

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
aus der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
Direktor/Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. Christoph Stein

THEMA

Clodronat-haltige Liposomen zur Depletion Opioidpeptid-haltiger
Monozyten/Makrophagen in entzündetem Gewebe

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Anu Schiltz
aus Würzburg

Referent: Prof. Dr. med. Michael Schäfer

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. W. Boemke

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 23.06.2006

Veröffentlichung:

Brack A, Labuz D, Schiltz A, Rittner HL, Machelska H, Schäfer M, Reszka R, Stein C. Tissue monocytes/ macrophages in inflammation: hyperalgesia versus opioid-mediated peripheral antinociception. *Anesthesiology*. 2004 Jul;101(1):204-11

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|----|
| 1. | Einleitung..... | 7 |
| 1.1. | Stand der Forschung..... | 7 |
| 1.1.1. | Opioidpeptid-haltige Leukozyten in entzündetem Gewebe | 7 |
| 1.1.2. | Periphere, Stress-induzierte, Opioid-vermittelte Antinozizeption | 7 |
| 1.1.3. | Monozyten/Makrophagen | 9 |
| 1.2. | Problemstellung..... | 10 |
| 2. | Material und Methoden..... | 11 |
| 2.1. | Versuchstiere..... | 11 |
| 2.2. | Herstellung von Liposomen | 11 |
| 2.3. | Durchflusszytometrie oder FACS (Fluorescence activated cell sorting)..... | 12 |
| 2.3.1. | Gewebeaufbereitung..... | 12 |
| 2.3.2. | Antikörperfärbungen | 13 |
| 2.3.2.1. | Protokoll extrazelluläre Antikörperfärbungen | 13 |
| 2.3.2.2. | Protokoll intrazelluläre Antikörperfärbungen | 13 |
| 2.3.3. | Kalibrierung und Kompensation | 15 |
| 2.3.4. | Auswertung | 15 |
| 2.3.5. | Quantitative FACS-Analysen..... | 15 |
| 2.4. | Untersuchungen zum Schmerzverhalten..... | 15 |
| 2.5. | Versuchsprotokolle..... | 16 |
| 2.5.1. | Leukozytensubpopulationen in der entzündeten Pfote im zeitlichen Verlauf..... | 16 |
| 2.5.2. | Opioidpeptid-haltige Monozyten/Makrophagen in der späten Entzündung | 16 |
| 2.5.3. | Intraperitoneale Injektion von Clodronat-haltigen Liposomen..... | 17 |
| 2.5.4. | Aufnahme Fluoreszenz-haltiger Liposomen in Leukozyten nach intraplantarer Injektion | 17 |
| 2.5.5. | Leukozytensubpopulationen und Opioidpeptid-haltige Leukozyten nach intraplantarer Injektion Clodronat-haltiger Liposomen | 17 |
| 2.6. | Statistische Auswertung | 17 |
| 2.7. | Chemikalien | 18 |
| 2.8. | Lösungen | 18 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.9. | Geräte | 19 |
| 2.10. | Software | 19 |
| 3. | Ergebnisse | 20 |
| 3.1. | Leukozytensubpopulationen in der entzündeten Pfote im zeitlichen Verlauf..... | 20 |
| 3.2. | Opioidpeptid-haltige Monozyten/Makrophagen in der späten Entzündung | 21 |
| 3.3. | Intraperitoneale Injektion von Clodronat-haltigen Liposomen..... | 23 |
| 3.4. | Aufnahme Fluoreszenzhaltiger Liposomen in Leukozyten nach lokaler Injektion .. | 23 |
| 3.5. | Leukozytensubpopulationen nach lokaler Injektion Clodronat-haltiger Liposomen | 25 |
| 3.6. | Opioidpeptid-haltige Leukozyten nach lokaler Injektion Clodronat-haltiger Liposomen..... | 27 |
| 3.7. | Stress-induzierte Antinozizeption nach intraplantarer Injektion Clodronat-haltiger Liposomen..... | 28 |
| 4. | Diskussion | 30 |
| 4.1. | Diskussion von Material und Methoden | 30 |
| 4.1.1. | Clodronat..... | 30 |
| 4.1.2. | Liposomen..... | 30 |
| 4.1.3. | Clodronat-haltige Liposomen zur Depletion von Monozyten/Makrophagen. | 31 |
| 4.1.4. | Entzündungsmodell..... | 31 |
| 4.2. | Diskussion der Ergebnisse | 31 |
| 4.2.1. | Monozyten/Makrophagen als wesentlich Subpopulation der Opioidpeptid-haltigen Leukozyten in der späten Entzündung | 32 |
| 4.2.2. | Intraperitoneale Injektion von Clodronat-haltigen Liposomen..... | 34 |
| 4.2.3. | Aufnahme Fluoreszenz-haltiger Liposomen bei intraplantarer Injektion | 34 |
| 4.2.4. | Leukozytensubpopulationen nach intraplantarer Injektion Clodronat-haltiger Liposomen..... | 34 |
| 4.2.5. | Opioidpeptid-haltige Leukozyten nach lokaler Injektion Clodronat-haltiger Liposomen in der späten Entzündung | 36 |
| 4.3. | Ausblick | 38 |
| 5. | Zusammenfassung..... | 39 |
| 6. | Anhang | 41 |

| | | |
|-----|-----------------------------|----|
| 7. | Abkürzungsverzeichnis | 42 |
| 8. | Literaturverzeichnis..... | 44 |
| 9. | Danksagung..... | 53 |
| 10. | Lebenslauf..... | 54 |
| | Erklärung..... | 55 |