

Aus der medizinischen Klinik und Poliklinik für Kardiologie, Angiologie  
und Pneumologie  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Auswirkung aktivierter polymorphkerniger neutrophiler  
Granulozyten und Hypoxie auf die  $\beta$ -adrenerge Ansprechbarkeit  
des Myokard

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

von

Norbert Frank

aus München

Gutachter: 1.: Prof. Dr. med. V. Stangl

2.: Priv.-Doz. Dr. med. A. Staudt

3.: Priv.-Doz. Dr. med. M. Seyfarth

Datum der Promotion: 22.9.2006

---

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. EINLEITUNG</b> .....   | <b>6</b>  |
| 1.1. PATHOPHYSIOLOGIE DER MYOKARDISCHÄMIE.....   | 6         |
| 1.2. PHÄNOMEN DES REPERFUSIONSSCHADENS.....  | 7         |
| 1.3. BETEILIGUNG VON PMN AM REPERFUSIONSSCHADEN.....   | 8         |
| 1.3.1. <i>Physiologische Funktion neutrophiler Granulozyten</i> .....  | 8         |
| 1.3.2. <i>Rolle der PMN beim Reperfusionsschaden</i> .....   | 9         |
| 1.4. $\beta$ -ADRENERGE ANSPRECHBARKEIT DES HERZENS.....   | 11        |
| 1.4.1 <i><math>\beta</math>-adrenerge Ansprechbarkeit unter physiologischen Bedingungen</i> .....                | 11        |
| 1.4.2 <i><math>\beta</math>-adrenerge Ansprechbarkeit und Kalziumsensitivität des „stunned myocardium“</i> ..... | 12        |
| 1.5. FRAGESTELLUNG.....  | 13        |
| <b>2. MATERIAL</b> .....   | <b>15</b> |
| 2.1. MATERIAL UND CHEMIKALIEN.....   | 15        |
| 2.2. LÖSUNGEN.....   | 15        |
| <b>3. METHODEN</b> .....   | <b>17</b> |
| 3.1. VERSUCHSAPPARATUR.....  | 17        |
| 3.1.1. <i>Aufbau der Versuchsanordnung</i> .....   | 17        |
| 3.1.1.1. Messung der Kontraktilität.....   | 17        |
| 3.1.1.2. Messung des Kalzium-Transienten.....  | 17        |
| 3.1.2. <i>Kontraktile Parameter</i> .....  | 18        |
| 3.1.3. <i>Eigenschaften von Fura-2 und Bestimmung des Kalzium-Transienten</i> .....                              | 19        |
| 3.2. VORBEREITUNG UND PRÄPARATION DES PAPILLARMUSKELS.....   | 20        |
| 3.2.1 <i>Entnahme des Herzens mit anschließender Perfusion nach modifizierter Langendorfftechnik</i> .....       | 20        |
| 3.2.2. <i>Beladung des Herzens mit Fura-2 AM</i> .....   | 20        |
| 3.2.3. <i>Präparation des Papillarmuskels</i> .....  | 20        |
| 3.2.4. <i>Vorspannung des Papillarmuskels</i> .....  | 21        |
| 3.3. PMN-ISOLATION UND AKTIVIERUNG.....  | 21        |
| 3.3.1. <i>PMN-Isolation</i> .....  | 21        |
| 3.3.2. <i>PMN-Aktivierung und Chemilumineszenz-Messung</i> .....   | 22        |
| 3.3.2.1. Aktivierung mittels PMA.....  | 22        |
| 3.3.2.2. Chemilumineszenz-Messung.....   | 22        |
| 3.4. VERSUCHSPROTOKOLL.....  | 23        |
| 3.5. STATISTISCHE AUSWERTUNG.....  | 26        |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>4. ERGEBNISSE</b> .....  | <b>27</b> |
| 4.1. ISOMETRISCHE KONTRAKTION UND KALZIUM-TRANSIENT.....  | 27        |
| 4.2. VERÄNDERUNGEN VON KONTRAKTILITÄT UND KALZIUM-TRANSIENTEN<br>WÄHREND HYPOXIE UND GABE AKTIVIERTER PMN.....  | 28        |
| 4.2.1. <i>Kontraktilität und Kalzium-Transient während Hypoxie und Reoxygenierung</i> ....  | 28        |
| 4.2.2. <i>Kontraktilität und Kalzium-Transient unter Gabe aktivierter PMN</i> .....   | 29        |
| 4.2.3. <i>Kontraktilität und Kalzium-Transient während Hypoxie und Reoxygenierung mit<br/>gleichzeitiger Gabe aktivierter PMN</i> .....                         | 30        |
| 4.2.4. <i>Auswirkung Freier-Radikal-Fänger auf die Kontraktilität während Hypoxie und<br/>anschließender Gabe aktivierter PMN</i> .....                         | 31        |
| 4.3. AUSWIRKUNG VON HYPOXIE UND PMN AUF DIE $\beta$ -ADRENERGE<br>ANSPRECHBARKEIT.....  | 32        |
| 4.3.1. <i>Auswirkung einer Hypoxie auf die <math>\beta</math>-adrenerge Ansprechbarkeit</i> .....   | 32        |
| 4.3.2. <i>Auswirkung aktivierter PMN auf die <math>\beta</math>-adrenerge Ansprechbarkeit</i> .....   | 33        |
| 4.3.3. <i><math>\beta</math>-adrenerge Ansprechbarkeit nach Hypoxie und anschließender Gabe aktivierter<br/>PMN</i> .....                                       | 34        |
| 4.3.4. <i>Wirkung Freier-Radikal-Fänger auf die <math>\beta</math>-adrenerge Ansprechbarkeit nach<br/>Hypoxie und anschließender Gabe aktivierter PMN</i> ..... | 34        |
| 4.4. AUSWIRKUNG VON HYPOXIE UND ANSCHLIESSENDE GABE<br>AKTIVIERTER PMN AUF DIE ANSPRECHBARKEIT DES KONTRAKTILEN<br>APPARATES AUF KALZIUM.....                   | 35        |
| <b>5. DISKUSSION</b> .....  | <b>39</b> |
| 5.1. AUSWAHL DER METHODEN.....  | 39        |
| 5.2. $\beta$ -ADRENERGE ANSPRECHBARKEIT DES MYOKARDS NACH HYPOXIE.....  | 40        |
| 5.3. AKTIVIERTE PMN REDUZIEREN DIE $\beta$ -ADRENERGE ANSPRECHBARKEIT<br>DES MYOKARDS.....  | 41        |
| 5.4. KALZIUMSENSITIVITÄT DES „STUNNED MYOCARDIUM“.....  | 42        |
| 5.5. AUSMASS DER SCHÄDIGUNG DER $\beta$ -ADRENERGEN<br>ANSPRECHBARKEIT.....   | 44        |
| 5.6. URSACHEN FÜR DIE STÖRUNG DER $\beta$ -ADRENERGEN<br>ANSPRECHBARKEIT.....   | 46        |
| <b>6. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....   | <b>47</b> |
| <b>7. LITERATURVERZEICHNIS</b> .....  | <b>48</b> |
| <b>8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....   | <b>54</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>9. LEBENSLAUF.....</b>                | <b>55</b> |
| <b>10. DANKSAGUNG.....</b>               | <b>58</b> |
| <b>11. ERKLÄRUNG AN EIDES STATT.....</b> | <b>59</b> |

## 8. Abkürzungsverzeichnis

AMP: Adenosinmonophosphat

ATP: Adenosintriphosphat

BDM: 2,3-Butanedoine-Monoxime

c-AMP: cyclisches 3',5'-Adenosinmonophosphat

DMSO: Dimethylsulfoxid

FR: Freie Radikale

Fura-2 AM: Fura-2-Acetoxymethyl

GTP: Guanosintriphosphat

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Wasserstoffperoxid

HOCL: Hypochloridion

Iso: Isoproterenol

KH: Krebs-Henseleit-Perfusat

NO: Stickstoffmonoxid

O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Superoxidanion

O<sub>2</sub>-Radikale: Sauerstoffradikale

OFR: Freie Sauerstoffradikale (engl.: „oxygen free radicals“)

OH: Hydroxylradikal

PBS: Phosphatpuffer

PMA: Phorbolmyristylacetat

PMN: Polymorphkernige neutrophile Granulozyten

SOD: Superoxiddismutase

SR: Sarkoplasmatisches Retikulum

## 9. Lebenslauf

### Persönliche Daten:

|                |  |
|----------------|--|
| Name:          | Norbert Frank  |
| Wohnort:       | Solmsstr. 16<br>10961 Berlin<br>Telefon: 030/694 92 82 |
| Geburtsdatum:  | 10.10.1971   |
| Geburtsort:    | München  |
| Familienstand: | ledig  |

### Schulbildung:

|                   |                      |
|-------------------|----------------------|
| 09/1982 – 07/1992 | Gymnasium in München |
| 07/1992           | Abitur in München    |

### Berufliche Tätigkeiten:

|                   |  |
|-------------------|--|
| 10/1992 – 12/1993 | Zivildienst im Maria – Hilfswerk/München   |
| 07/2002 – 12/2003 | AIP in der Abteilung für Pneumologie/Infektiologie im<br>Klinikum Neukölln/Berlin            |
| seit 03/04        | Assistenzarzt in der Abteilung für Pneumologie<br>/Infektiologie im Klinikum Neukölln/Berlin |

### Hochschulbildung:

|                  |   |
|------------------|---|
| 9/1994 – 9/1996  | Studium der Humanmedizin an der Freien Universität zu<br>Berlin   |
| 8/1996           | Ärztliche Vorprüfung  |
| 9/1996 – 11/2001 | Studium der Humanmedizin an der Humboldt-Universität<br>zu Berlin   |
| 8/1997           | Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung   |
| 10/98 – 10/99    | Forschungssemester im Rahmen einer Promotionsarbeit im<br>kardiologischen Forschungslabor der Charité/Berlin unter<br>Leitung von Prof Dr. med. V. Stangl |

---

|              |   |
|--------------|---|
| 9/2000       | Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung  |
| 10/00 – 2/01 | Praktisches Jahr in der Orthopädie in der Charité/Berlin  |
| 2/01 – 6/01  | Praktisches Jahr in der Chirurgie im Groote Schuur Hospital, University of Cape Town, Kapstadt/ Südafrika |
| 6/01 – 9/01  | Praktisches Jahr in der Inneren Medizin im Elisabeth-Krankenhaus/Berlin                                   |
| 11/2001      | Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung  |
| 11/2001      | Studium der Humanmedizin an der Humboldt-Universität zu Berlin abgeschlossen                              |

**Studienbegleitende Tätigkeiten:**

|              |  |
|--------------|--|
| 2/95 – 3/95  | Pflegepraktikum im Krankenhaus zum Dritten Orden/<br>München |
| 9/95 – 10/95 | Pflegepraktikum im Krankenhaus Am Urban/Berlin               |

**Famulaturen:**

|             |   |
|-------------|---|
| 2/97 – 3/97 | Famulatur in der Inneren Medizin im Elisabeth-Krankenhaus/Berlin                              |
| 3/98        | Famulatur in der Allgemeinmedizin, Praxis Dr. H.-J. Jegen/Berlin                              |
| 2/99 – 3/99 | Famulatur in der Inneren Medizin im Conradie Hospital, Kapstadt/Südafrika                     |
| 10/99       | Famulatur in der kardiologischen Poliklinik der Charité/<br>Berlin                            |
| 2/00 – 3/00 | Famulatur in der Chirurgie im Canberra Hospital,<br>University of Sydney, Canberra/Australien |

**Kongressbeiträge:**

- T. M. Frank, V. Stangl, N. A. Frank, S. B. Felix: Activated polymorphonuclear neutrophils influence beta-receptor signaltransduction. Posterbeitrag zur Jahrestagung der European Society of Cardiology im August 2000 in Amsterdam, Niederlande.
- T. M. Frank, V. Stangl, N. A. Frank, S. B. Felix: Aktivierte polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) beeinflussen die  $\beta$ -Rezeptor vermittelte Signaltransduktion. Posterbeitrag zur Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung im April 2000 in Mannheim, Deutschland.

Berlin, den

## *Danksagung*

An dieser Stelle meinen besonderen Dank an meine Eltern, Renate und Hanns, für die langjährige Unterstützung während des Studiums und in allen Lebenslagen.

## Erklärung

„Ich, Norbert, Frank, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Auswirkung aktivierter polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten und Hypoxie auf die  $\beta$ -adrenerge Ansprechbarkeit des Myokard“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift