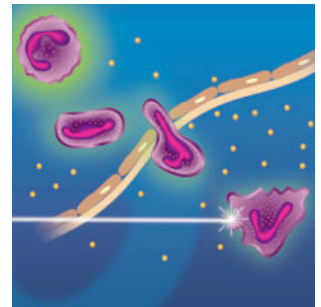


Forschungsprofil der Arbeitsgruppe Dr. Nebe, K. Hartmann, I. Brechtel

Die Forschungsgruppe Dr. Nebe beschäftigt sich intensiv mit der Funktion von Leukozyten und der Entwicklung von Immundiagnostika. Es wurden hierfür von uns eine Reihe von neuen Tests zur präzisen und reproduzierbaren Bestimmung der Leukozytenfunktion entwickelt.

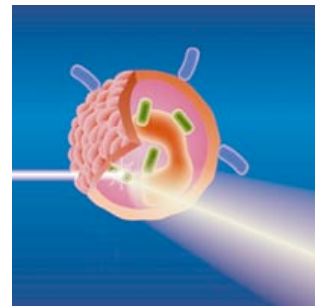
• CHEMOTAXIS

Die Chemotaxis stellt die erste Stufe der systemischen Immunreaktion dar mit Einwanderung der Granulozyten in das Entzündungsgebiet. Die Zellen treten in der postkapillären Strombahn aus dem Gefäß aus. Die langsame Strömung erlaubt ein Rollen entlang der Gefäßwand, eine Bindung an Adhäsionsmoleküle, einen Formwandel und schließlich die Transmigration durch den Endothelzellspalt in Richtung eines minimalen Konzentrationsgradienten eines Chemokins wie wie dem Bakterienbestandteil fMLP. Die Beeinträchtigung bei Frühgeburten und perinataler Sepsis ist Gegenstand laufender Studien.



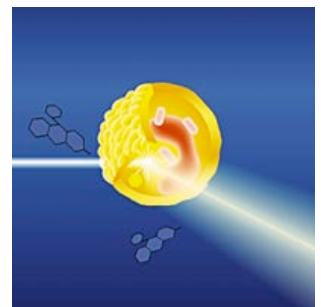
• PHAGOZYTOSE

Die Phagozytose von Mikroorganismen stellt den nächsten Schritt in der Infektionssituation dar. Die Bakterien müssen durch Komplement und Immunglobuline opsonisiert werden, bevor sie an Fc- und Komplementrezeptoren gebunden werden können, die die Aufnahme in die Zelle vermitteln. Das primäre Phagosom fusioniert mit Lysosomen zum sekundären Phagosom. Hier findet die Abtötung und der Verdauungsprozeß statt. Die meisten der untersuchten Defekte weisen eine Opsonisierungsstörung auf. Durch den Test lassen sich Einflußfaktoren der Phagozytose studieren (G. Zenner).



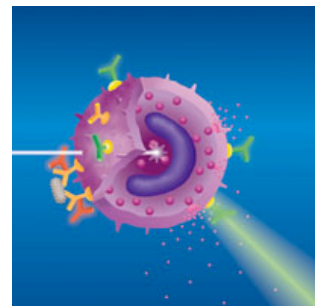
• OXIDATIVER BURST

Die Abtötung geschieht durch eine Bildung reaktiver Sauerstoffradikale, was eine effiziente und universelle Methode darstellt. Verschiedene Medikamente und Therapie-modalitäten wie sie in der Intensivmedizin eingesetzt werden, können den oxidativen Burst beeinträchtigen. Bei den angeborenen Immundefekten stellt die chronische Granulomatose (CGD) den wichtigsten mit dieser Methode messbaren Immundefekt dar. Bei Kindern sind spontane und f-MLP induzierte Burstaktivität als frühes Zeichen einer Sepsis erhöht (Dissertation A. Birle). Anschließend erfolgt bei den Monozyten eine Antigenpräsentation via HLA-DR, die bei Immunparalyse durch Sepsis oder Cortison vermindert (Diss. S. Ockert, W. Staiger) und bei Virusinfektion variabel erhöht ist.



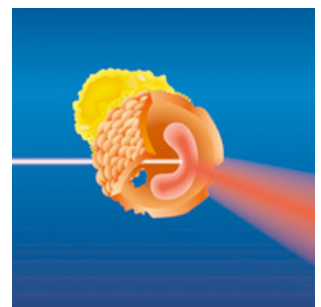
• BASOPHILENDEGRANULATION

Der Test wurde entwickelt zur Diagnostik von Mitarbeitern mit Latexallergie, die durch gepuderte Handschuhe sensibilisiert wurden. Da die Hauterscheinungen manchmal nicht eindeutig waren und die kommerziell verfügbaren Tests (RAST / CAP) eine hohe Rate an falsch negativen Ergebnissen aufwiesen, wurde die Entwicklung dieses neuen Testsystems notwendig. Gemessen wird die extrazelluläre Neoexpression eines Moleküls der Granulamembran (gp55, CD63) nach Fusion mit der Zelloberfläche. In der Routinediagnostik hat der Test einen wichtigen Stellenwert bei der Untersuchung von Allergien gegen Medikamente.



• NK-ZELL-AKTIVITÄT

Die wichtigste Effektorfunktion der zytotoxischen Lymphozyten stellt die zytolytische Aktivität dar. Die NK-Zellen besitzen eine angeborene Fähigkeit zur Zytolyse und weisen keine Einschränkung durch MHC-Restriktion auf. Sie stellen daher einen wichtigen Faktor der unspezifischen Tumorabwehr dar. Der Test hat seine Aussagekraft nicht nur in Medikamentenstudien unter Beweis gestellt, sondern auch bei Studien an Patientinnen zur Untersuchung des Copings nach Mammakarzinom (Diss. T. Scheck).



Apoptose und Phagozytose durch Autoantikörper (s. Abb.) spielen eine wichtige Rolle bei der Homöostase der T-Lymphozyten bei der HIV-Infektion (Diss. G. Maier, M. Müller, P. Kayßer). Leukämien weisen eine individuelle Spontanapoptose auf und diese Form des Zelltodes ist auch ein wichtiges Wirkprinzip der Chemotherapie bei diesen Erkrankungen. Die Spontanapoptose wie auch die Ansprechrate innerhalb einer bestimmten Leukämieform sind individuell und erfordern daher ein patienten-spezifische

Anpassung (Diss. Zunftmeister, Wucher, Friedrich). Die Untersuchung der Multi-Drug-Resistenz bei Leukämien (gemeinsam mit Frau Dr. Dorn-Beineke am Institut) sind weitere konsequente Forschungsaktivitäten dieser Gruppe. Zytokinproduktion und Proliferationsstudien zur Untersuchung der Überwindung einer Hepatitis C gehören ebenfalls dazu.

- **LDL-REZEPTOR-TEST**

Der LDL-Rezeptor reguliert die Cholesterinaufnahme in die Zelle. Die Familiäre Hypercholesterinämie basiert auf unterschiedlichen Mutationen, die diese Kette unterbrechen. Der Test untersucht die fehlende Hochregulation bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie, die mit 1:500 in der heterozygoten Form eine der häufigsten angeborenen Defekte und Ursache von Fettstoffwechselerkrankungen darstellt. Die Patienten besitzen ein hohes artherogenes Risiko für einen Myokardinfarkt (Dissertation. P. Reutter).

HÄMATOLOGIE

In enger Beziehung dazu beschäftigt sich die Gruppe mit der Messung von Blutzellen und neuen Messparametern. Es wurden und werden Tests entwickelt zur Bestimmung neuer Meßgrößen.

- **THROMBOZYTOPENIEN UND REGENERATION**

Die meisten kommerziellen hämatologischen Analyseautomaten haben Probleme bei der Bestimmung einer Thrombozytenkonzentration unter 20.000/ μl . Bei Auftreten von Fragmentozyten oder Makrothrombozyten kann diese Grenze auch deutlich höher liegen. Die jungen Thrombozyten sind (in Analogie zu den Retikulozyten bei den Erythrozyten) bei Immunthrombozytopenien vermehrt und werden als „retikulierte“ Thrombozyten bezeichnet. Der Test bestimmt gleichzeitig Konzentration (Mikropartikel als Zählstandard) und die grüne RNA-Fluoreszenz der neugebildeten Thrombozyten. Damit können Verdrängungsthyrombozytopenien gut differenziert werden, wo die jungen Plättchen nicht erhöht sind. Wir sind das erste Institut, an dem dieser neue Parameter verfügbar ist (BMFT-Projekt mit ORPEGEN).

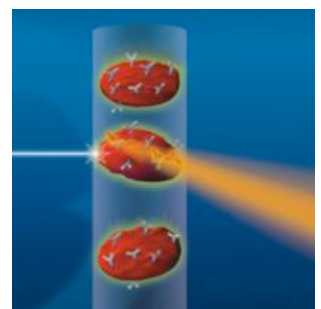
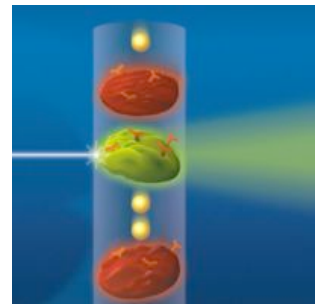
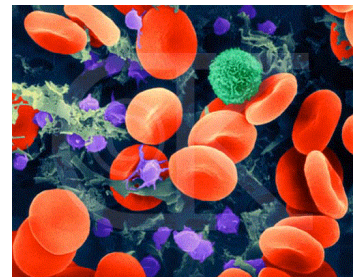
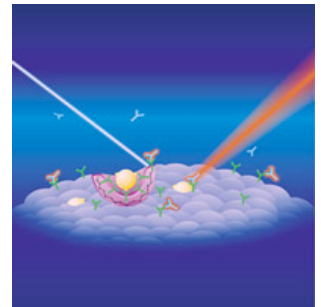
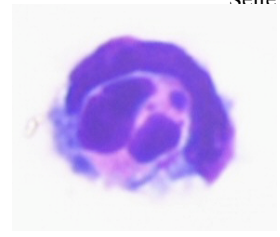
- **ANTIKÖRPERBELADUNG VON THROMBOZYTEN**

Die Beladung der Thrombozyten mit Antikörpern führt je nach Antikörperklasse zu einer Komplement-vermittelten Lyse oder zu einer Immunphagozytose und somit zu einer Depletion der zur Gerinnung verfügbaren Thrombozyten (Immunthrombozytopenie). Je nach Begleitumständen (plasmatische Gerinnung, Thrombozytenfragmente) besteht eine akute Blutungsgefahr unterhalb von 3-15.000 Thrombozyten pro Mikroliter. Das Knochenmark reagiert kompensatorisch mit einer vermehrten Bildung von Megakaryozyten aus Vorläuferzellen und ihrer beschleunigten Ausreifung und Ausschüttung junger, sog. „retikulierter“ Thrombozyten. (BMFT-Projekt mit ORPEGEN).

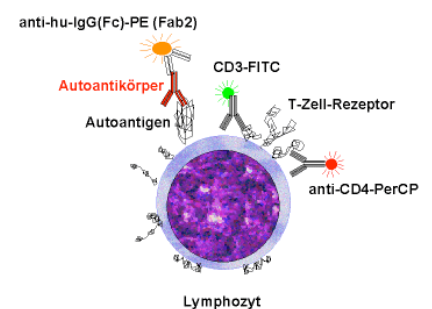
Analog dazu sind Autoantikörper gegen Lymphozyten und Neutrophile detektierbar, die ebenfalls zur Zytopenie führen (z.B. IgG-vermittelte Lymphozytopenie durch Phagozytose bei HIV-Infektion).

Die Arbeiten werden meist in enger Kooperation mit den entsprechenden Klinikern oder Firmen durchgeführt, mit denen gemeinsame Forschungsanträge und –verträge existieren. Damit wird eine praktische Umsetzung und direkte Anwendung in der Routinediagnostik ermöglicht. Die enge Verknüpfung von angewandter Forschung und Patientenversorgung in der Diagnostik von Allergien, Immundefekten und hämatologischen Erkrankungen stellt den besonderen Reiz dieser Abteilung dar. Die Problemstellungen entspringen aus praktischen Erfordernissen der Klinik. In manchen Fällen handelt es sich aber auch einfach nur um Zufallsbeobachtungen wie bei der Erstbeschreibung der Chlamydieninfektion des Knochenmarks als Anämieursache.

Es wurden eine Reihe von Dissertationen im Rahmen der Validierung der o.g. Tests und von klinischen Studien erfolgreich abgeschlossen und es werden neue Themen vergeben. Sie erreichen uns unter 0621 / 383-3485 bzw. -2033 oder via e-mail thomas.nebe@ikc.ma.uni-heidelberg.de.



Detektion von Antikörpern gegen Lymphozyten



Es wurden eine Reihe von Dissertationen im Rahmen der Validierung der o.g. Tests und von klinischen Studien erfolgreich abgeschlossen und es werden neue Themen vergeben. Sie erreichen uns unter 0621 / 383-3485 bzw. -2033 oder via e-mail thomas.nebe@ikc.ma.uni-heidelberg.de.

EIGENE PUBLIKATIONEN

- Nebe CT, Rother M, Brechtel I, et al. Detection of Chlamydomydia pneumoniae in the bone marrow of two patients with unexplained chronic anaemia. *Eur J Haematol* 2005;74:77-83.
- Bocker U, Nebe T, Herweck F, et al. Butyrate modulates intestinal epithelial cell-mediated neutrophil migration. *Clin Exp Immunol* 2003;131:53-60.
- Birle A, Nebe T, Gessler P. Age-related low expression of HLA-DR molecules on monocytes of term and preterm newborns with and without signs of infection. *J Perinatol* 2003;23:294-9.
- Neises M, Ditz S, Scheck T, et al. [Consenting and declining patients for an intervention group after breast cancer surgery differ in terms of quality of life, coping and immunological functional assays]. *Zentralbl Gynakol* 2001;123:27-36.
- Frietsch T, Fessler H, Kirschfink M, et al. Immune response to autologous transfusion in healthy volunteers: WB versus packed RBCs and FFP. *Transfusion* 2001;41:470-6.
- Frietsch T, Krombholz K, Tolksdorf B, et al. Cellular immune response to autologous blood transfusion in hip arthroplasty: whole blood versus buffy coat-poor packed red cells and fresh-frozen plasma. *Vox Sang* 2001;81:187-93.
- Breitkreutz R, Pittack N, Nebe CT, et al. Improvement of immune functions in HIV infection by sulfur supplementation: two randomized trials. *J Mol Med* 2000;78:55-62.
- Richter A, Nebe T, Wendl K, et al. HLA-DR expression in acute pancreatitis. *Eur J Surg* 1999;165:947-51.
- Siegsmund MJ, Kreukler C, Steidler A, et al. Multidrug resistance in androgen-independent growing rat prostate carcinoma cells is mediated by P-glycoprotein. *Urol Res* 1997;25:35-41.
- Richter A, Nebe T, Kattermann R, et al. [Immune paralysis in acute pancreatitis--HLA-DR antigen expression on CD14+DR+ monocytes]. *Langenbecks Arch Chir* 1996;381:38-41.
- Nebe CT [Flow cytometry and data analysis]. *Infusionsther Transfusionsmed* 1996;23:111-3.
- Kretschmar M, Nichterlein T, Nebe CT, et al. Fungicidal effect of tyrothricin on *Candida albicans*. *Mycoses* 1996;39:45-50.
- Gessler P, Nebe T, Birle A, et al. A new side effect of inhaled nitric oxide in neonates and infants with pulmonary hypertension: functional impairment of the neutrophil respiratory burst. *Intensive Care Med* 1996;22:252-8.
- Gessler P, Nebe T, Birle A, et al. Neutrophil respiratory burst in term and preterm neonates without signs of infection and in those with increased levels of C-reactive protein. *Pediatr Res* 1996;39:843-8.
- Seemann O, Muscheck M, Siegsmund M, et al. Establishment and characterization of a multidrug-resistant human bladder carcinoma cell line RT112/D21. *Urol Res* 1995;22:353-60.
- Rudolf G, Schiller A, Manz R, et al. [The course of immunologic parameters in inpatient psychotherapy exemplified by 2 single case studies]. *Z Psychosom Med Psychoanal* 1995;41:170-89.
- Neises M, Nebe T, Schiller A, et al. [Coping with illness/quality of life and immunologic parameters of patients with breast carcinoma and benign tumors]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 1995;35:166-71.
- Bohn B, Nebe T, Birr C. Flow-cytometric studies with *Eleutherococcus senticosus* extract as an immunomodulatory agent. *Arzneimittelforschung* 1987;37:1193-6.