

Aus der Abteilung für Klinische Immunologie und Asthma-Poliklinik
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Regulation der NGF- und BDNF-Produktion und -
Freisetzung bei eosinophilen Granulozyten von Allergikern
und Nichtallergikern durch Dexamethason und Theophyllin

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Dunja Görges

aus Köln

Gutachter: 1. Prof. Dr. med G. Kunkel

2. Prof. Dr. med. T. Zuberbier

3. Prof. Dr. med. J.-Ch. Virchow

Datum der Promotion: 15.05.2006

Inhalt

	Seite
1 Einleitung	5
1.1 Einführung.....	5
1.2 Neurotrophine.....	6
1.2.1 Vorkommen und Wirkung.....	9
1.2.2 Herkunft der Neurotrophine.....	9
1.2.3 Neurotrophinrezeptoren.....	10
1.2.4 Mit Neurotrophinen assoziierte Erkrankungen.....	10
1.3 Der eosinophile Granulozyt.....	11
1.3.1 Eosinopoese.....	11
1.3.2 Granuläre Proteine des eosinophilen Granulozyten.....	12
1.3.3 Rezeptoren und Wirkungen.....	14
1.3.4 Die mit Eosinophilen assoziierten Erkrankungen des Menschen.....	16
1.4 Asthma bronchiale.....	17
1.4.1 Definition.....	17
1.4.2 Therapie des allergischen Asthma bronchiale.....	18
1.4.3 Eosinophile und allergisches Asthma bronchiale.....	19
2 Aufgabenstellung	21
3 Material und Methoden	23
3.1 Zellseparation.....	23
3.1.1 Gewinnung der Granulozyten.....	23
3.1.2 Separation der eosinophilen Granulozyten.....	24
3.1.3 Zellzahlbestimmung.....	24
3.1.4 Reinheit der Eosinophilen.....	25
3.1.4.1 Zytospin.....	25
3.1.4.2 Durchflußzytometrie.....	25
3.1.5 Viabilität.....	26
3.2 Zellkultivierung und Stimulation.....	27
3.3 Messung des Neurotrophingehalts mit ELISA.....	28
3.3.1 Lysatherstellung.....	28

3.3.2	Enzyme-linked-immuno-sorbent-assay (ELISA).....	29
3.3.3	Gesamtproteinbestimmung.....	31
3.3.4	Statistische Auswertung.....	32
3.4	Nachweis der intrazellulären Neurotrophine mittels Durchflußzytometrie.....	32
3.5	Nachweis der Neurotrophine im Zelllysate mittels Western blot.....	33
3.6	Nachweis der cDNA-Expression für die Neurotrophine mittels PCR.....	36
3.6.1	RNA-Extraktion aus den Zellen.....	36
3.6.2	cDNA-Synthese.....	36
3.6.3	PCR.....	37
3.6.4	Gelelektrophorese.....	38
4	Ergebnisse	40
4.1	ELISA.....	40
4.2	Durchflußzytometrie.....	45
4.3	Western blot.....	47
4.4	PCR.....	49
5	Diskussion	51
5.1	Fragestellung, Methodik und Ergebnisse.....	51
5.2	Bedeutung der verringerten NGF-Freisetzung für die bronchiale Hyperreagibilität.....	54
5.3	Bedeutung für die neurogene Entzündung.....	54
5.4	Einfluß auf die immunmodulatorische Funktion der Eosinophilen.....	55
5.5	Immunmodulierende Wirkung von Theophyllin.....	55
5.6	Zusammenfassung der Diskussion.....	56
5.7	Ausblick.....	57
6	Zusammenfassung	59
7	Referenzen	61

Erklärung

„Ich, Dunja Görge, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: ‚Regulation der NGF- und BDNF-Produktion und -Freisetzung bei eosinophilen Granulozyten von Allergikern und Nichtallergikern durch Dexamethason und Theophyllin‘ 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.“

Berlin, 02.09.2005

Dunja Görge