

Inhaltsverzeichnis

I	Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht.....	3
2.1	Die Atmungsorgane.....	3
2.1.1	Aufbau der Atmungsorgane.....	3
2.1.1.1	Anatomischer Aufbau der Lunge	3
2.1.2	Abwehrmechanismen der Atmungsorgane.....	4
2.1.2.1	Physikalische Abwehrmechanismen	4
2.1.2.2	Mukoziliäre Clearance.....	5
2.1.2.3	Physikochemische Barrieren	5
2.1.2.4	Erkennung von Pathogenen.....	6
2.1.2.5	Zelluläre Immunität des angeborenen Immunsystems	7
2.1.2.6	Komplementsystem.....	8
2.1.2.7	Zelluläre Immunität des erworbenen Immunsystems.....	8
2.1.2.8	Zytokine (Interleukin-1 beta, Interleukin-6 und <i>das keratinocyte-derived chemokine</i>).....	10
2.2	Die ambulant erworbene Pneumonie des Menschen.....	11
2.2.1	Definition.....	11
2.2.2	Epidemiologie und Einteilung	12
2.2.3	Erreger und Therapie	13
2.2.4	Acute Respiratory Distress Syndrome	14
2.2.5	Sepsis	15
2.3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	16
2.3.1	Virulenzfaktoren	17
2.3.1.1	Kapsel.....	17
2.3.1.2	Pneumolysin	18
2.3.1.3	Cholinbindungsproteine	19
2.3.2	Resistenzsituation	19
2.3.3	Impfung.....	20
2.4	Antibiotika und Immunmodulation.....	21
2.4.1	Fluorchinolone.....	22
2.4.1.1	Moxifloxacin	23

2.5	Arbeitshypothese, Ziele und experimentelle Strategien der Dissertationsarbeit.....	26
3	Material und Methoden.....	28
3.1	<i>Ex-vivo</i> Experimente an humanem Lungengewebe.....	28
3.1.1	Vorbereitung des humanen Lungengewebes	28
3.1.2	Stimulation der Lungenproben mit TNF- α	29
3.2	Anzucht von <i>Streptococcus pneumoniae</i>	30
3.2.1	Ansetzen der Nährlösung.....	30
3.2.2	Bakterien.....	31
3.2.3	Test der minimalen Hemmkonzentration	31
3.2.4	Anzucht von <i>Streptococcus pneumoniae</i>	31
3.3	Infektion von humanem Lungengewebe mit <i>Streptococcus pneumoniae</i>	32
3.3.1	Bestimmung der Bakterienlast im humanen Lungengewebe	33
3.4	Quantifizierung der Zytokine IL-6 und IL-8 in den Überständen des humanen Lungengewebes.....	34
3.5	Tierexperimentelle Untersuchungen.....	34
3.5.1	Versuchstiere	34
3.5.2	Tierhaltung.....	34
3.6	Modell der murinen Pneumokokkenpneumonie.....	35
3.6.1	Versuchsgruppen.....	35
3.7	Handhabung der Antibiotika	35
3.7.1	Verabreichung von Ampicillin	35
3.7.2	Verabreichung von Moxifloxacin.....	36
3.8	Infektion der Mäuse mit <i>Streptococcus pneumoniae</i>	36
3.9	Behandlung mit Antibiotika.....	37
3.10	Endpunkte.....	37
3.11	Untersuchung des klinischen Verlaufs der Pneumokokkenpneumonie	38
3.12	Präparation der Tiere und Probenentnahme	39
3.12.1	Präparation der Mäuse.....	39
3.12.2	Durchführung der bronchoalveolären Lavage.....	40
3.12.3	Durchführung der Organentnahme.....	40
3.13	Leukozytendifferenzierung in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit und im Blut.....	41
3.13.1	Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl und Leukozytendifferenzierung in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit.....	41
3.13.2	Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl und Leukozytendifferenzierung im Blut.....	43

3.14 Quantifizierung der Zytokine in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit und im Blut.....	45
3.15 Genexpression der Zytokine in der Lunge	45
3.15.1 Isolierung der RNA aus Mauslungen	45
3.15.2 Durchführung der reversen Transkription	46
3.15.3 Durchführung der quantitativen <i>Real-Time-PCR</i>	48
3.16 Bestimmung der Bakterienlast in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit, im Blut und in der Milz.....	50
3.16.1 Bakterienlast der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit	50
3.16.2 Bakterienlast der Milz	50
3.16.3 Bakterienlast des Blutes	50
3.17 Ermittlung der pulmonalvaskulären Permeabilität.....	51
3.18 Histologische Untersuchungen der entnommenen Organe.....	51
3.19 <i>Electric Cell-Substrate Impedance Sensing</i>	53
3.19.1 Versuchsaufbau <i>Electric Cell-Substrate Impedance Sensing</i>	53
3.19.2 Stimulation von humanen umbilikalvenösen Endothelzellen mit Antibiotika und Thrombin	54
3.20 Wachstum von <i>Streptococcus pneumoniae</i> unter Zugabe von Antibiotika	54
3.21 Statistische Datenanalyse	55
4 Ergebnisse	56
4.1 Moxifloxacin hemmt im Gegensatz zu Ampicillin die Produktion von Entzündungsmediatoren im isolierten humanen Lungengewebe nach TNF- α Stimulation	56
4.2 Moxifloxacin und Ampicillin reduzieren die bakterielle Last im isolierten humanen Lungengewebe nach Infektion mit <i>Streptococcus pneumoniae</i>	57
4.3 Moxifloxacin hat ähnlich wie Ampicillin keinen Einfluss auf die Produktion von Zytokinen im isolierten humanen Lungengewebe nach <i>Streptococcus pneumoniae</i> Infektion	58
4.4 Moxifloxacin hat einen ähnlichen Einfluss wie Ampicillin auf den klinischen Verlauf der Pneumonie.....	59
4.5 Moxifloxacin reduziert die Bakterienlast in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit und im Blut effektiver als Ampicillin	61
4.6 Im Gegensatz zu der Behandlung mit Moxifloxacin weisen Mäuse unter Ampicillin-Therapie eine gesteigerte pulmonalvaskuläre Permeabilität in der akuten Phase der Pneumonie auf	64
4.7 Moxifloxacin hat einen ähnlichen Einfluss wie Ampicillin auf die Expression oder Sekretion der proinflammatorischen Zytokine IL-6, IL-1 β und KC	66
4.8 Moxifloxacin hat einen ähnlichen Einfluss wie Ampicillin auf die lokale und systemische zelluläre Entzündungsantwort	71

4.9	Moxifloxacin hat einen ähnlichen Einfluss wie Ampicillin auf die Ausprägung der histologischen Veränderungen im Verlauf der murinen Pneumokokkenpneumonie	75
4.10	Moxifloxacin hat genauso wie Ampicillin keinen Einfluss auf den transzellulären elektrischen Widerstand humaner umbilikalvenöser Endothelzellmonolayer <i>in vitro</i>	77
4.11	Ampicillin verlangsamt das Wachstum von <i>Streptococcus pneumoniae in vitro</i> effektiver als Moxifloxacin	79
5	Diskussion	82
6	Zusammenfassung	90
7	Summary	92
8	Literaturverzeichnis	94
9	Anhang	105
9.1	Versuchsdesign	105
9.2	Materialien	106
9.3	Tabellenverzeichnis	112
9.4	Abbildungsverzeichnis	113
10	Förderung / Interessenkonflikt	115
11	Publikationen	116
12	Danksagung	118
13	Selbständigkeitserklärung	120