

Aus dem Physiologischen Institut  
der Universität Würzburg  
Vorstand: Professor Dr. med. S. Silbernagl

**Beeinflussung der Migration humaner neutrophiler Granulozyten durch  
Ca<sup>2+</sup>-empfindliche K<sup>+</sup>-Kanäle (hIK1)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Agnes Barbara Mittermeier  
aus Edling

Würzburg, Juli 2003

## **Lebenslauf**

Name: Agnes Barbara Mittermeier, geb. Röhl

Geboren. 26.06.1974 in Wagenstatt/Unterreit

Eltern: Christine Röhl, geb. Ackermann  
Volker Röhl

### **Schulbildung**

Grundschule Gars/Inn 1981-1984

Freie Waldorfschule Prien/Chiemsee 1984-1994

Allgemeine Hochschulreife 01.07.1994

### **Praktikum**

Praktikum der Krankenpflege Neuro- und Wirbelsäulenchirurgie,  
Behandlungszentrum Vogtareuth Juni – Dez. 1994

### **Hochschulbildung**

Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilian-Universität  
Würzburg November 1995 – April 2001

Physikum August 1997

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung August 1998

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung März 2001

Wechsel an die Ludwig-Maximilian-Universität München April 2001

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 16.04.2002

Ärztin im Praktikum seit dem 01.07.2002 Innere Medizin, Kreisklinik Ebersberg

## Danksagung

An dieser Stelle wird es höchste Zeit, meinen Dank auszusprechen. Ganz herzlich danke ich Herrn Prof. Dr. med. A. Schwab für die Überlassung dieser Arbeit, die geduldige Betreuung meiner Experimente und die Bereitschaft, zu jeder Zeit Fragen und Probleme zu beantworten, diskutieren und lösen.

Frau B. Schuricht danke ich für die Einführung in die Geheimnisse und Tücken der verschiedenen Labortechniken. An dieser Stelle auch ein herzliches Dankeschön an Prof. Dr. med. M. Gekle für die Übernahme des Korreferats sowie an Prof. Dr. med. S. Silbernagl und alle Mitarbeiter des Lehrstuhl I des Physiologischen Instituts der Universität Würzburg für die gute Aufnahme, Hilfsbereitschaft und das sehr nette Arbeitsklima. A. Benesic danke ich für die Durchführung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Messungen.

Ein weiterer Dank gilt dem Virologischen Institut der Universität Würzburg für die FACS-Analyse und die in diesem Zusammenhang äusserst hilfreiche und unkomplizierte Zusammenarbeit.

Desweiteren möchte ich mich bei allen tapferen Spendern ganz herzlich für die Überlassung ihres Blutes, ohne das meine Experimente nicht möglich gewesen wären, bedanken.

Diese Arbeit bildet den Abschluss eines langen und nicht immer ganz einfachen Studiums und so möchte ich mich an dieser Stelle auch bei meinem Mann Hubert, den Eltern, Schwiegereltern und Friederike R. sowie den Freunden bedanken, die mich stets geduldig und vorbehaltlos unterstützt und mit zahlreichen guten Gedanken begleitet haben.

Referent: Prof. Dr. med. A. Schwab  
Korreferent: Prof. Dr. med. M. Gekle  
Dekan: Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 29.10.2003

Die Promovendin ist Ärztin

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>4</b>
2.1.1 Isolation neutrophiler Granulozyten mit der Dichtegradientenzentrifugation	4
2.1.2 Giemsa- Färbung	5
2.2 RNA-Isolierung	5
2.2.1 RNA-Isolation mit Guanidiniumisocyanat	5
2.2.2 RNA-Isolation mit NucleoSpin	6
2.2.3 Photometrische Bestimmung der RNA-Konzentration	7
2.2.4 Agarose-Gel-Elektrophorese für RNA	7
2.2.5 Polyacrylamidgel-Elektrophorese	8
2.2.6 Polymerase-Kettenreaktion nach Reverser Transkription (RT-PCR)	8
2.3 Migrationsexperimente	10
2.3.1 Versuchsanordnung	10
2.3.2 Versuchsablauf	11
2.3.3 Bestimmung der Migrationsgeschwindigkeit	12
2.3.4 Verwendete Lösungen	12
2.3.5 Statistik	13
2.4 Zellvolumenmessungen	13
2.4.1 Versuchsanordnung	13
2.4.2 Versuchsablauf	13
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>15</b>
3.1 Zellisolation	15
3.2 Nachweis von hIK1 mittels Reverse Transkriptase-PCR	15
3.3 Migrationsexperimente	17
3.3.1 Zeitkontrollen mit Ringerlösung und fMLP	17
3.3.2 Migrationsexperimente mit Clotrimazol	17
3.3.3 Migrationsexperimente mit Charybdotoxin	20
3.3.4 Migrationsexperimente mit Iberiotoxin	22
3.3.5 Migrationsexperimente und Volumenmessungen mit hypotoner Ringerlösung	22
3.4 Volumenmessungen	23
<b>4. Diskussion</b>	<b>25</b>
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>31</b>

## **6. Literaturverzeichnis**

**33**

Danksagung

Lebenslauf