

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Einleitung .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1 Pulmonale Hypertonie des Menschen .....</b>	<b>7</b>
2.1.1 Definition und Klassifikation der pulmonalen Hypertonie .....	7
2.1.2 Epidemiologie und Prognose.....	10
2.1.3 Pathogenese.....	11
2.1.4 Pulmonale Hypertonie und linksventrikuläre Hypertrophie .....	13
2.1.5 Pulmonale Hypertonie und rechtsventrikuläre Hypertrophie .....	14
2.1.6 Klinik und Gruppeneinteilung.....	15
2.1.7 Therapie .....	16
<b>2.2 Mausmodelle der pulmonalen Hypertonie.....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Chronische Hypoxieexposition .....	17
2.2.2 Sugen5416 und chronische Hypoxie .....	18
2.2.3 Monocrotalins .....	19
2.2.4 Wahl des Modells der chronischen Hypoxieexposition in der Maus .....	20
<b>2.3 Transiente Rezeptor Potential Proteine.....</b>	<b>20</b>
2.3.1 Die TRP Superfamilie .....	20
2.3.2 Die klassische TRP Subfamilie.....	22
2.3.3 Rolle von TRPC Kanälen bei PH .....	24
<b>2.4 Ziel der vorliegenden Arbeit.....</b>	<b>24</b>
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Material .....</b>	<b>26</b>
3.1.1 Geräte und Software .....	26
3.1.2 Verbrauchsmaterialien .....	29
3.1.3 Chemikalien.....	30
3.1.4 Kits und Assays .....	33
3.1.5 Antikörper für Western Blot .....	34
3.1.6 Antikörper für Immunhistochemie.....	34
3.1.7 Enzyme und Standards.....	35
3.1.8 Primer.....	35
3.1.9 Puffer und Lösungen .....	37
3.1.10 Medien .....	39
3.1.11 Medienzusammensetzung .....	40
3.1.12 Mauslinien .....	40
3.1.13 Versuchstiere .....	41
3.1.14 Tiersuchsgenehmigungen .....	41
<b>3.2 Methoden.....</b>	<b>42</b>
3.2.1 Mausmodell: Chronische Hypoxieexposition .....	42
3.2.2 Echokardiographie .....	43
3.2.3 Hämodynamische Messung .....	44
3.2.4 Messung des Hämatokriten .....	45
3.2.5 Präparation der Lunge.....	45
3.2.6 Ermittlung der Herzgewichte .....	46
3.2.7 Immunhistochemische Färbung.....	46

3.2.8	<i>Picro-Sirius Red Färbung</i> .....	49
3.2.9	Isolierte, ventilierte und blutfrei perfundierte Lunge .....	50
3.2.10	Myographie von isolierten Blutgefäßen.....	51
3.2.11	Isolierung und Kultivierung muriner pulmonalarterieller glatter Muskelzellen.....	52
3.2.12	Proliferationsassay .....	53
3.2.13	Migrationsassay .....	54
3.2.14	Apoptoseassay .....	55
3.2.15	Calciummessungen.....	56
3.2.16	RNA Isolation.....	60
3.2.17	Reverse Transkriptions-Polymerase Kettenreaktion.....	61
3.2.18	Relative Quantifizierung mittels Echtzeit PCR.....	61
3.2.19	Proteinextraktion .....	62
3.2.20	SDS-Polyacrylamid-Gelektrophorese.....	63
3.2.21	Trizin-SDS-Polyacrylamid-Gelektrophorese .....	63
3.2.22	Western Blot .....	64
3.2.23	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> .....	65
3.2.24	Statistik.....	67
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>68</b>
4.1	Beschreibung der Linien TRPC WT und TRPC1/3/6 <sup>-/-</sup> .....	68
4.2	Einfluss von TRPC1, 3 und 6 auf die Entstehung einer chronischen Hypoxie induzierten pulmonalen Hypertonie .....	69
4.2.1	Hämodynamische Messungen .....	69
4.2.2	Echokardiografische Messungen.....	71
4.2.3	Histologische Bestimmung des Muskularisierungsgrades der Lungengefäße .....	75
4.3	Einfluss von TRPC1, 3 und 6 auf PASMC nach chronischer Hypoxieexposition.....	76
4.3.1	Proliferation .....	76
4.3.2	Migration .....	77
4.3.3	Apoptose .....	78
4.3.4	Genexpression.....	79
4.3.5	Proteinexpression .....	81
4.4	Einfluss von TRPC1, 3 und 6 auf den Ca <sup>2+</sup> -Haushalt von PASMC nach chronischer Hypoxieexposition .....	85
4.4.1	Untersuchung des Rezeptor-vermittelten Ca <sup>2+</sup> -Einstroms.....	86
4.4.2	Untersuchung des Speicher-vermittelten Ca <sup>2+</sup> -Einstroms .....	88
4.4.3	Untersuchung regulatorischer Kompensationen des Rezeptor- und Speicher-vermittelten Ca <sup>2+</sup> -Einstroms.....	90
4.5	Einfluss von TRPC1, 3 und 6 auf physiologische Eigenschaften (Phänotyp) .....	94
4.5.1	Hämodynamische Messungen .....	94
4.5.2	Echokardiografische Messungen.....	96
4.5.3	Histologische Bestimmung des Kollagengehalts des rechten und linken Ventrikels sowie der Lunge .....	98
4.5.4	Untersuchungen der Kontraktilität von Pulmonalarterie und Aorta .....	100
4.5.5	Genexpression.....	101
4.5.6	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> .....	105
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>107</b>
5.1	Wahl von TRPC1, 3 und 6 als Kandidat für die Entstehung von CPHI.....	107
5.2	Verwendete Modelle.....	109

5.2.1	Wahl des Tiermodells.....	109
5.2.2	Wahl des Zellkulturmodells .....	111
5.3	Bedeutung von TRPC1, 3 und 6 für die Entstehung einer CPHH.....	112
5.3.1	TRPC1, 3 und 6 <i>in vivo</i> .....	112
5.3.2	TRPC1, 3 und 6 <i>in vitro</i> .....	114
5.4	Einfluss des globalen Knockouts von TRPC1, 3 und 6 auf die Physiologie der Maus .....	123
5.4.1	Entstehung von rechts- und linksventrikulärer Hypertrophie.....	123
5.4.2	Einfluss auf den Kollagenhaushalt.....	127
5.5	Resümee und Ausblick .....	129
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>131</b>
<b>7</b>	<b>Summary.....</b>	<b>133</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>135</b>
<b>9</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>153</b>
<b>10</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>155</b>
<b>11</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>156</b>
<b>12</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>157</b>
12.1	Isolierte, ventilierte und blutfrei perfundierte Lunge.....	157
12.2	Veröffentlichungen .....	158
12.3	Kongressbeiträge.....	158
12.4	Förderung.....	159
<b>13</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>160</b>