

Pharmakologische Modulation des „oxidative burst“ aktivierter neutrophiler Granulozyten in Anwesenheit von anoxischen Kardiomyozyten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Humanmedizin

der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von Susanne Szalay, geb. Holbe

aus Bad Nauheim

Giessen 1997

Aus dem Max-Planck-Institut für Physiologische und Klinische Forschung

Kerckhoff-Institut

Abteilung Experimentelle Kardiologie

Leiter: Prof. Dr. Dr. h. c. Schaper

in Bad Nauheim

Gutachter: Prof. Dr. Dr. h. c. Schaper

Gutachter: Prof. Dr. Teschemacher

Tag der Disputation: 04.05.1999

Abkürzungsverzeichnis	1
1. Einleitung.....	3
1.1. Die physiologische Aufgabe neutrophiler Granulozyten.....	3
1.2. fMLP induziert den „oxidative burst“ der Neutrophilen.....	4
1.3. Die ischämische Herzmuskelnekrose.....	6
1.4. Die mögliche Rolle der polymorphkernigen Neutrophilen im sogenannten Reperfusionsschaden.....	8
2. Fragestellung und Ziel der Arbeit	11
3. Methoden.....	13
3.1. Isolierung adulter Rattenkardiomyozyten.....	13
3.1.1. Vorbereiten der Langendorff-Perfusionsapparatur.....	13
3.1.2. Präparation und Perfusion des Herzens.....	14
3.1.3. Zellfraktionierung und Kultivierung der Myozyten.....	15
3.1.4. Anoxie der Myozyten unter In-vitro-Bedingungen.....	15
3.2. PMN-Isolation.....	16
3.3. Meßanordnung des In-vitro-Modells und Detektion freier Radikale.....	16
3.4. Lichtmikroskopische Darstellung	17
.....	17
3.5. Statistische Auswertung	18
.....	
4. Ergebnisse.....	18
4.1. Ergebnisse der Biolumineszenzmessung.....	18
4.1.1. Kinetik des „oxidative burst“ von fMLP aktivierten PMN.....	19
4.1.2. Der „oxidative burst“ fMLP aktivierter Neutrophiler in Anwesenheit von normoxischen und anoxischen Myozyten.....	22
4.1.3. Möglichkeiten der Modulation der Produktion freier Radikale aktivierter PMN.....	25
4.1.3.1. Die Wirkung von Staurosporin auf fMLP aktivierte PMN.....	27
4.1.3.2. Der Einfluß von sogenannten Radikalfängern auf den „respiratory burst“	28
4.1.3.2.1. Superoxid-Dismutase als Radikalfänger.....	29
4.1.3.2.2. Verminderung der Radikaldetektion durch	

4.1.3.3. Die Wirkung von Kalziumantagonisten auf den „oxidative burst“.....	32
4.1.3.4. Die Verminderung des „burst“ in Anwesenheit des β_1 -Agonisten Isoproterenol.....	35
4.1.3.5. Der Einfluß von verschiedenen Adenosin-Agonisten und -Antagonisten auf den „burst“ aktivierter Neutrophiler.....	36
4.2. Ergebnisse der lichtmikroskopischen Beobachtung in der Co-Kultur...	38
4.2.1. Radikal-“scavenger“ verbessern die Überlebenschancen von anoxischen Myozyten in der Co-Kultur mit aktivierten PMN...	52
5. Diskussion.....	58
5.1. Auswahl der Methoden.....	58
5.2. Interpretation und Kritik der Ergebnisse.....	61
5.3. Zusammenfassung.....	66
6. Anhang.....	67
6.1. Material.....	67
6.1.1. Chemikalien und Material.....	67
6.1.2. Lösungen und Puffer.....	69
6.1.2.1. Lösungen und Puffer zur Myozyten-Isolation.....	69
6.1.2.2. Lösungen und Puffer für die Isolation von Ratten-PMN.....	72
6.1.2.3. Lösungen zur Biolumineszenzmessung.....	72
6.1.2.4. Lösungen und Substanzen zur Aktivierung der neutrophilen Granulozyten.....	72
6.1.2.5. Substanzen, die den „respiratory burst“ der Neutrophilen modulieren.....	73
6.2. Literatur.....	74
6.3. Abbildungsverzeichnis.....	83

Susanne Szalay

Liebigstraße 35

35392 Gießen

Tel.: 0641/72620

Lebenslauf:

Persönliche Daten :

Geburtsdaten: geboren am 13. Juni 1968 in Bad Nauheim als erstes von zwei Kindern

Eltern: Christa Holbe (Bankangestellte), geb. Kipp, und Josef Holbe (Lehrer)

Geschwister: Marianne Holbe (Krankenschwester)

Familienstand: seit 15. November 1991 verheiratet mit Zoltán Szalay
am 08. April 1992 Geburt unserer Tochter Lisa Mary
am 04. April 1994 Geburt unseres Sohnes Valentin Felix

Konfession: röm.-katholisch

Staatsangehörigkeit: deutsch

Ausbildungs- und beruflicher Werdegang:

- 08/74-07/78 Grundschule Friedberg/Ockstadt
- 08/78-07/87 St.-Lioba-Schule, Bischöfliches Gymnasium in Bad Nauheim,
Schulabschluß mit dem Abitur (Leistungsfächer Kunst und
Biologie)
- 10/87-09/88 einjährige Ausbildung als Krankenpflegehelferin an der
William-Harvey-Klinik in Bad Nauheim (Prof. Dr. Med. W.
Hach)
- 09/88-06/90 vier Semester Vorklinik an der *Semmelweis-Universität* in
Budapest/Ungarn, Abschluß mit der Ärztlichen Vorprüfung
- 10/90-08/93 klinischer Abschnitt (6 Semester) an der *Justus-Liebig-
Universität* in Gießen bis zum Zweiten Staatsexamen

Teilnahme am Kongreß der *Deutschen Gesellschaft für Herz
und Kreislaufforschung* in Mannheim im April 1993

Teilnahme am Kongreß der *American Heart Association* in
Atlanta/USA im November 1993
- 10/93-09/94 Praktisches Jahr an der Justus-Liebig-Universität in Gießen
mit Wahlfach Psychiatrie.

Abschluß des Medizinstudiums am 14. November 1994 mit
dem 3. Staatsexamen

09/95-07/97 AIP in der Abteilung für Anästhesie und Intensivmedizin der
Justus - Liebig Universität, in der Schmerztherapie.

08/97-09/98 Innere Medizin als Stationsärztin im Krankenhaus am
Balserschen Stift, der Gemeinschaftspraxis, Dres Pfaff,
seit 10/98 Weppner, Büdinger, Gießen

Praxisassistentin: Allgemeinmedizin, in der
Gemeinschaftspraxis Dres. Karg, Fachärzte für
Allgemeinmedizin, Gießen

Susanne Szalay