

# Inhalt

**Abbildungsverzeichnis ..... IV**

**Abkürzungsverzeichnis ..... VIII**

**1. Einleitung..... 1**

1.1. Myokardischämie und Reperfusionssyndrom ..... 1

1.2. Toll-like Rezeptoren und angeborene Immunabwehr..... 3

1.2.1. TLR - Signaltransduktion..... 7

1.2.2. Toll-like Rezeptor 2..... 11

1.2.3. Die Rolle von TLR2 während Myokardischämie/Reperfusion (MI/R) ..... 14

1.3. Biglykan ..... 16

1.3.1. Struktur und Funktion ..... 16

1.3.2. Biglykan und Myokardinfarkt ..... 18

1.3.3. Biglykan und TLR ..... 18

1.4. Fragestellung..... 19

**2. Material und Methoden..... 21**

2.1. Material ..... 21

2.1.1. Zellkultur ..... 21

2.1.2. OP/Organentnahme-Material ..... 22

2.1.3. Chemikalien..... 23

2.1.4. Sonstiges Verbrauchsmaterial..... 24

2.1.5. Geräte..... 25

2.1.6. Software ..... 28

2.2. Puffer und Lösungen ..... 29

2.3. Methoden ..... 31

2.3.1. *In-vivo* Methoden ..... 31

2.3.2. Zellbiologische Methoden..... 39

2.3.3. Proteinbiochemische Analysen ..... 43

2.3.4. Auswertung der Western Blots ..... 47

2.3.5. Präparation und Isolation von RNA aus Zellen..... 47

---

2.3.6.	Statistische Analyse.....	52
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>53</b>
3.1.	Untersuchung des PI3K/Akt-Signalwegs bei MI/R.....	53
3.1.1.	Auswirkungen der Inhibition von Akt oder PI3K auf die Kardioprotektion bei TLR2-Defizienz.....	53
3.1.2.	Basale Akt1-Proteinexpression in TLR2 <sup>-/-</sup> - und WT- Herzen.....	54
3.1.3.	Akt1-Proteinexpression in WT- und TLR2 <sup>-/-</sup> -Herzen nach MI/R.....	55
3.2.	Untersuchung der Rolle von Biglykan als TLR2-Ligand <i>in vitro</i> .....	61
3.2.1.	Aktivierung von TLR2 durch Biglykan in HEK Blue™ Zellen.....	61
3.2.2.	Aktivierung von TLR2 oder TLR4 durch Biglykan in THP1X Blue™ Zellen.....	63
3.2.3.	Aktivierung von TLR2 oder TLR4 durch Biglykan-Stimulation in RAW264.7 Makrophagen.....	64
3.3.	Untersuchung der Rolle von Biglykan bei MI/R <i>in vivo</i> .....	66
3.4.	Untersuchung der Auswirkungen der Biglykan-Defizienz auf die TLR2-Proteinexpression.....	67
3.5.	Untersuchung der Auswirkungen der Biglykan-Defizienz auf die Akt1-Proteinexpression.....	69
3.6.	Stimulation von HEK Blue™ hTLR2 Zellen mit Mausplasma .....	71
3.6.1.	Auswirkungen der Stimulation mit Mausplasma auf die SEAP-Sekretion in HEK Blue™ hTLR2 und –mTLR2 Zellen .....	71
3.6.2.	Aktivierung von NFκB nach Stimulation von HEK Blue™ hTLR2 Zellen mit Mausplasma .....	74
3.6.3.	Zytokinantwort nach Stimulation mit Mausplasma.....	81
3.6.4.	Stimulation von HEK Blue™ hTLR2 Zellen mit verschiedenen Konzentrationen Mausplasma .....	85
3.6.5.	Stimulation von THP1X Blue™ Zellen mit Mausplasma .....	87
3.7.	Stimulation von RAW264.7 Makrophagen mit Mausplasma .....	88
<b>4.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>93</b>
<b>5.</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick .....</b>	<b>104</b>
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>106</b>

---

7.	Summary .....	108
8.	Literaturverzeichnis .....	110
9.	Publikationen .....	117
10.	Projektförderung .....	118
11.	Danksagung .....	118
12.	Erklärung .....	119