

Grundlagen

weiße Blutkörperchen – Überbegriff für Blutzellen, die für die Abwehr von Gefahren (z.B. Krankheitserreger wie Bakterien und Pilze) verantwortlich sind.

Antigen – eine Struktur, die von bestimmten weißen Blutkörperchen als Gefahr erkannt wird. Beispiele sind Bestandteile von Bakterien oder Viren.

Antikörper – die Antwort dieser weißen Blutkörperchen auf ein Antigen. Antikörper heften sich an ihr Antigen. Dadurch entsteht ein **Immunkomplex**, der

andere weiße Blutkörperchen auf die Gefahr hinweist.

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) – Stoffwechselprodukte von Sauerstoff, die Zellen Schaden zufügen können, aber auch wichtige Aufgaben als Botenstoffe und in der antimikrobiellen Abwehr haben.

Antioxidantien (AO) – Stoffe, die ROS wirkungslos machen können. Ein Beispiel ist Ascorbinsäure (besser bekannt als Vitamin C).

NETs: Neutrophilen-Kamikaze...

Neutrophile Granulozyten - eine Untergruppe der weißen Blutkörperchen - gehören zu den ersten Zellen, die bei Infektionen den Kampf gegen Krankheitserreger aufnehmen. Eine Strategie der Neutrophilen ist dabei das Auswerfen von sogenannten „neutrophil extracellular traps“ (NETs). Die NETs werden während einer speziellen Form des Zelltodes ausgeworfen, um Erreger abzufangen und abzutöten. Sie bestehen aus einem DNS-Grundgerüst, welches mit toxischen Molekülen versehen ist, die Mikroorganismen schaden können.

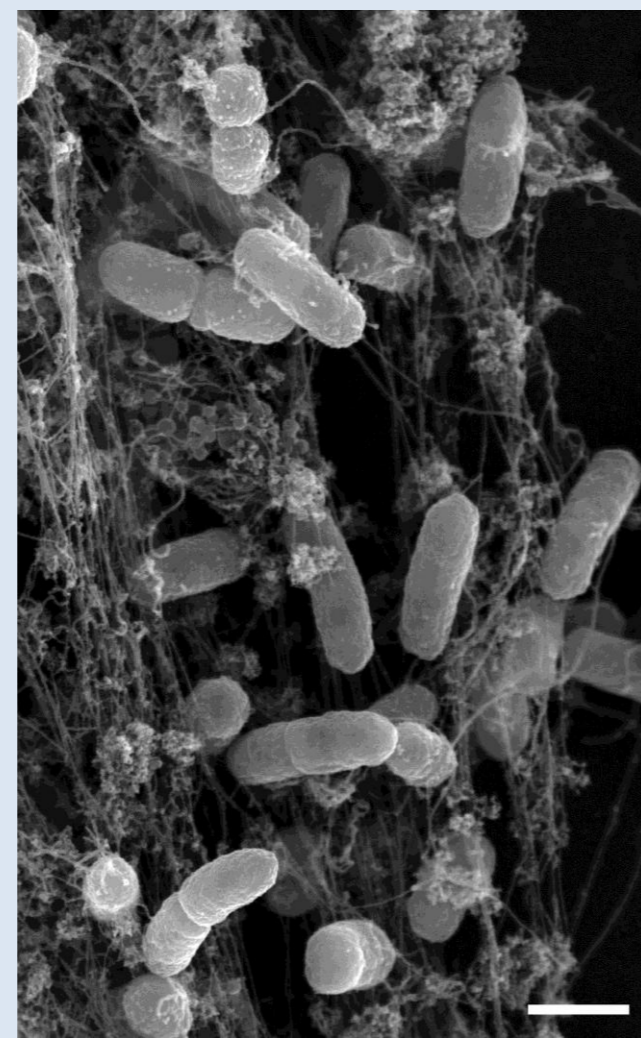


Abb. 1: Salmonellen gefangen in NETs (Brinkmann, Zychlinsky, J Cell Biol 2012).

... manchmal mit falschem Ziel

Im Rahmen einiger Krankheiten, den sogenannten **Autoimmunkrankheiten**, greifen die weißen Blutzellen nicht körperfremde, sondern Strukturen des eigenen Körpers an. Für viele dieser Krankheiten ist bekannt, dass auch NETs Schäden am eigenen Körper anrichten. Bei diesen Krankheiten ist folglich eine Hemmung der NET-Bildung wünschenswert.

Wie beeinflussen Antioxidantien NETs?

Die Bildung von NETs ist abhängig von der Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in den neutrophilen Granulozyten.

Bei Stimulation der neutrophilen Granulozyten mit PMA – einer Substanz, die im Körper nicht vorkommt – ist bekannt, dass viele Antioxidantien die NET-Bildung hemmen. Im Rahmen dieser Arbeit wird untersucht, ob Antioxidantien auch bei Stimulation mit ortsgebundenen (immobilisierten) Immunkomplexen, die zum Beispiel bei der rheumatoiden Arthritis eine Rolle spielen, die NET-Bildung hemmen können.

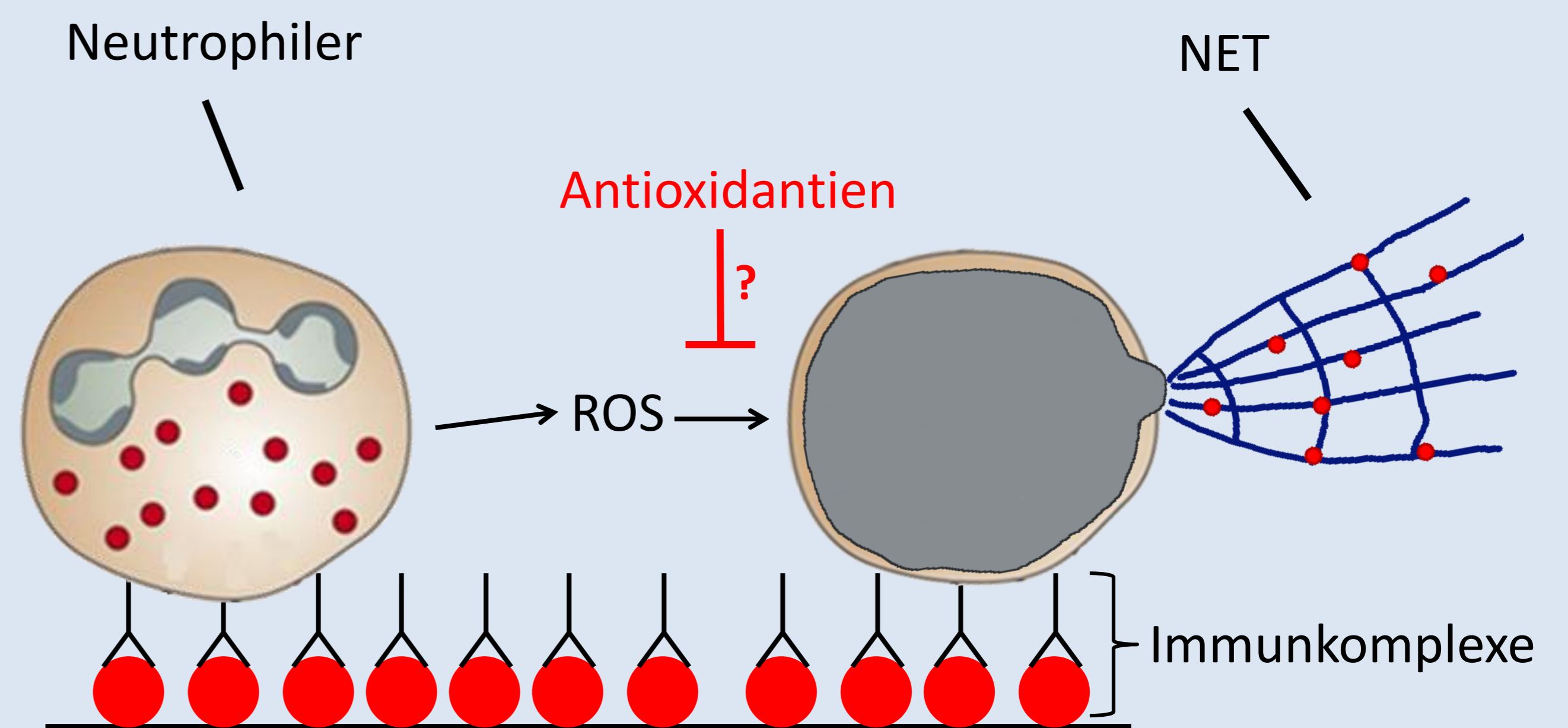


Abb. 2: Neutrophile Granulozyten werfen bei Stimulation mit Immunkomplexen ROS-abhängig NETs aus. Diese Arbeit untersucht den Einfluss von Antioxidantien auf die NET-Produktion bei Stimulation mit immobilisierten Immunkomplexen.

Methoden

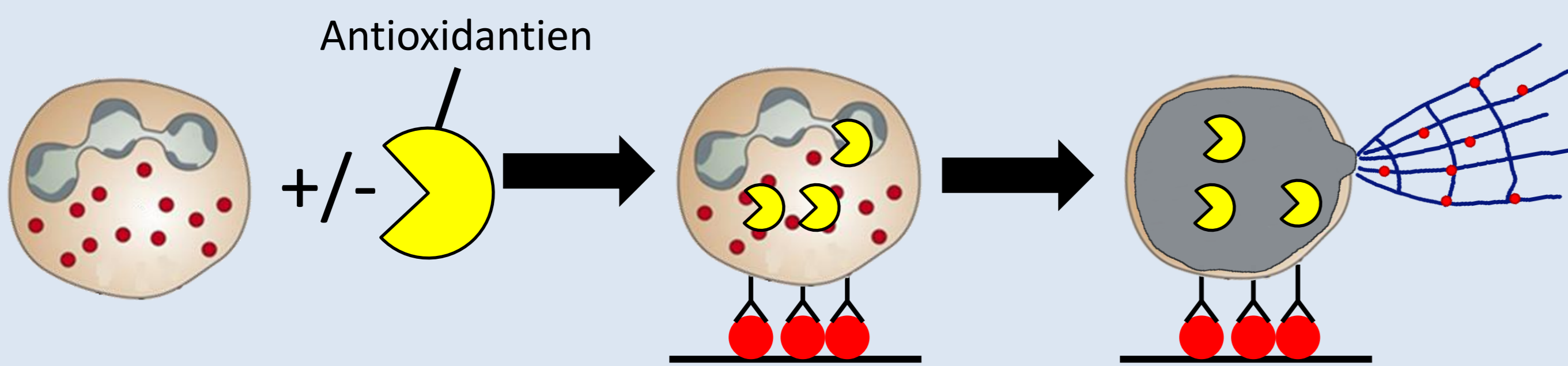


Abb. 3: Stimulation: Granulozyten werden mit bzw. ohne Antioxidantien 30 Minuten lang vorinkubiert („bebrütet“) und dann auf Platten gegeben, die mit Immunkomplexen versehen wurden. Anschließend wird die ROS- und NET-Produktion analysiert.

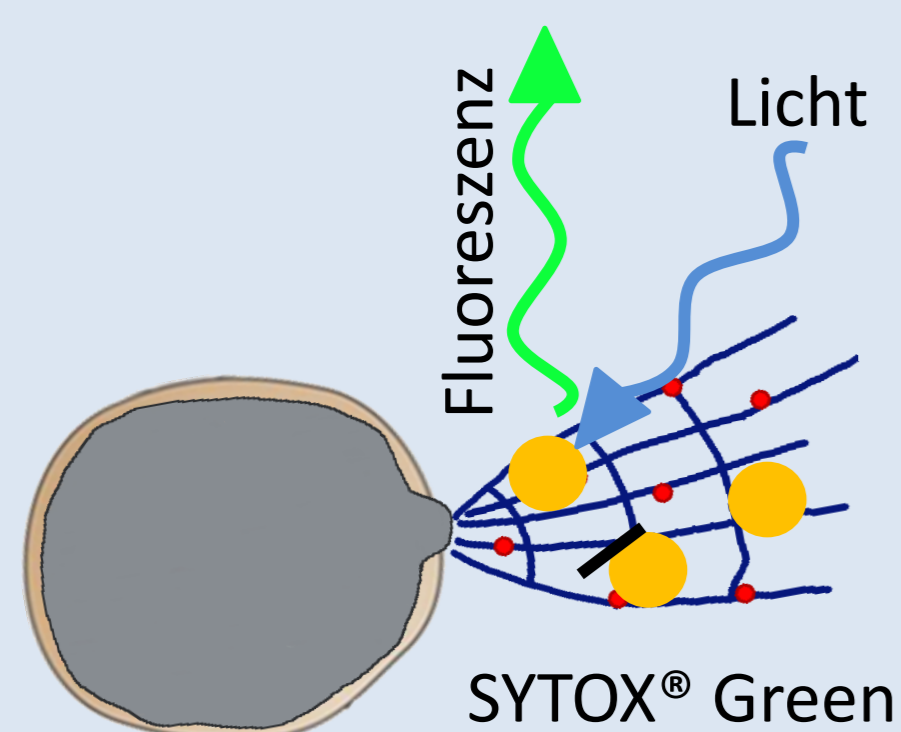


Abb. 4: Detektion von NETs: SYTOX® Green färbt das aus DNS bestehende Gerüst von NETs an, sodass es nach Anregung durch Licht selber leuchtet („Fluoreszenz“). Die Detektion von ROS mittels Luminol und Lucigenin funktioniert ähnlich.

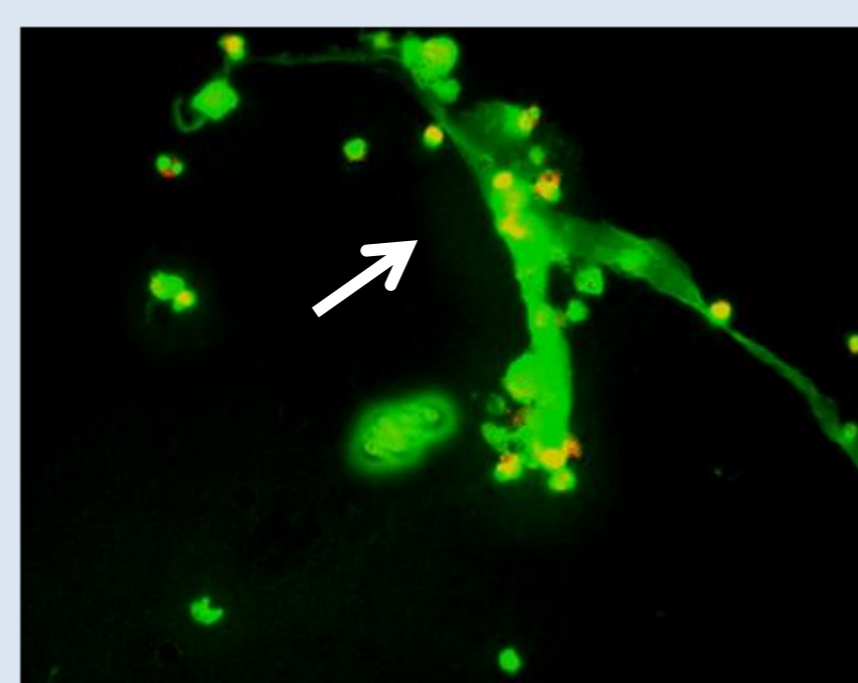


Abb. 5: Mit SYTOX® Green angefärbte NETs (Pfeil) lassen sich in der Fluoreszenzmikroskopie nachweisen. Zur Quantifizierung kann die Fluoreszenz aller NETs zusammen über die Zeit gemessen werden.

Ergebnisse

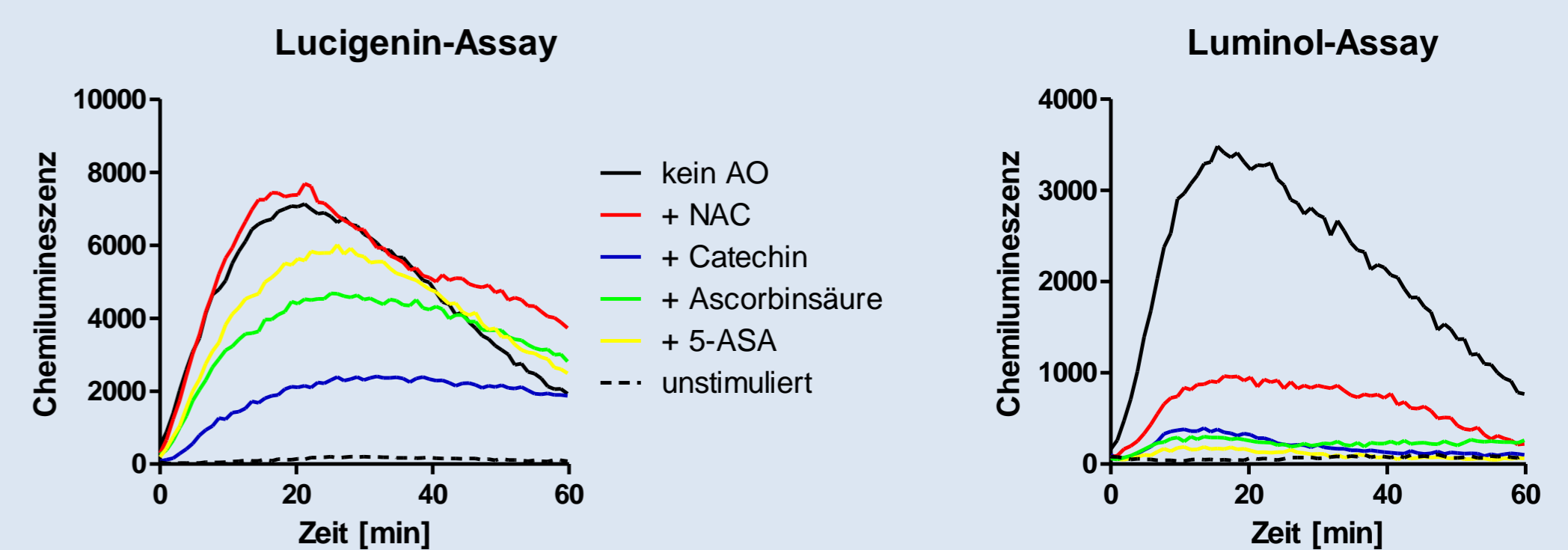


Abb. 6: Ergebnisse des Lucigenin- bzw. Luminol-Assays zur Detektion von ROS. Neutrophile wurden mit oder ohne die Antioxidantien N-Acetyl-Cystein (NAC), Catechin, Ascorbinsäure und 5-Aminosalicylsäure (5-ASA) vorinkubiert und dann mit Immunkomplexen stimuliert. Insbesondere im Luminol-Assay ist eine deutliche Reduktion der ROS nachweisbar. Die Antioxidantien sind somit in der Lage ROS einzufangen.

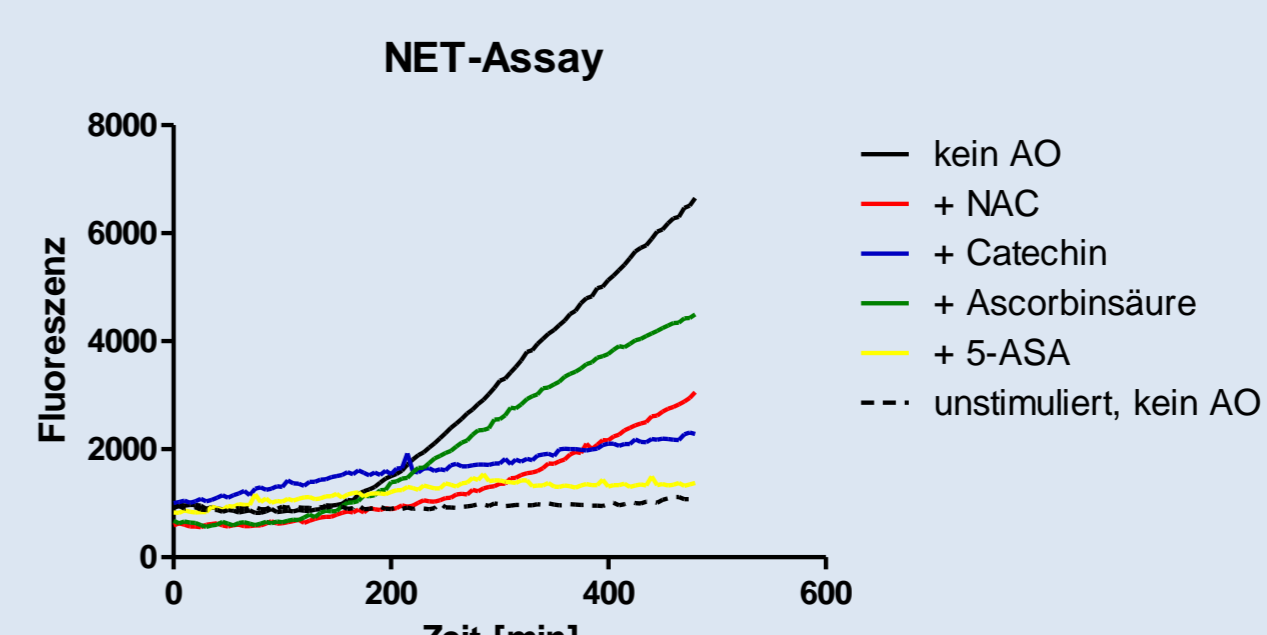


Abb. 7: Ergebnis des NET-Assay zur Detektion von NETs. Versuchsaufbau s. Abb. 6. Es ist eine deutliche Abschwächung der Fluoreszenz (NETs) nach Vorinkubation mit Antioxidantien sichtbar.

Die hier gezeigten Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass die Bildung von NETs nach Stimulation mit Immunkomplexen durch Antioxidantien effektiv gehemmt werden kann. Allerdings sind zur Bestätigung weitere Versuche erforderlich.