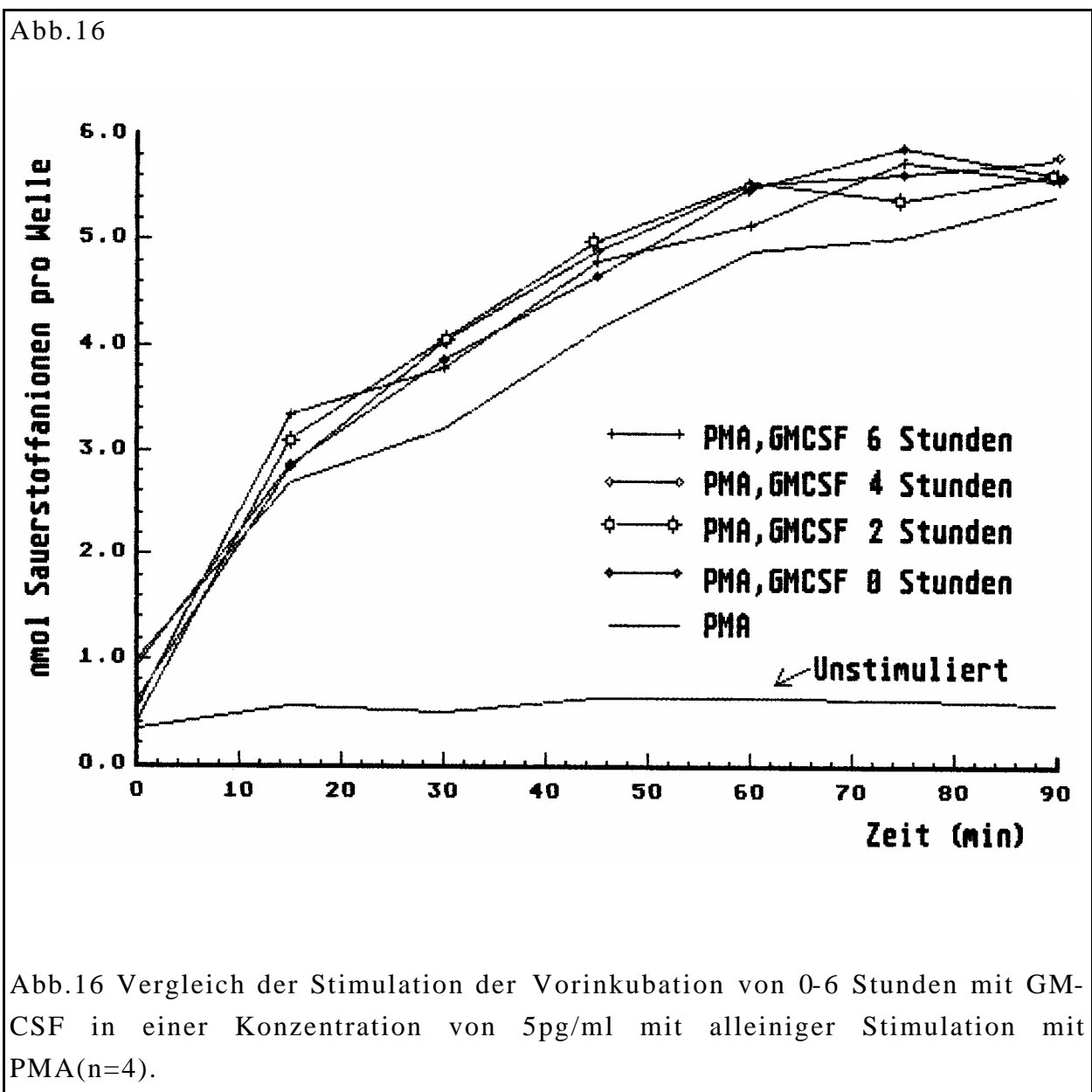


Abb.15 Steigerung der Sauerstoffanionenbildung von Granulozyten der Probanden durch zweistündiges Vorinkubieren mit GM-CSF in einer Endkonzentration von 0.5pg bis 5000pg/ml in Verbindung mit einer Stimulation mit PMA gegenüber alleiniger Stimulation mit PMA (n=9).

Vorinkubieren mit GM-CSF in einer Endkonzentration von 5000pg/ml führte bei Granulozyten von Probanden zu einer Reduktion der

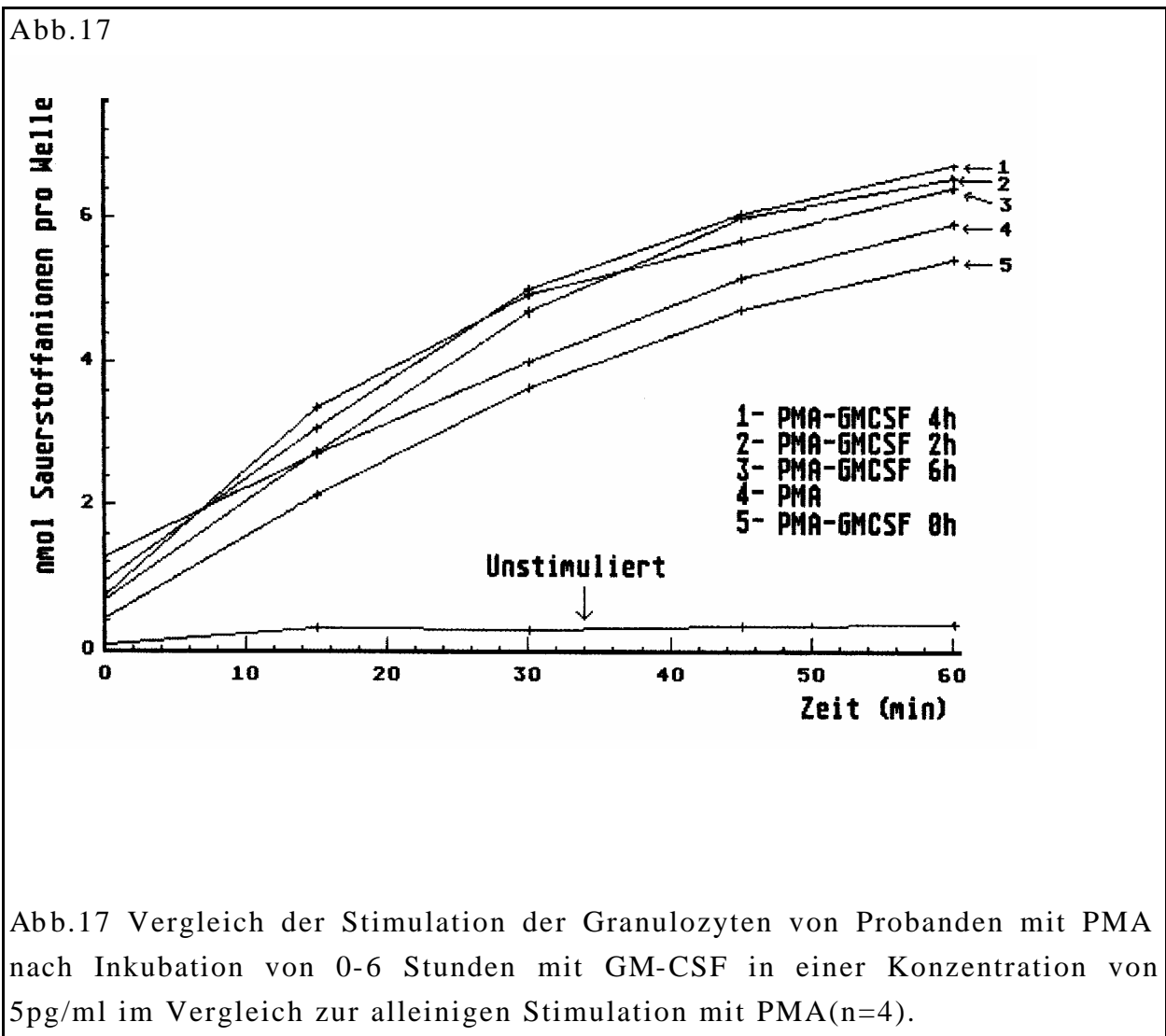
Sauerstoffanionengeneration. Die Steigerung der Sauerstoffanionenbildung durch eine zweistündige Vorbehandlung mit GM-CSF in einer Endkonzentration von 0,5 pg/ml bis 50 pg/ml zeigte eine vergleichbare Steigerung der Saustoffanionenbildung nach Stimulation mit PMA. In den weiteren Versuchen wurde mit einer Endkonzentration von 5pg/ml GM-CSF vorinkubiert.

4.1.1.8 Bestimmung der optimalen Inkubationszeit von GM-CSF bei Monozyten von Probanden in Verbindung mit dem Stimulans PMA



Es zeigte sich, daß die verschiedenen Inkubationszeiten eine ähnliche Steigerung der Sauerstoffanionenbildung im Vergleich zur alleinigen Stimulation mit PMA bewirkten. In den folgenden Versuchen wurde eine Inkubationszeit von 2 Stunden festgelegt.

4.1.1.9 Bestimmung der optimalen Inkubationszeit von GM-CSF bei Granulozyten von Probanden in Verbindung mit dem Stimulans PMA



Es zeigte sich, daß die Inkubationszeiten 2-4-6 Stunden eine ähnliche Steigerung der Sauerstoffanionenbildung im Vergleich zur alleinigen Stimulation mit PMA zur Folge hatte. Die Inkubationszeit 0 Stunden (Primer und Stimulans werden gleichzeitig zur Reaktionsmischung hinzugegeben) zeigte eine

Hemmung der Sauerstoffanionengeneration gegenüber alleiniger Stimulation mit PMA. In den folgenden Versuchen wurde eine Inkubationszeit von 2 Stunden festgelegt.

4.2 Granulozyten

4.2.1 Probanden

4.2.1.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation

Die Sauerstoffanionenbildung konnte nach NAF-Stimulation bei Granulozyten von Probanden gegenüber unstimulierten Zellen gesteigert werden. Die Sauerstoffanionengeneration in der Probandengruppe betrug, bei einer Stichprobengröße von 18, unstimuliert 0,51 nmol Sauerstoffanionen pro Welle, mit NAF stimuliert 1,26 nmol Sauerstoffanionen pro Welle. Auch die Sauerstoffanionenbildung durch PMA-Stimulation konnte gegenüber unstimulierten Zellen gesteigert werden und übertraf die Sauerstoffanionenbildung durch NAF- Stimulation. Die Granulozyten der Probanden zeigten, bei einer Stichprobengröße von 18, eine Sauerstoffanionenbildung von 5,83 nmol pro Welle nach PMA-Stimulation gegenüber 1,26 nmol pro Welle nach Stimulation mit NAF. Die Ergebnisse der Sauerstoffanionenbildung unstimuliert, nach NAF- Stimulation und nach PMA-Stimulation sind in Abb. 18 dargestellt.

Abb. 18

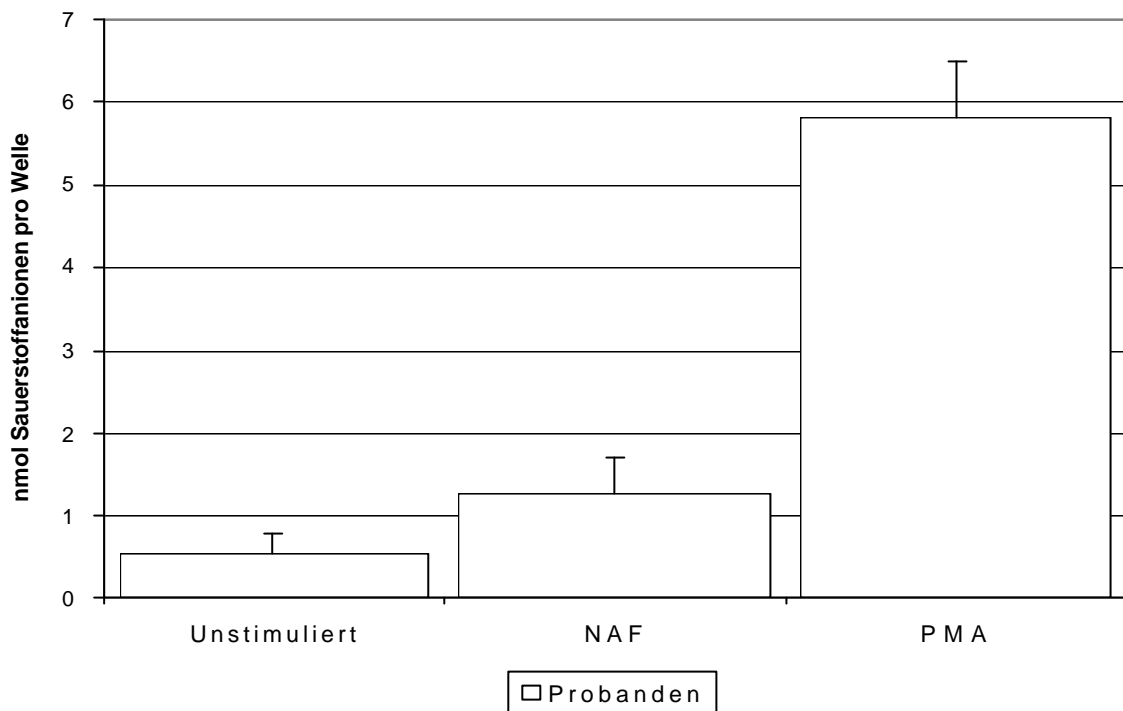


Abb. 18 Sauerstoffanionengeneration durch Granulozyten gesunder Probanden unstimuliert, nach NAF-Stimulation und nach PMA-Stimulation. Stichprobengröße $n = 18$, Messzeitpunkt NAF 45 Minuten, PMA 60 Minuten.

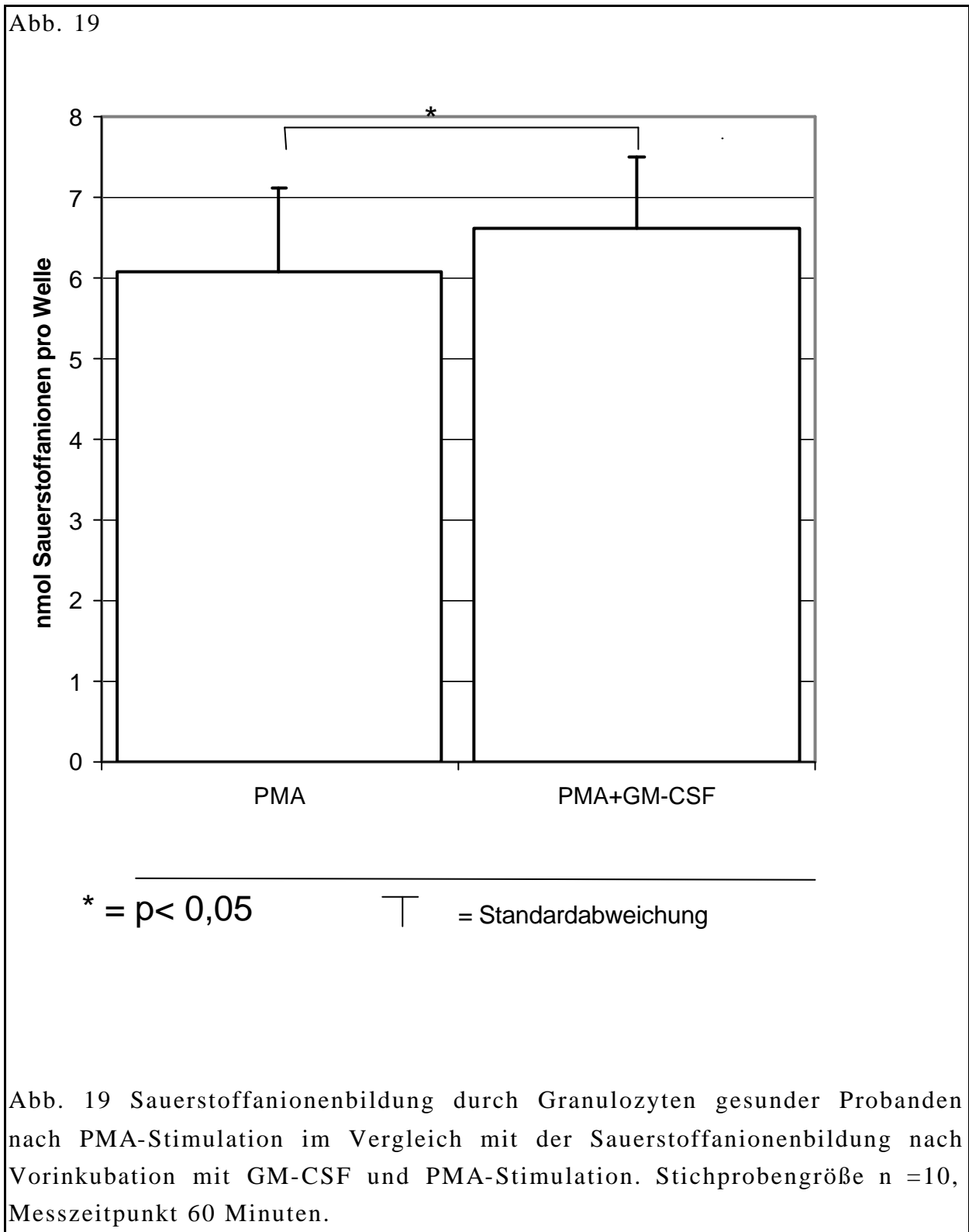
4.2.1.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF

Granulozyten von Probanden wurden im Zusammenhang mit der Stimulation mit NAF und PMA mit GM-CSF vorinkubiert.

4.2.1.2.1 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit PMA

Die mit PMA stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Granulozyten gesunder Probanden zeigten mit 6,61 nmol Sauerstoffanionenbildung pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 10 Probanden, eine signifikant höhere (Signifikanzniveau 0,01) Sauerstoffanionengeneration als die nur mit PMA stimulierten Granulozyten von Probanden mit 6,08 nmol pro Welle im

Wilcoxon Test für verbundene Stichproben. Die Ergebnisse sind in Abb. 19 dargestellt.



4.2.1.2.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit NAF

Die mit NAF stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Granulozyten gesunder Probanden zeigten mit 1,22 nmol Sauerstoffanionenbildung pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 10 Probanden, eine höhere Sauerstoffanionengeneration als die nur mit NAF stimulierten Granulozyten von Probanden mit 1,15 nmol pro Welle. Dieser Unterschied war nicht signifikant im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben. Zusammenfassend sind die Daten mit dem Primer GM-CSF in Tabelle 5 dargestellt.

Tab. 5

Zusammenfassende Darstellung der Versuchsdaten von Probanden mit dem Primer GM-CSF.

	Probanden (n=10)		
	Mw.	Spw.	Std.
T4 Helfer- zellzahl/µl	--	--	--
Ratio	--	--	--
NAF	1,15	0,67-1,93	0,43
NAF+ GM-CSF	1,22	0,61-2,01	0,47
PMA	6,08	5,31-6,71	0,53
PMA+ GM-CSF	6,61	5,63-7,35	0,58

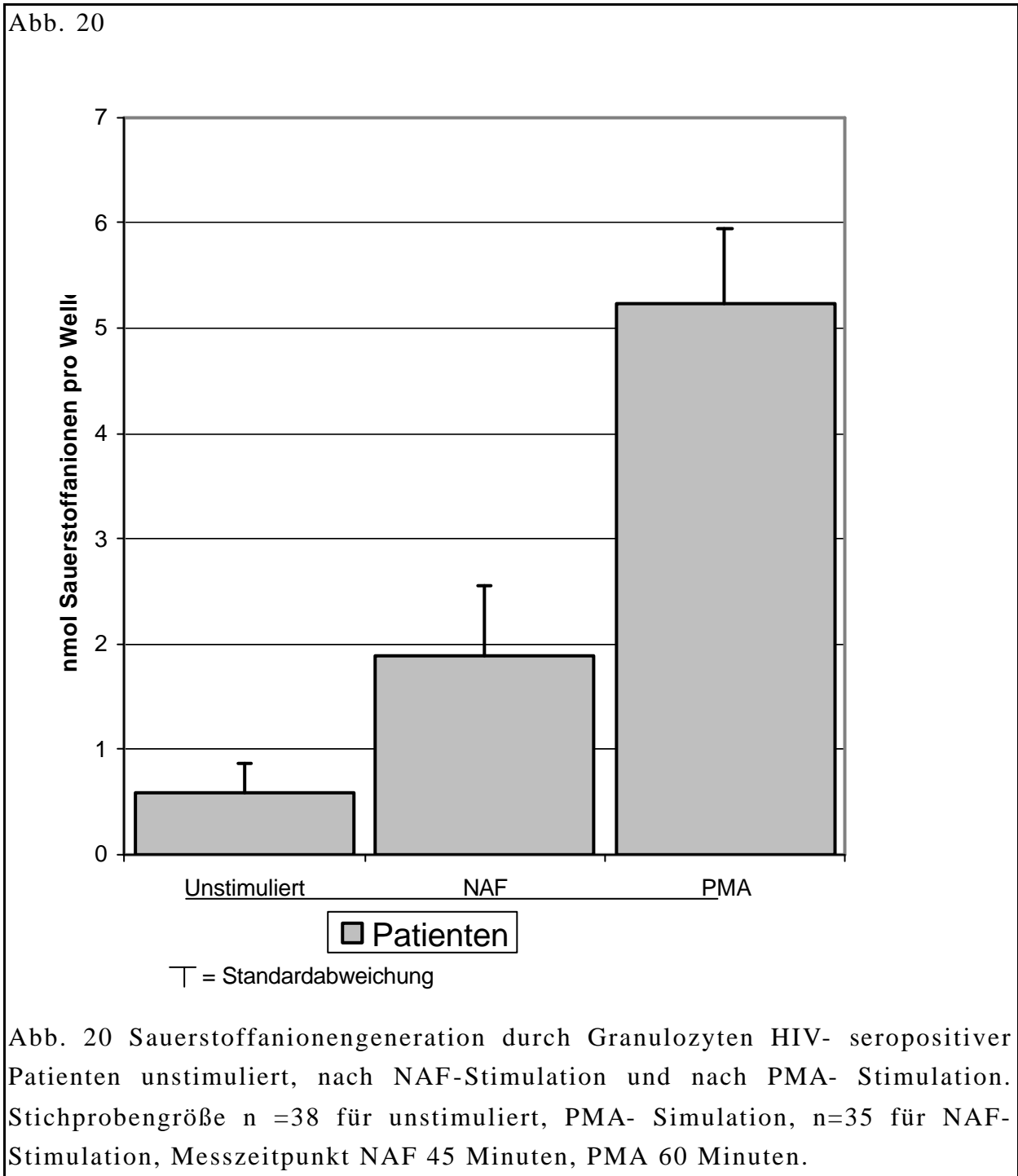
n = Stichprobengr., Mw. =Mittelwert, Spw. = Spannweite, Std. = Standardabw.

4.2.2 Patienten

4.2.2.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert, nach NAF-, PMA-Stimulation

Die Sauerstoffanionenbildung konnte durch NAF-Stimulation bei Granulozyten von Patienten gegenüber unstimulierten Zellen gesteigert werden. Die Sauerstoffanionengeneration in der Patientengruppe betrug, bei einer Stichprobengröße von 35, unstimuliert 0,51 nmol Sauerstoffanionen pro Welle, mit NAF stimuliert 1,89 nmol Sauerstoffanionen pro Welle. Die PMA-induzierte Sauerstoffanionengeneration der Granulozyten HIV-seropositiver Patienten zeigte höhere Werte verglichen mit der NAF- induzierten

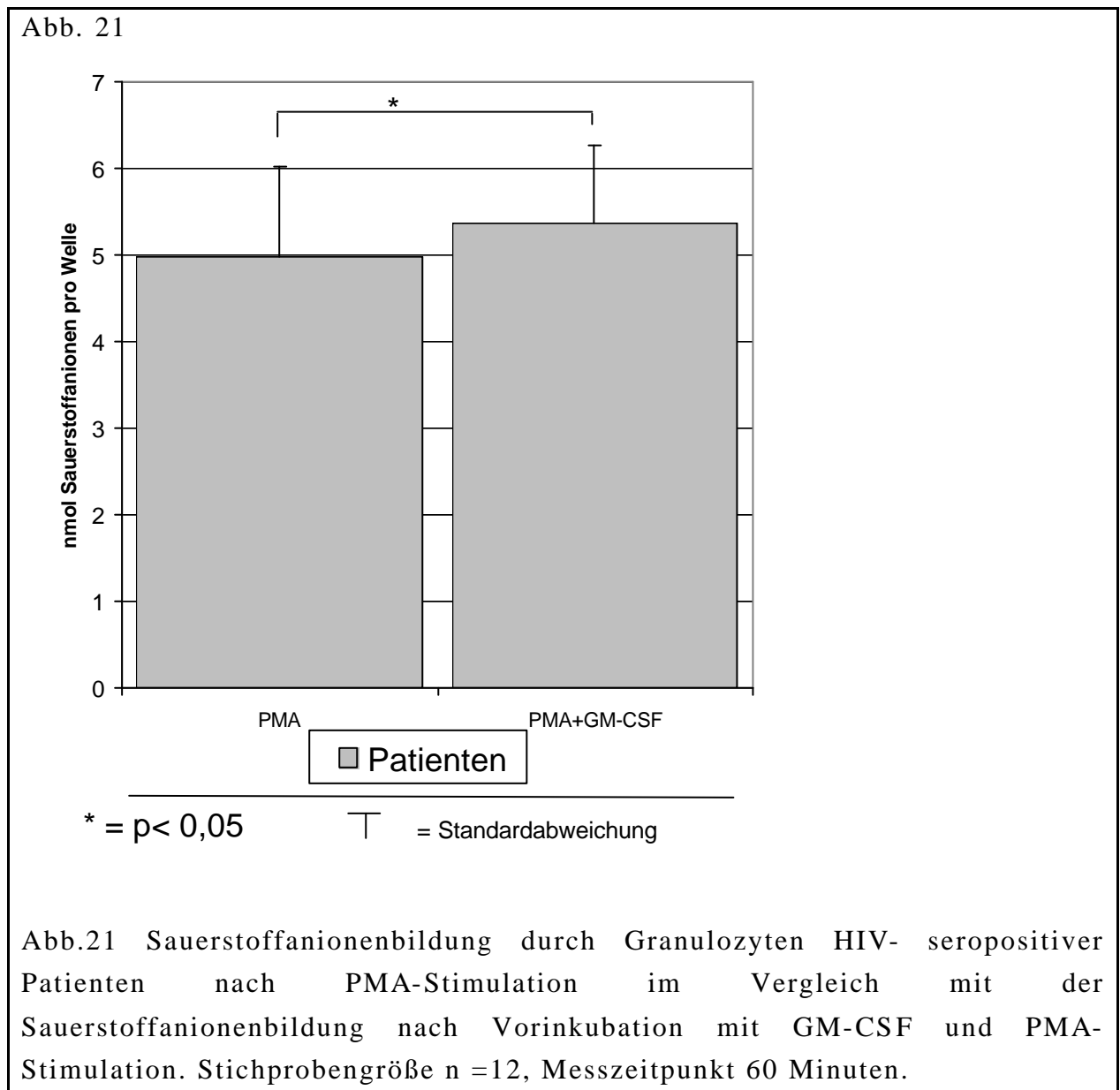
Sauerstoffanionengeneration. Die Granulozyten der Patienten zeigten, bei einer Stichprobengröße von 38, eine Sauerstoffanionenbildung von 5,24 nmol pro Welle nach PMA-Stimulation. Die Ergebnisse der Sauerstoffanionengeneration unstimuliert, nach NAF- Stimulation und nach PMA- Stimulation sind in Abb. 20 dargestellt.



4.2.2.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF

4.2.2.2.1 Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit PMA

Die mit PMA stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Granulozyten HIV-seropositiver Patienten zeigten mit 6,23 nmol Sauerstoffanionenbildung pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 12 Patienten, eine signifikant höhere (Signifikanzniveau 0,05) Sauerstoffanionengeneration als die nur mit PMA stimulierten Granulozyten von Patienten mit 5,92 nmol pro Welle im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben. Nachfolgend werden die Ergebnisse in Abb. 21 dargestellt.



4.2.2.2.2 Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit NAF

Die mit NAF stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Granulozyten HIV-seropositiver Patienten zeigten eine Sauerstoffanionenbildung von 2,22 nmol pro Welle verglichen mit den nur mit NAF stimulierten Granulozyten von Patienten mit 2,05 nmol pro Welle. Die Gruppen unterschieden sich nicht signifikant im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben. Nachfolgend sind die Ergebnisse mit dem Primer GM-CSF zusammenfassend in Tab. 6 dargestellt.

Tab. 6

Zusammenfassende Darstellung der Versuchsdaten von Patienten mit dem Primer GM-CSF.

	Patienten (n=12)		
	Mw.	Spw.	Std.
T4 Helfer- zellzahl/μl	502	22-1080	324,66
Ratio	0,41	0,04-0,76	0,25
NAF	2,05	1,04-3,55	0,71
NAF+GM-CSF	2,22	1,33-3,39	0,74
PMA	5,92	5,14-6,82	0,57
PMA+GM-CSF	6,23	5,34-7,14	0,56

n = Stichprobengr., Mw. =Mittelwert, Spw. = Spannweite, Std. = Standardabw.

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

Die PMA- stimulierten Granulozyten von Probanden zeigten mit eine Sauerstoffanionenbildung von 5,83 nmol pro Welle eine höhere Sauerstoffanionenbildung als die PMA-stimulierte Sauerstoffanionenbildung in der Patientengruppe mit 5,24 nmol Sauerstoffanionen pro Welle. Dieser Unterschied ist signifikant (Signifikanzniveau $p < 0,01$) im Wilcoxon Test für unverbundene Stichproben Nachfolgend werden die Ergebnisse in Abb. 22 dargestellt.

Abb. 22

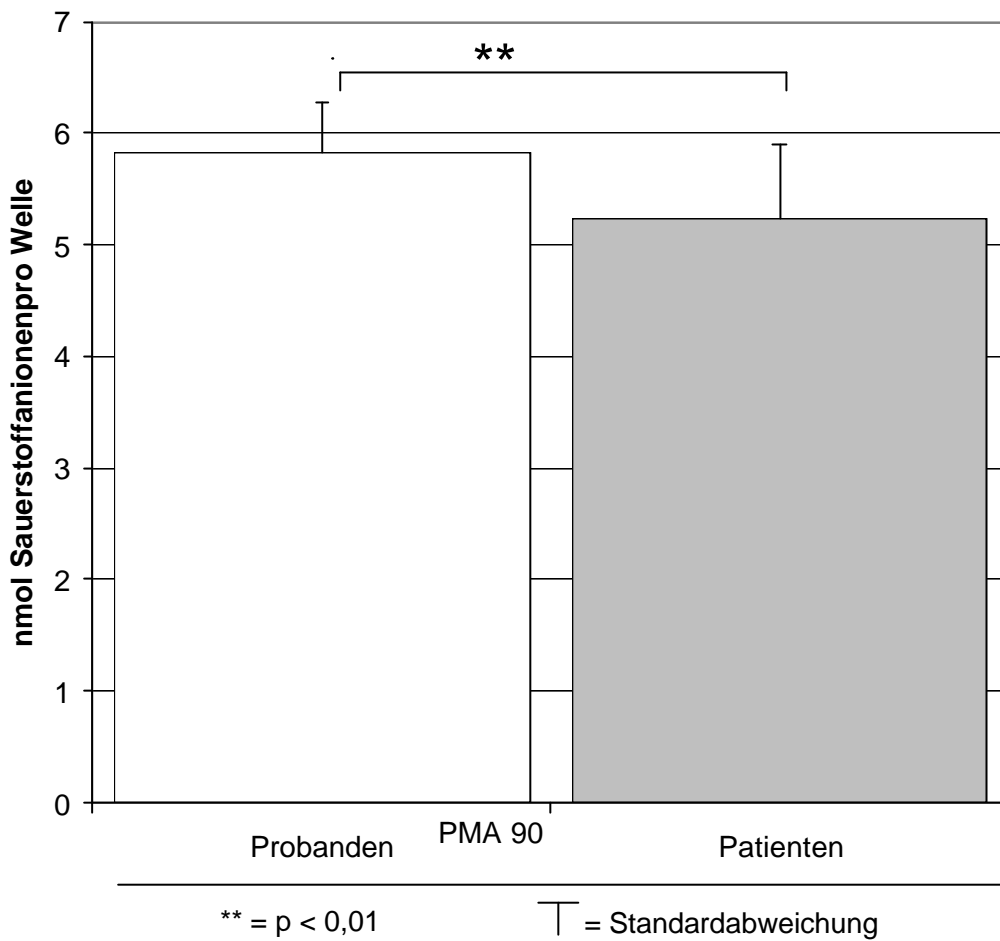


Abb. 22 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration durch Granulozyten von Probanden mit Patienten nach PMA- Stimulation. Stichprobengröße Probanden n =18, Patienten n= 38, Messzeitpunkt 60 Minuten.

Im Folgenden wurde der Zusammenhang zwischen dieser divergierenden Sauerstoffanionengeneration der Granulozyten von Patienten und Probanden nach PMA- Stimulation mit der T₄-Helferzellzahl und der klinischen Krankheitsprogression korreliert. Dazu wurden aus der Patientengruppe eine Subgruppe mit dem Eingangskriterium T₄-Helferzellzahl größer 550 pro µl, einer T₄-Helfer-

zellzahl, bei der klinisch keine HIV-assoziierten Infektionen gesehen werden, eine Subgruppe von Patienten mit einer T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro μ l, einer Gruppe also, in der opportunistische Infektionen sehr häufig auftreten und eine Subgruppe von Patienten mit weniger als 75 T₄-Helferzellen pro μ l und klinisch akuter Infektion mit Fieber größer 39 Grad Celsius, gebildet. Die PMA stimulierte Sauerstoffanionenbildung in der Gruppe mit größer 550 T₄-Helferzellen pro μ l ist mit 5,40 nmol pro Welle mit einer Standardabweichung von 0,71 bei einer Stichprobengröße von 13 Patienten signifikant höher (Signifikanzniveau kleiner 0,05) als in der Gruppe mit weniger als 75 T₄-Helferzellen pro μ l, die eine Sauerstoffanionenbildung von 4,81 nmol pro Welle mit einer Standardabweichung von 0,56 bei einer Stichprobengröße von 12 Patienten zeigte. Ebenso zeigte sich ein signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau kleiner 0,05) zwischen der PMA stimulierten Sauerstoffanionenbildung in der Gruppe mit größer 550 T₄-Helferzellen pro μ l und der Sauerstoffanionenbildung der Granulozyten von Patienten mit einer T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro μ l und akuten Infektionszeichen. Zwischen der Patientengruppe mit einer T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro μ l und jener mit einer T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro μ l und klinisch akuter Infektion mit Fieber größer 39 Grad Celsius ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied. Die Ergebnisse für die Untergruppen nach PMA- Stimulation sind in Abb. 23 dargestellt.

Abb. 23

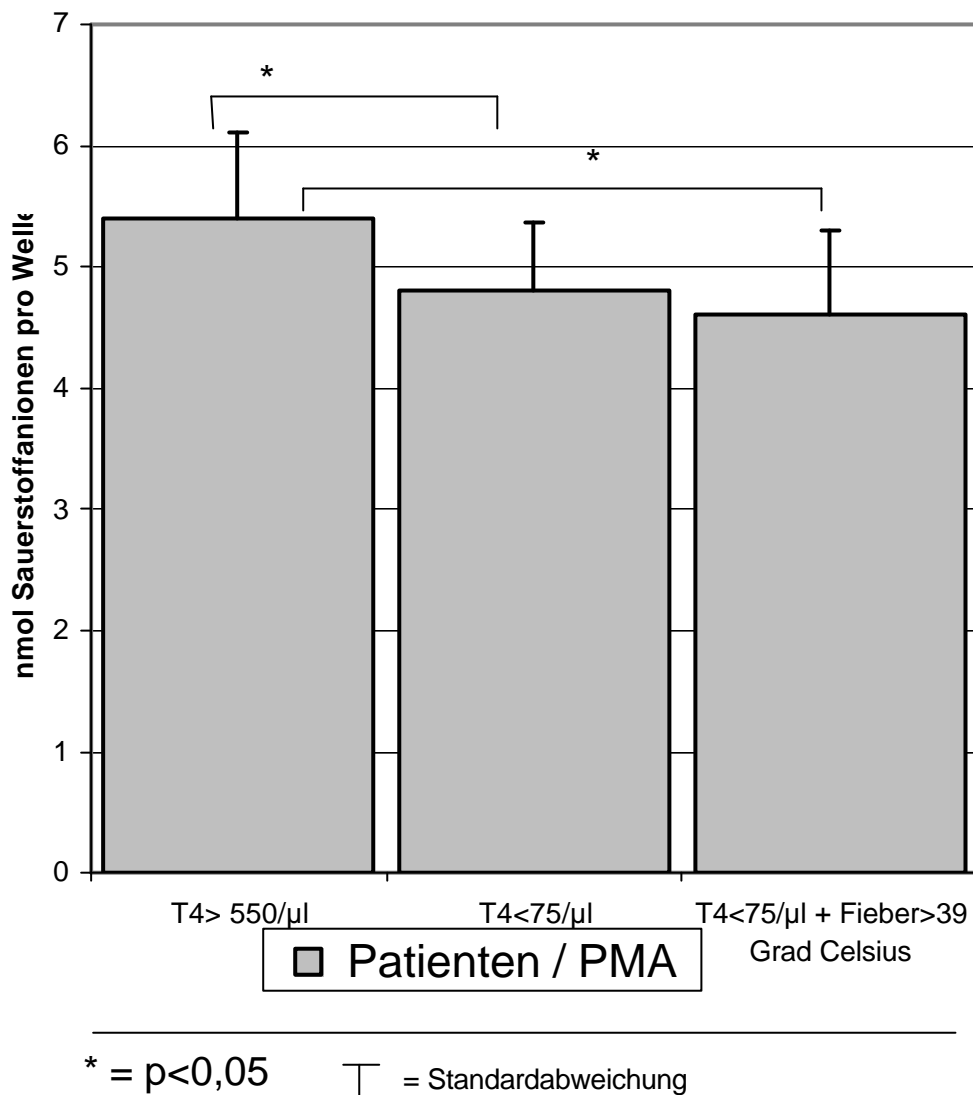


Abb. 23 Sauerstoffanionenbildung durch Granulozyten seropositiver Patienten mit mehr als 550 T₄-Helferzellen pro µl (n= 14) durch Granulozyten HIV-seropositiver Patienten mit weniger als 75 (n= 12) T₄-Helferzellen pro µl und Granulozyten HIV-seropositiver Patienten mit weniger als 75 T₄-Helferzellen pro µl und klinisch akuter Infektion mit Fieber größer 39 Grad Celsius (n= 9) nach PMA-Stimulation. Meßzeitpunkt 60 Minuten.

Eine zusammenfassende tabellarische Darstellung der Versuchsergebnisse in den drei Untergruppen und die dazugehörigen statistischen Kenndaten sind in Tabelle 7 wiedergegeben.

Tab. 7

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse von Granulozyten HIV-seropositiver Patienten der Untergruppen mit den Eingangskriterien:

1. -T₄- Helferzellzahl größer 550 pro μ l,
2. -T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro μ l und
3. -T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro μ l und akuter Infektion mit Fieber größer 39 Grad Celsius in den Versuchen mit den Stimulanzen PMA.

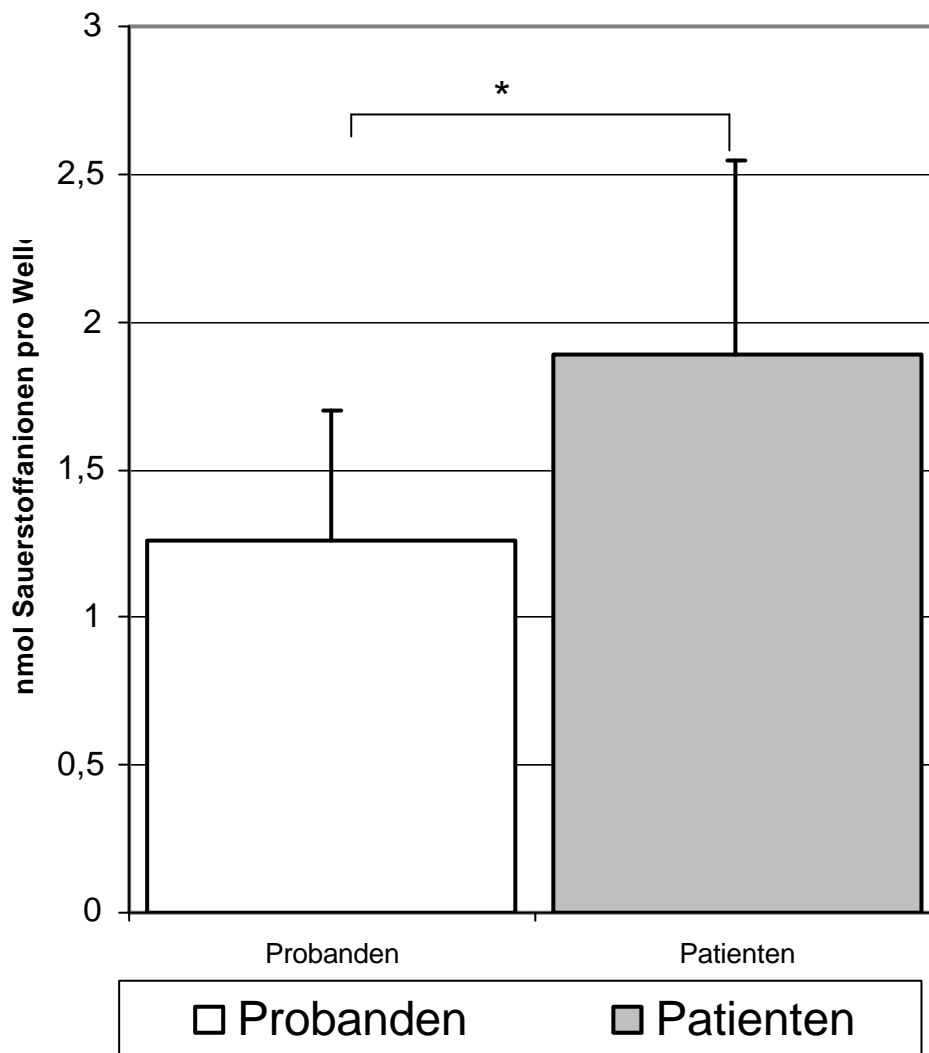
	Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl >550/ μ l (n=14)			Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl <75/ μ l (n=12)			Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl <75/ μ l und Fieber >39 Grad Celsius (n=9)		
	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.
Alter	38,1	24,6-51,0	8,89	44,8	29,0-57,3	8,19	39,2	27,7-58,3	9,73
T₄-Helferzellzahl/μl	727	560-1080	174	29,3	0-73	23,0	24,0	0-56	16,7
Ratio	0,51	0,26-0,76	0,18	0,05	0,00-0,09	0,03	0,08	0,00-0,30	0,09
Gr. PMA 60min.	5,40	4,43-6,67	0,71	4,81	4,14-5,81	0,56	4,61	3,49-5,86	0,70

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, td.=Standardabweichung,

4.2.3.2 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten nach Stimulation mit NAF

Die NAF- stimulierten Granulozyten von Probanden zeigten mit eine Sauerstoffanionenbildung von 1,26 nmol pro Welle eine niedrigere Sauerstoffanionenbildung als NAF-stimulierte Sauerstoffanionenbildung in der Patientengruppe mit 1,89 nmol Sauerstoffanionen pro Welle. Dieser Unterschied ist signifikant im Wilcoxon Test für unverbundene Stichproben. Nachfolgend werden die Ergebnisse in Abb. 24 dargestellt.

Abb. 24



* = $p < 0,05$

⊥ = Standardabweichung

Abb. 24 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration durch Granulozyten von Probanden mit Patienten nach NAF- Stimulation. Stichprobengröße Probanden $n = 20$, Patienten $n = 40$. Messzeitpunkt 45 Minuten.

Ebenso wurde die NAF- stimulierte Sauerstoffanionenbildung der Gruppe mit größer 550 T_4 -Helferzellen pro μl mit 1,95 nmol pro Welle mit der Gruppe mit weniger als 75 T_4 -Helferzellen pro μl , mit 1,94 nmol pro Welle und der Gruppe mit einer T_4 -Helferzellzahl kleiner 75 pro μl und akuten Infektionszeichen mit

2,31 nmol pro Welle verglichen. Zwischen den Untergruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Nachfolgend werden die Daten für die gebildeten Untergruppen nach NAF-Stimulation zusammenfassend in Tab. 8 dargestellt.

Tab. 8

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse von Granulozyten HIV-seropositiver Patienten der Untergruppen mit den Eingangskriterien:

1. -T₄- Helferzellzahl größer 550 pro µl,
2. -T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro µl und
3. -T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro µl und akuter Infektion mit Fieber größer 39 Grad Celsius in den Versuchen mit den Stimulanzen NAF.

	Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl >550/µl (n=14)			Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl <75/µl (n=12)			Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl <75/µl und Fieber >39 Grad Celsius (n=9)		
	Mw	Spw.	Std.	Mw	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.
Alter	38,1	24,6-51,0	8,89	44,8	29,0-57,3	8,19	9,2	27,7-58,3	9,73
T₄-Helferzellzahl/µl	727	560-1080	174	29,3	0-73	23,0	24,0	0-56	6,7
Ratio	0,51	0,26-0,76	0,18	0,05	0,00-0,09	0,03	0,08	0,00-0,30	0,09
Gr. NAF 45 min.	1,95	0,73-3,55	0,88	1,94	1,06-2,90	0,59	2,31	1,22-2,99	0,61

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, td.=Standardabweichung

4.2.3.3 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten unstimuliert

Die unstimulierten Granulozyten von Probanden zeigten mit einer Sauerstoffanionenbildung von 0,51 nmol pro Welle eine niedrigere Sauerstoffanionenbildung als unstimulierte Sauerstoffanionenbildung in der

Patientengruppe mit 0,58 nmol Sauerstoffanionen pro Welle. Dieser Unterschied ist nicht signifikant im Wilcoxon Test für unverbundene Stichproben.

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

Die Steigerungsfähigkeit der Sauerstoffanionenbildung nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit PMA unterschied sich nicht signifikant zwischen Granulozyten von HIV-seropositiven Patienten und Granulozyten von Probanden. Ebenso zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Steigerungsfähigkeit der Sauerstoffanionenbildung nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit NAF von Probanden und Patienten. Eine zusammenfassende Darstellung der Versuchsdaten der Sauerstoffanionenbildung der Granulozyten in Verbindung mit der Vorinkubation mit GM-CSF ist in Tabelle 9 dargestellt.

Tab. 9

Zusammenfassende Darstellung der Versuchsdaten von Probanden und Patienten mit dem Primer GM-CSF.

	Probanden (n=10)			Patienten (n=12)		
	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.
T4 Helfer- zellzahl/μl	--	--	--	502	22-1080	324,66
Ratio	--	--	--	0,41	0,04-0,76	0,25
NAF	1,15	0,67-1,93	0,43	2,05	1,04-3,55	0,71
NAF+GM-CSF	1,22	0,61-2,01	0,47	2,22	1,33-3,39	0,74
PMA	6,08	5,31-6,71	0,53	5,92	5,14-6,82	0,57
PMA+GM-CSF	6,61	5,63-7,35	0,58	6,23	5,34-7,14	0,56

n = Stichprobengr., Mw. =Mittelwert, Spw. = Spannweite, Std. = Standardabw.

4.3 Monozyten

Vergleichbar mit den Untersuchungen an den Granulozyten konnte eine Stimulation der Sauerstoffanionengeneration durch die verwendeten Stimulanzen bei Monozyten von Probanden und Patienten erreicht werden. Mit den Monozyten sind vom Versuchsaufbau identische Versuche wie mit den Granulozyten durchgeführt worden und die Daten sind nach den gleichen statistischen Kriterien ausgewertet worden. Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Sauerstoffanionengeneration zwischen Zellen von Probanden und Patienten. Aus diesem Grunde werden im Folgenden die gewonnenen Daten ausschließlich tabellarisch dargestellt.

4.3.1 Probanden

4.3.1.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation

Die Sauerstoffanionenbildung konnte durch NAF-Stimulation sowohl bei Monozyten Probanden gegenüber unstimulierten Zellen gesteigert werden. Die Sauerstoffanionenbildung in der Probandengruppe betrug unstimuliert 0,48 nmol Sauerstoffanionen pro Welle, mit NAF stimuliert 2,70 nmol Sauerstoffanionen pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 18. Die PMA-induzierten Sauerstoffanionenbildung gesunder Probanden zeigte höhere Werte als die NAF-stimulierte Sauerstoffanionenbildung. Die Monozyten von Probanden zeigten eine Sauerstoffanionenbildung von 4,68 nmol pro Welle nach PMA-Stimulation, bei einer Stichprobengröße von 18, gegenüber 2,70 nmol pro Welle nach Stimulation mit NAF.

4.3.1.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF

Monozyten von Probanden wurden im Zusammenhang mit der Stimulation mit NAF und PMA mit GM-CSF vorinkubiert. Die mit PMA stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Monozyten von Probanden zeigten, bei einer Stichprobengröße von 10, mit 6,61 nmol Sauerstoffanionenbildung pro Welle eine signifikant höhere Sauerstoffanionengeneration (Signifikanzniveau 0,01) als die nur mit PMA stimulierten Monozyten mit 6,08 nmol pro Welle.

Die mit NAF stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Monozyten gesunder Probanden zeigten mit 2,61 nmol Sauerstoffanionenbildung pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 10 Probanden, eine niedrigere Sauerstoffanionengeneration als die nur mit NAF stimulierten Monozyten von Probanden mit 2,83 nmol pro Welle. Dieser Unterschied war nicht signifikant im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben. Zusammenfassend sind die Daten in Tabelle 10 dargestellt.

Tab. 10

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Versuche mit dem Primer GM-CSF von Monozyten gesunder Probanden.

	Probanden (n=10)		
	Mw.	Spw.	Std.
NAF	2,83	1,86-4,29	0,82
NAF+ GM-CSF	2,61	1,76-4,21	0,76
PMA	4,77	3,59-6,76	1,01
PMA+ GM-CSF	5,18	4,01-7,13,	0,94

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, Std.=Standardabweichung

4.3.2 Patienten

4.3.2.1 Sauerstoffanionengeneration, unstimuliert und nach NAF-, PMA-Stimulation

Die Sauerstoffanionenbildung konnte durch NAF-Stimulation bei Monozyten von Patienten gegenüber unstimulierten Zellen gesteigert werden. Die Sauerstoffanionengeneration in der Patientengruppe betrug unstimuliert im Mittel 0,57 nmol Sauerstoffanionen pro Welle, mit NAF stimuliert 3,05 nmol Sauerstoffanionen pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 38. Die PMA-induzierte Sauerstoffanionenbildung der Monozyten HIV-seropositiver zeigte höhere Werte verglichen mit der NAF-Stimulation. Bei den Monozyten der Patienten betrug die Sauerstoffanionenbildung 4,94 nmol pro Welle, nach

PMA-Stimulation, bei einer Stichprobengröße von 38, gegenüber 3,05 nmol pro Welle nach Stimulation mit NAF.

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich wurden analog zu den Versuchsdaten der Granulozyten HIV- positiver- Patienten eine Analyse der Versuchsdaten der HIV- positiven Patienten nach der Höhe der T4- Helferzellzahl und Krankheitsprogression durchgeführt. Zwischen den Ergebnissen innerhalb der Untergruppen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Tab. 11

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse von Monozyten HIV-seropositiver-Patienten der Untergruppen mit den Eingangskriterien:

1. T₄-Helferzellzahl größer 550 pro µl,
2. T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro µl und
3. T₄-Helferzellzahl kleiner 75 pro µl und akuter Infektion mit Fieber größer 39 Grad Celsius in den Versuchen mit den Stimuli PMA und NAF.

	Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl >550/µl (n=15)			Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl <75/µl (n=12)			Patienten mit T ₄ -Helferzellzahl <75/µl und Fieber >39 Grad Celsius (n=9)		
	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.
Alter	38,1	24,6-51,0	8,89	44,8	29,0-57,3	8,19	39,2	27,7-58,3	9,73
T₄-Helferzellzahl/µl	727	560-1080	174	29,3	0-73	23,0	24,0	0-56	16,7
Ratio	0,51	0,26-0,76	0,18	0,05	0,00-0,09	0,03	0,08	0,00-0,30	0,09
Mo. PMA 90min.	4,83	3,38-6,11	0,96	4,73	3,84-6,91	0,91	5,27	3,98-6,05	0,65
Mo. NAF 45 min.	3,04	1,46-4,34	0,74	2,86	1,72-4,21	0,71	3,03	1,60-3,41	0,93

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, Std.=Standardabweichung,

4.3.2.2 Sauerstoffanionengeneration nach Vorinkubation mit GM-CSF

Die mit PMA stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Monozyten HIV-seropositiver Patienten zeigten mit 5,36 nmol Sauerstoffanionenbildung pro Welle, bei einer Stichprobengröße von 12 Patienten, eine signifikant höhere (Signifikanzniveau 0,05) Sauerstoffanionengeneration als die nur mit PMA stimulierten Monozyten von Patienten mit 4,98 nmol pro Welle im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben.

Die mit NAF stimulierten und mit GM-CSF vorinkubierten Monozyten HIV-seropositiver Patienten zeigten eine Sauerstoffanionenbildung von 2,97 nmol pro Welle verglichen mit den nur mit NAF stimulierten Monozyten von Patienten mit 3,09 nmol pro Welle. Die Gruppen unterschieden sich nicht signifikant im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben. Nachfolgend sind die Ergebnisse mit dem Primer GM-CSF zusammenfassend in Tab. 12 dargestellt.

Tab. 12

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Versuche mit dem Primer GM-CSF von Patienten.

	Patienten (n=12)		
	Mw.	Spw.	Std.
T₄-Helfer-zellzahl/μl	502	22-1080	324,7
Ratio	0,41	0,04-0,76	0,25
NAF	3,09	1,46-4,35	0,86
NAF+ GM-CSF	2,97	1,93-4,40	0,86
PMA	4,98	3,38-6,91	1,03
PMA+ GM-CSF	5,36	3,81-6,59	0,89

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, Std.=Standardabweichung

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

Die Monozyten von Probanden zeigten mit einer Sauerstoffanionenbildung von 4,68 nmol pro Welle nach PMA-Stimulation eine niedrigere Sauerstoffanionenbildung als die Monozyten von Patienten mit 4,94 nmol pro Welle. Zwischen Probanden und Patienten ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Größe der Sauerstoffanionenbildung durch PMA-Stimulation. Die Monozyten von Probanden zeigten mit einer Sauerstoffanionenbildung von 2,70 nmol pro Welle nach NAF-Stimulation eine niedrigere Sauerstoffanionenbildung als die Monozyten von Patienten mit 3,05 nmol pro Welle. Die unstimulierten Monozyten von Probanden zeigten eine Sauerstoffanionenbildung von 0,54 nmol pro Welle, die unstimulierten Monozyten der Patienten 0,53 nmol Sauerstoffanionen pro Welle. Dieser Unterschied ist nicht signifikant im Wilcoxon Test für unverbundene Stichproben.

Tab. 13

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse von Monozyten gesunder Probanden und HIV-seropositiver Patienten in den Versuchen mit den Stimulanzen PMA und NAF und unstimuliert.

	Probanden (n=18)			Patienten (n=38)		
	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.
Alter	32.0	22.8-48.7	7.3	40.1	24.6-57.3	9.1
T4-Helferzellzahl/μl	--	--	--	397	0-1080	340
Ratio	--	--	--	0.30	0.00-0.76	0.24
Mo. PMA 90min.	4.68	3.18-6.76	0.98	4.94	3.38-7.38	0.98
Mo. NAF 45 min.	2.70	1.56-4.29	0.82	3.05	1.45-5.19	0.80
Mo.unstimuliert 90 min.	0,54	0,17-1,14	0.27	0,53	0,12-1,12	0,29

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, Std.=Standardabweichung

4.3.2.3.2 Vergleich der Sauerstoffanionengeneration von Probanden und Patienten nach Vorinkubation mit GM-CSF

Die Steigerungsfähigkeit der Sauerstoffanionenbildung nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit PMA gegenüber alleiniger Stimulation mit PMA unterschied sich nicht signifikant zwischen HIV-seropositiven Patienten und Probanden. Ebenso zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Steigerungsfähigkeit der Sauerstoffanionenbildung nach Vorinkubation mit GM-CSF und Stimulation mit NAF gegenüber alleiniger Stimulation mit NAF zwischen HIV-seropositiven Patienten und Probanden. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Tab. 14 dargestellt.

Tab. 14

Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der Versuche mit dem Primer GM-CSF von Probanden und Patienten.

	Probanden (n=10)			Patienten (n=12)		
	Mw.	Spw.	Std.	Mw.	Spw.	Std.
T₄-Helferzellzahl/μl	--	--	--	502	22-1080	324,7
Ratio	--	--	--	0,41	0,04-0,76	0,25
NAF	2,83	1,86-4,29	0,82	3,09	1,46-4,35	0,86
NAF+ GM-CSF	2,61	1,76-4,21	0,76	2,97	1,93-4,40	0,86
PMA	4,77	3,59-6,76	1,01	4,98	3,38-6,91	1,03
PMA+ GM-CSF	5,18	4,01-7,13,	0,94	5,36	3,81-6,59	0,89

n=Stichprobengröße, Mw.=Mittelwert, Spw.=Spannweite, Std.=Standardabweichung