

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Die akute respiratorische Insuffizienz	1
1.1.1.	Definition der akuten respiratorischen Insuffizienz	1
1.1.2.	Ursachen	2
1.1.3.	Pathophysiologie	2
1.1.4.	LPS-induzierte Signaltransduktion	4
1.1.5.	Transmigration von Leukozyten	6
1.1.6.	Lungenödem	9
1.1.7.	Zytokinsynthese	10
1.2.	Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	13
1.2.1.	Vascular Endothelial Growth Factor	13
1.2.2.	VEGF Rezeptoren	13
1.2.3.	Biologische Wirkungen von VEGF	16
1.2.4.	VEGF in der Pathogenese verschiedener Krankheiten	18
1.3.	VEGF in der Lunge	19
1.3.1.	Physiologische Funktionen von VEGF in der Lunge	19
1.3.2.	Pathologische Effekte von VEGF in der Lunge	19
1.3.3.	VEGF im ARDS	21
1.4.	Fragestellung	22
2.	Material und Methoden	23
2.1.	Material	23
2.1.1.	Materialien für die Tierhaltung	23
2.1.2.	Geräte	23
2.1.3.	Verbrauchsmaterialien und Chemikalien	24
2.1.3.1.	Puffer ELISA	26
2.1.3.2.	Puffer FACS	27
2.1.4.	Antikörper	27
2.1.5.	Verwendete Kits und Assays	27
2.2.	Methoden	28
2.2.1.	Mäuse	28
2.2.1.1.	Tierhaltung	28
2.2.1.2.	Anästhesie	28

2.2.1.3.	Instillation von LPS bzw. VEGFA in die Trachea.....	28
2.2.1.4.	Applikation des FITC-markierten Ly-6G Antikörpers	29
2.2.1.5.	Blutentnahme und Bearbeitung.....	29
2.2.1.6.	Broncho-alveoläre Lavage (BAL).....	30
2.2.1.7.	Leukozyten-Zählung	30
2.2.1.8.	Differenzierung der Leukozyten	31
2.2.1.9.	Lungenentnahme und Bearbeitung.....	31
2.2.1.10.	Anfertigen von Schnitten	32
2.2.2.	In-vitro Methoden	33
2.2.2.1.	Laser-unterstützte Mikrodisektion (LMD)	33
2.2.2.2.	RNA Isolation	33
2.2.2.3.	cDNA Synthese und <i>Real-Time</i> PCR.....	33
2.2.2.4.	ELISA (TNF- α , MIP-2 und VEGF).....	36
2.2.2.5.	Proteinbestimmung in der BAL	37
2.2.2.6.	Histologie	37
2.2.2.7.	Durchflusszytometrie (FACS, Fluorescence activated cell sorting)	37
2.3.	Protokoll der Experimente	38
2.3.1.	Gruppeneinteilung.....	38
2.3.2.	Zeitverlauf.....	40
2.4.	Statistik.....	41
3.	Ergebnisse	42
3.1.	Tierzahlen.....	42
3.1.1.	Allgemeine Entzündungsanzeichen	42
3.1.2.	VEGF mRNA-Expression im Zeitverlauf.....	42
3.1.3.	Regulation der mRNA von VEGF und der Rezeptoren im Endothel nach LPS	43
3.1.4.	Regulation der mRNA von VEGF und der Rezeptoren im Epithel nach LPS.	44
3.2.	Leukozytentransmigration.....	47
3.2.1.	Transmigration in den Alveolarraum	47
3.2.1.1.	Anzahl der Leukozyten in der BAL	47
3.2.1.2.	Differenzierung der Leukozyten in der BAL	48
3.2.2.	Transmigration in das Lungeninterstitium	50
3.2.2.1.	Anzahl der Leukozyten im Interstitium.....	50

3.2.2.2.	Differenzierung der Leukozyten im Interstitium	52
3.2.3.	Quantifizierung intravasaler und interstitieller Granulozyten.....	54
3.3.	Permeabilitätsstörung der alveolokapillären Barriere	56
3.4.	Zytokin-Synthese	58
3.4.1.	Tumor-Nekrose Faktor (TNF- α)	58
3.4.2.	Makrophagen Inflammatorisches Protein (MIP-2)	60
3.5.	VEGF-Proteingehalt.....	62
3.5.1.	VEGF in der BAL	62
3.5.2.	VEGF im Blutplasma	63
3.6.	Leukozyten im peripheren Blut.....	65
3.6.1.	Anzahl der Blut-Leukozyten	65
3.6.2.	Differenzierung der Blut-Leukozyten	66
3.7.	Gewichtsverlauf	68
3.8.	Histologie	69
4.	Diskussion	71
4.1.	LPS-Instillation als Tiermodell des ARDS	71
4.2.	VEGF-Regulation im ARDS.....	72
4.3.	Auswirkungen auf die Leukozytenrekrutierung.....	74
4.4.	Effekt auf die Differenzierung der Leukozyten	75
4.5.	Veränderung der Permeabilität der alveolokapillären Barriere.....	77
4.6.	Zytokine als Inflamationsparameter.....	79
4.7.	Intervention mit Wachstumsfaktoren im ARDS	79
5.	Zusammenfassung.....	83
6.	Summary	84
7.	Literaturübersicht	85
8.	Tabellenverzeichnis.....	109
9.	Abbildungsverzeichnis	109
	Versicherung	111
10.	Danksagung	112