

Inhaltsverzeichnis

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

2.2.5.1 Aufbau und Funktionsweise des Oxygraphen.....	46
2.2.5.2 Vorbereitung der Zellen für die Respirationsmessung.....	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 mPASMCs zur Identifikation von endogener Atmung, <i>Leak</i> -Respiration und maximaler Atmungskettenkapazität.....	48
2.2.5.3.2 Messung an permeabilisierten mPASMCs zur Identifikation der pyruvatabhängigen Respiration.....	49
2.2.5.4 Messung an permeabilisierten mPASMCs 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> ^{-/-} -MPASMCs NACH NORMOXIE- BZW. CHRONISCHER HYPOXIE-EXPOSITION.....	55
3.2 VERGLEICH DER PROLIFERATION VON MPASMCs 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> ^{-/-} -MPASMCs NACH NORMOXIE- BZW. CHRONISCHER HYPOXIE-EXPOSITION.....	59
3.4 VERGLEICH DES PROTONEN- <i>LEAK</i> AN PERMEABILISIERTEN MPASMCs 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 <i>PASMCs im experimentellen Setting zur Erforschung der PH</i>	72
4.1.2 <i>Die Rolle von UCP-2 bei der Proliferation von PASMCs nach Normoxie- bzw. chronischer Hypoxie-Exposition</i>	74
4.1.2.1 Proliferationsmessung von WT- versus <i>Ucp2</i> ^{-/-} -mPASMCs nach Normoxie- und chronischer Hypoxie-Exposition	74
4.1.2.2 Einfluss der Überexpression von <i>Ucp2</i> auf die Proliferation von mPASMCs unter Normoxie- und chronischer Hypoxie-Exposition	75
4.2 MECHANISMEN DER <i>UCP2</i> ^{-/-} -GETRIGGERTEN PROLIFERATION VON PASMCs.....	77
4.2.1 <i>UCP-2 als negativer Regulator des mitochondrialen Pyruvathaushaltes</i>	77
4.2.2 <i>UCP-2 und das Protonen-<i>Leak</i></i>	79
4.2.3 <i>Zusammenhang zwischen der Funktion von UCP-2 und Proliferation</i>	81
5 SCHLUSSFOLGERUNG	84
6 ZUSAMMENFASSUNG	85
7 SUMMARY	87
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	89
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	96

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