

Informationsweiterverarbeitung einer bestimmten Stufe der Signaltransduktion zugeordnet werden kann, oder ob möglicherweise verschiedene Abschnitte synergistisch daran beteiligt sind.

Dabei sind vor allem drei Enzyme, die Proteinkinase C (PKC), die Proteintyrosinkinase (PTK) und die Proteintyrosinphosphatase (PTP) von ganz besonderer Bedeutung. All diese Enzyme sind in der Lage, wenn sie über Oberflächenrezeptoren der Monozyten stimuliert werden, den nukleären Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B zu aktivieren. Dabei wird, durch Abspaltung der inhibitorischen Untereinheit I $\kappa$ B, das Protein aktiviert und gelangt so in den Zellkern der Monozyten.

Dort induziert es die Transkription der in der Desoxiribonukleinsäure (DNA) vorgegebenen Information in die Boten-(messenger)-Ribonukleinsäure (m-RNA). Letztendlich über weitere Schritte wie Translation und posttranslationale Regulation (Modifikation des Propeptids und Trimerisation bzw. Synthese einer membrangebundenen Form) wird der anfängliche Stimulus des Monozyten in die Synthese eines speziellen Proteins bzw. Zytokins umgesetzt.

Auf der Ebene der Enzyme Proteinkinase C, Proteintyrosinkinase und Proteintyrosinphosphatase sollte durch spezifische Hemmung und Aktivierung jeweils einzelner Enzyme gezeigt werden, ob eine Störung eines einzelnen oder mehrerer Enzyme an der Endotoxintoleranz beteiligt sind. Hierbei diene Calphostin C als spezifischer Hemmstoff und Phorbol 12-Myristat 13-Acetat (PMA) als spezifischer Aktivator der Proteinkinase C. Die Proteintyrosinkinase wurde durch Herbimycin A gehemmt und die Proteintyrosinphosphatase durch Ortho-Vanadate indirekt aktiviert. Im nächsten Schritt wurde die Frage behandelt, ob die nächste Stufe der Signaltransduktionskaskade, der nukleäre Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B bei den Monozyten quantitativ und qualitativ in der Lage ist, die Transkription zu induzieren. Dies wurde indirekt durch die quantitative Messung der inhibitorischen Untereinheit I $\kappa$ B und der Boten-(messenger-) Ribonukleinsäure (m-RNA) im Cytosol der Monozyten bestimmt.

Auf diese Weise sollte untersucht werden, ob mehrere Teilabschnitte der Signaltransduktionskaskade synergistisch an der Hemmung der Zytokinfreisetzung der Monozyten beteiligt sind.

## **2.1. Fragestellung**

Die dargestellten Literaturbefunde belegen, daß bei Herzoperationen unter Verwendung der extrakorporalen Zirkulation u.a. durch Kontaktaktivierung des Blutes an Fremdoberflächen, Endotoxinfreisetzung aus dem Magen-Darm-Trakt und das myokardiale Ischämie-Reperfusionseignis ein inflammatorisches Geschehen ausgelöst wird, in dessen Ablauf es zu einer Aktivierung zahlreicher Mediatoren und Zellsysteme kommt.

Neben diesen proinflammatorischen Prozessen wird auch eine antiinflammatorische Immunreaktion nach Operationen mit extrakorporaler Zirkulation beschrieben. So weisen erhöhte Konzentrationen an IL-10, IL-1ra und löslicher TNF-Rezeptoren (TNFsr-1 und -2) auf immunsuppressive Effekte hin. Bei einem Überwiegen der proinflammatorischen Immunreaktion kann sich eine systemische Entzündungsreaktion (Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)) entwickeln, die durch die klinischen Symptome Fieber, Leukozytose, Tachypnoe oder Tachykardie charakterisiert ist.

In früheren Untersuchungen (Kleinschmidt 1998, Grundmann 2000) konnte gezeigt werden, daß einerseits nach aortokoronaren Revaskularisationen eine spontan gesteigerte Freisetzung der Zytokine IL-6 und IL-10 zu verzeichnen ist, andererseits aber nach einer ex-vivo-Stimulation mononukleärer Zellen mit Endotoxin die Freisetzung der Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-10 reduziert ist. Eine solche „Endotoxintoleranz“ könnte möglicherweise zu einer erhöhten Anfälligkeit dieser Patienten für nosokomiale Infektionen beitragen.

In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb folgende Fragestellung bearbeitet werden:

**Welche Rolle spielen Mechanismen der intrazellulären Signaltransduktion des humanen Monozyten bei der Vermittlung der beobachteten Hemmung der endotoxinstimulierten Zytokinfreisetzung nach extrakorporaler Zirkulation ?**

Das Hauptinteresse konzentriert sich auf die zelluläre Ebene der Signaltransduktion der Monozyten und ihre Bedeutung im Zusammenhang mit der beobachteten Hemmung der endotoxinstimulierten Zytokinfreisetzung nach extrakorporaler Zirkulation. Da die einzelnen Teilabschnitte der intrazellulären Signalverarbeitung kaskadenartig verknüpft sind, sollte untersucht werden, ob die Störung der