

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	PULMONALE HYPERTONIE.....	1
1.1.1	PH - Epidemiologie und Einteilung	1
1.1.2	PH - Klinik.....	3
1.1.3	PH - Mechanismen und Pathogenese	3
1.1.4	PH als Folge von Lungenerkrankungen und/oder Hypoxie	7
1.1.5	PH und vaskuläres Remodeling	11
1.2	MITOCHONDRIEN	14
1.2.1	Die mitochondriale Atmungskette.....	15
1.2.2	Das mitochondriale Membranpotenzial ($\Delta\psi_m$).....	16
1.2.3	Das Protonen-Leak.....	18
1.2.4	Mitochondriale reaktive Sauerstoffspezies (mROS).....	18
1.2.5	Der mitochondriale Ca^{2+} -Haushalt.....	22
1.2.6	Die mitochondriale Kontrolle des zellulären Metabolismus.....	23
1.3	DIE ROLLE DES MITOCHONDRIALEN MEMBRANPROTEIN UNCOUPLING PROTEIN 2 (UCP-2)	23
1.3.1	UCP-2 - Struktur und Verteilung.....	24
1.3.2	UCP-2 - Funktion und Regulation.....	24
1.3.3	Die Rolle von UCP-2 in der PH	27
1.4	ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT	28
2	MATERIAL UND METHODEN	31
2.1	MATERIAL	31
2.1.1	Geräte	31
2.1.2	Verbrauchsmaterialien	32
2.1.3	Chemikalien/Enzyme/Antikörper	34
2.1.4	Medien und Puffer	36
2.1.5	Puffer/Mischlösungen/Medienzusammensetzungen	37
2.1.6	Kits und Assays	39
2.1.7	Versuchstiere.....	39
2.1.8	Software.....	39
2.2	METHODEN	40
2.2.1	Isolation von Zellen der glatten Gefäßmuskulatur aus Pulmonalarterien von WT- und Ucp2 ^{-/-} -Mäusen (mPASCs).....	40
2.2.2	EdU-Proliferationsassay.....	42
2.2.3	Überexpression von Ucp2 in PASCs von WT- und Ucp2 ^{-/-} -Mäusen.....	45
2.2.4	Western Blot.....	45
2.2.5	Respirations- und Protonen-Leak-Messung - High-Resolution Respirometry	46

2.2.5.1 Aufbau und Funktionsweise des Oxygraphen.....	46
2.2.5.2 Vorbereitung der Zellen für die Respirationmessung.....	46
2.2.5.2.1 Vorbereitung normoxischer Zellen.....	47
2.2.5.2.2 Vorbereitung hypoxischer Zellen.....	47
2.2.5.3 SUIT-Protokolle.....	48
2.2.5.3.1 Messung an intakten mPASCs zur Identifikation von endogener Atmung, <i>Leak</i> -Respiration und maximaler Atmungskettenkapazität.....	48
2.2.5.3.2 Messung an permeabilisierten mPASCs zur Identifikation der pyruvatabhängigen Respiration.....	49
2.2.5.4 Messung an permeabilisierten mPASCs zur Identifikation des Protonen- <i>Leak</i>	50
2.2.6 Statistische Analyse.....	53
3 ERGEBNISSE	55
3.1 VERGLEICH DER PROLIFERATION VON WT- UND <i>Ucp2</i> ^{-/-} -mPASCs NACH NORMOXIE- BZW. CHRONISCHER HYPOXIE-EXPOSITION.....	55
3.2 VERGLEICH DER PROLIFERATION VON mPASCs VON WT- UND <i>Ucp2</i> ^{-/-} -MÄUSEN NACH ÜBEREXPRESSION VON <i>Ucp2</i> NACH NORMOXIE- BZW. CHRONISCHER HYPOXIE-EXPOSITION.....	57
3.3 VERGLEICH DER RESPIRATION VON WT- UND <i>Ucp2</i> ^{-/-} -mPASCs NACH NORMOXIE- BZW. CHRONISCHER HYPOXIE-EXPOSITION.....	59
3.4 VERGLEICH DES PROTONEN-LEAK AN PERMEABILISIERTEN mPASCs VON WT- UND <i>Ucp2</i> ^{-/-} -MÄUSEN NACH NORMOXIE- BZW. CHRONISCHER HYPOXIE-EXPOSITION	63
4 DISKUSSION.....	71
4.1 DIE ROLLE VON UCP-2 BEI DER HYPOXIE-INDUZIERTEN PH	72
4.1.1 PASCs im experimentellen Setting zur Erforschung der PH.....	72
4.1.2 Die Rolle von UCP-2 bei der Proliferation von PASCs nach Normoxie- bzw. chronischer Hypoxie-Exposition	74
4.1.2.1 Proliferationsmessung von WT- versus <i>Ucp2</i> ^{-/-} -mPASCs nach Normoxie- und chronischer Hypoxie-Exposition.....	74
4.1.2.2 Einfluss der Überexpression von <i>Ucp2</i> auf die Proliferation von mPASCs unter Normoxie- und chronischer Hypoxie-Exposition.....	75
4.2 MECHANISMEN DER <i>Ucp2</i> ^{-/-} -GETRIGGERTEN PROLIFERATION VON PASCs.....	77
4.2.1 UCP-2 als negativer Regulator des mitochondrialen Pyruvathaushaltes	77
4.2.2 UCP-2 und das Protonen-Leak	79
4.2.3 Zusammenhang zwischen der Funktion von UCP-2 und Proliferation	81
5 SCHLUSSFOLGERUNG	84
6 ZUSAMMENFASSUNG	85
7 SUMMARY	87
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	89
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	96

LITERATURVERZEICHNIS.....	97
ERKLÄRUNG ZUR DISSERTATION.....	118
DANKSAGUNG.....	119