

Inhaltsverzeichnis

- 1. Einleitung 1**
 - 1.1 Makro- und mikroskopische Anatomie der Urethra 1**
 - 1.1.1 Urethra männlicher Mäuse 1
 - 1.1.2 Urethra des Mannes..... 2
 - 1.1.3 Urethra weiblicher Mäuse..... 4
 - 1.1.4 Urethra der Frau..... 4
 - 1.2 Neuroendokrine Zellen der Harnröhre..... 5**
 - 1.3 Geschmackswahrnehmung in der Zunge..... 6**
 - 1.4 Die cholinerge chemosensorische Zelle..... 7**
 - 1.4.1 Die tracheale cholinerge chemosensorische Zelle 8
 - 1.4.2 Die intestinale cholinerge chemosensorische Zelle 9
 - 1.4.3 Die urethrale cholinerge chemosensorische Zelle 10
 - 1.5 Eicosanoide – Derivate der Arachidonsäure mit vielfältigen Funktionen 11**
 - 1.5.1 Die Prostaglandinsynthese 11
 - 1.5.2 Die Leukotriensynthese..... 13
 - 1.6 Fragestellung 15**
- 2. Material und Methoden 16**
 - 2.1 Chemikalien und Reagenzien 16**
 - 2.2 Lösungen und Puffer..... 18**
 - 2.3 Antikörper und Primer..... 21**
 - 2.3.1 Primäre Antikörper..... 21
 - 2.3.2 Sekundäre Antikörper 22
 - 2.3.3 Verwendete Primer 23
 - 2.4 Geräte und Laborbedarf 26**
 - 2.4.1 Laborbedarf..... 26
 - 2.4.2 Geräte..... 27
 - 2.5 Tiere 28**
 - 2.6 Gewebe der Maus 29**
 - 2.6.1 Perfusionsfixation und Entnahme der Proben 29
 - 2.6.2 Gefriereinbettung..... 29
 - 2.6.3 Gefrierschnittherstellung 29
 - 2.7 Gewebe des Menschen..... 30**
 - 2.7.1 Entnahme der Proben 30
 - 2.7.2 Aufbereitung der humanen Gewebe..... 31
 - 2.7.3 Paraffinschnittherstellung..... 31
 - 2.8 Indirekte Immunfluoreszenz 31**
 - 2.8.1 Einfache indirekte Immunfluoreszenz..... 31
 - 2.8.2 Doppelimmunfluoreszenz 32

2.9 Kontrollen	33
2.9.1 Positivkontrollen für Primärantikörper	33
2.9.2 Negativkontrollen.....	33
2.9.2.1 PBS-Negativkontrolle	33
2.9.2.2 Präabsorptionskontrolle.....	33
2.10. Auswertung am Fluoreszenzmikroskop.....	34
2.10.1 Häufigkeit zellulärer Phänotypen	35
2.11 Cysteinyl-Leukotrienmessung mittels ELISA	35
2.11.1 Statistische Auswertung des ELISA.....	38
2.12 RT-PCR-Untersuchungen.....	38
2.12.1 RNA-Isolierung.....	38
2.12.2 Anlegen der cDNA	39
2.12.3 Durchführung der PCR-Untersuchung und Gelelektrophorese.....	40
2.12.4 Darstellung der Banden in der Gelelektrophorese.....	40
2.13 Next-Generation-Single-Cell-Sequencing Datenanalyse	40
2.13.1 Auswertung des NGS-Datensatzes	41
3. Ergebnisse	41
3.1 Expressionsanalyse der Synthesewege für Prostaglandine und Leukotriene in der Urethra	41
3.1.1 Prostaglandinsynthese	41
3.1.2 Leukotriensynthese	43
3.2 NGS-Untersuchungen an UCCC	44
3.3 Urethrale cholinerge Bürstenzellen weisen FLAP auf	45
3.3.1 Häufigkeit der FLAP/ChAT-Zellphänotypen.....	47
3.4 Kolokalisation der UCCC-Marker mit FLAP in urethralen Epithelzellen	50
3.4.1 (Ad-)Villin.....	50
3.4.1.1 Morphologie und Lage der FLAP/(Ad-)Villin-Zellphänotypen	50
3.4.1.2 Häufigkeit der FLAP/(Ad-)Villin-Zellphänotypen	52
3.4.2 α -Gustducin.....	54
3.4.2.1 Morphologie und Lage der FLAP/ α -Gustducin-Zellphänotypen.....	54
3.4.2.2 Häufigkeit der FLAP/ α -Gustducin-Zellphänotypen	56
3.4.3 PLC β 2.....	57
3.4.3.1 Morphologie und Lage der FLAP/ PLC β 2-Zellphänotypen	57
3.4.3.2 Häufigkeit der FLAP/PLC β 2-Zellphänotypen	58
3.4.4 TRPM5	60
3.4.4.1 Morphologie und Lage der Zellphänotypen FLAP/TRPM5	60
3.4.4.2 Häufigkeit der FLAP/TRPM5-Zellphänotypen.....	62
3.5 Sind FLAP⁺-Epithelzellen neuroendokrine Zellen?	64
3.5.1 Morphologie und Lage	64
3.5.2 Häufigkeit der Serotonin/FLAP-Zellphänotypen	66
3.6 UCCC weisen Cox-1 auf	67
3.6.1 Morphologie und Lage	67
3.6.2 Häufigkeit der ChAT/Cox-1-Zellphänotypen	70
3.7 Kolokalisation von Cox-1 und FLAP in urethralen Epithelzellen	71
3.7.1 Morphologie und Lage	71
3.7.2 Häufigkeit der FLAP/Cox-1-Zellphänotypen	73

3.8 Kolokalisation von FLAP und Cox-1 in Urethren von <i>Pou2f3</i> ^{-/-} -Tieren.....	75
3.8.1 Morphologie und Lage	75
3.8.2 Häufigkeit der FLAP/Cox-1-Phänotypen an <i>Pou2f3</i> ^{-/-} -Urethren	76
3.9 Quantitative Cysteinyl-Leukotrien-Messung an Urethren von <i>Pou2f3</i> - und Bl6-Tieren	76
3.10 Immunhistochemische Untersuchung der gustatorischen Bürstenzellmarker an menschlichen Geweben	81
4. Diskussion	82
4.1 FLAP ⁺ -Epithelzellen sind keine neuroendokrinen Zellen	82
4.2 Bestandteile des Leukotrien- und Prostaglandinsynthesewegs in UCCC	83
4.2.1 Expressionsanalysen mittels RT-PCR und NGS	83
4.2.2 Eine Subpopulation der UCCC weist FLAP- und ChAT-Immunreaktivität auf	84
4.2.3 UCCC weisen immunhistochemisch FLAP und Bestandteile der Geschmackstransduktionskaskade auf	85
4.2.4 UCCC zeigen Cox-1-Immunreaktivität	89
4.2.5 FLAP und Cox-1 sind immunhistochemisch im urethralen Epithel kolokalisiert	89
4.2.6 Alters- und geschlechtsspezifische Unterschiede	90
4.3 UCCC-vermittelte Leukotrienfreisetzung nach Stimulation mit Denatonium	90
4.4 Eicosanoidfreisetzung bei Inflammation und Neoplasien	92
4.5 UCCC des Menschen – ähnlich wie bei der Maus?	94
4.6 Einschränkungen der Arbeit.....	95
5. Schlussfolgerungen.....	96
6. Zusammenfassung.....	97
7. Summary	98
8. Abkürzungsverzeichnis	100
9. Literaturverzeichnis	103
10. Auflistung der Kongressbeiträge	122
10.1 Kongressbeiträge	122
11. Erklärung zur Dissertation - Ehrenwörtliche Erklärung	123
12. Danksagung.....	124
13. Tabellarischer Lebenslauf.....	125