

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
<b>1. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>- 6 -</b>
<b>2. Einleitung</b>	<b>- 9 -</b>
2.1 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs)	- 9 -
2.1.1 Klassifikation der GPCRs	- 9 -
2.1.2 Aktivierung und Signalweiterleitung der GPCRs	- 10 -
2.1.3 Heterotrimere G-Proteine und ihre Signalwege	- 12 -
2.1.4 Regulation der GPCR-Aktivität	- 14 -
2.2 Adrenerge Rezeptoren	- 16 -
2.3 Cholinerge Rezeptoren	- 18 -
2.4 Wirkung cholinergischer und adrenerger Liganden in verschiedenen Organsystemen	- 19 -
2.4.1 Wirkung cholinergischer und adrenerger Rezeptoren im Darmtrakt	- 19 -
2.4.2 Wirkung cholinergischer und adrenerger Rezeptoren im Respirationstrakt	- 23 -
2.4.3 Wirkung cholinergischer und adrenerger Liganden auf glatte Muskelzellen	- 24 -
2.4.4 Wirkung cholinergischer und adrenerger Rezeptoren am Myokard	- 27 -
2.5 Nanopartikel	- 29 -
2.5.1 Goldnanopartikel	- 30 -
2.5.2 Multivalente Rezeptorstimulation	- 30 -
2.5.3 Anwendung von Nanopartikeln an ausgewählten Organsystemen	- 32 -
<b>3. Fragestellung des Ph.D.-Projekts</b>	<b>- 34 -</b>
<b>4. Material und Methoden</b>	<b>- 35 -</b>
4.1 Versuchstiere	- 35 -
4.2 Lösungen	- 35 -
4.2.1 Lösungen für die Ussingkammer	- 36 -

4.2.2	Lösungen für das Muskelbad	- 36 -
4.2.3	Lösungen für das $\text{Ca}^{2+}$ -Imaging	- 36 -
4.2.4	Lösungen für die Transmissionselektronenmikroskopie	- 37 -
4.3	Substanzen	- 38 -
4.4	Präparation respiratorischen Gewebes	- 38 -
4.5	Präparation von Darmsegmenten	- 39 -
4.6	Die Ussingkammer	- 39 -
4.6.1	Grundlagen der Ussingkammer-Technik	- 39 -
4.6.2	Aufbau der Ussingkammer	- 41 -
4.6.3	Präparation von Darmabschnitten für die Ussingkammer-Versuche	- 42 -
4.6.4	Ablauf der Ussingkammer-Versuche	- 43 -
4.6.5	Auswertung der Ussingkammer-Ergebnisse	- 43 -
4.7	Das Muskelbad	- 43 -
4.7.1	Aufbau des Muskelbads	- 43 -
4.7.2	Elektrische Feldstimulation (EFS) im Muskelbad	- 44 -
4.7.3	Gewebepräparation für die Muskelbad-Versuche	- 45 -
4.7.4	Ablauf der Muskelbad-Versuche	- 45 -
4.7.5	Auswertung der Muskelbad-Ergebnisse	- 46 -
4.8	Kontraktilitätsmessungen an isolierten Kardiomyozyten	- 47 -
4.8.1	Isolation und Kultivierung ventrikulärer Kardiomyozyten	- 47 -
4.8.2	Messprinzip und Auswertung der Kontraktilitätsmessungen	- 48 -
4.9	Das $\text{Ca}^{2+}$ -Imaging	- 49 -
4.9.1	Prinzip des $\text{Ca}^{2+}$ -Imagings	- 49 -
4.9.2	Gewinnung von Kolonkrypten	- 51 -
4.9.3	Ablauf der $\text{Ca}^{2+}$ -Imaging-Versuche	- 51 -
4.9.4	Auswertung der $\text{Ca}^{2+}$ -Imaging-Ergebnisse	- 53 -

4.10	Equine mesenchymale Stammzellen	54
4.10.1	Isolation und Kultivierung der equinen mesenchymalen Stammzellen	54
4.10.2	Inkubation der mesenchymalen Stammzellen mit Au-MUDA-CCh NPs	54
4.11	Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	55
4.11.1	Prinzip der Transmissionselektronenmikroskopie	55
4.11.2	Verarbeitung der Gewebe für die Transmissionselektronenmikroskopie	55
4.11.3	Auswertung der TEM-Bilder	56
4.12	Nanopartikelsynthese	57
4.12.1	Synthese der Goldnanopartikel	58
4.12.2	Synthese der Au-MUDA-ADR und Au-MUDA-NA NPs	59
4.12.3	Synthese der Au-MUDA-AT NPs	60
4.12.4	Synthese der Au-MUDA-CCh NPs	60
4.12.5	Charakterisierung der synthetisierten Nanopartikel	60
<b>5.</b>	<b>Statistik und Abbildungen</b>	<b>61</b>
<b>6.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>62</b>
6.1	Ergebnisse aus den Versuchen mit adrenerg und noradrenerg funktionalisierten Nanopartikeln (Au-MUDA-ADR/-NA NPs)	62
6.1.1	Stimulation intestinaler $\beta$ -Rezeptoren durch Au-MUDA-ADR NPs	62
6.1.2	Fehlende Relaxation respiratorischer glatter Muskelzellen durch adrenerg und noradrenerg funktionalisierte Nanopartikel	64
6.1.3	Wirkung nicht-biofunktionalisierter Nanopartikel an respiratorischen glatten Muskelzellen	66
6.1.4	Stimulation kardialer $\beta_1$ -Rezeptoren durch Au-MUDA-ADR NPs	68
6.2	Ergebnisse aus den Versuchen mit Atropin-funktionalisierten Goldnanopartikeln (Au-MUDA-AT NPs)	72
6.2.1	Relaxation respiratorischer Muskelzellen durch Au-MUDA-AT NPs	72
6.2.2	Zeitabhängige Hemmung des Carbachol-induzierten $\Delta I_{sc}$ nach mukosaler Au-MUDA-AT NPs-Applikation	74

6.2.3	Größenabhängige Wirkung der Au-MUDA-AT NPs	- 78 -
6.2.4	Hemmung Carbachol-induzierter Kontraktionen am Darm durch Au-MUDA-AT NPs	- 80 -
6.2.5	Hemmung EFS-induzierter Kontraktionen des Darms nach mukosaler Resorption der Au-MUDA-AT NPs	- 82 -
6.3	Ergebnisse aus den Versuchen mit Carbachol-funktionalisierten Nanopartikeln (Au-MUDA-CCh NPs)	- 87 -
6.3.1	Anstieg der Kontraktilität von intestinalen glatten Muskelzellen durch Au-MUDA-CCh NPs	- 87 -
6.3.2	Effekte der Au-MUDA-CCh NPs auf die zytosolische $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration	- 89 -
6.3.3	Zelluläre Aufnahme von Au-MUDA-CCh NPs in equine mesenchymale Stammzellen	- 91 -
<b>7.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>- 96 -</b>
7.1	Au-MUDA-ADR NPs-induzierte $\text{K}^{+}$ -Sekretion am distalen Kolonepithel	- 96 -
7.2	Modulation der Kontraktilität von respiratorischen Muskelzellen durch biofunktionalisierte Goldnanopartikel	- 99 -
7.3	Positiv inotrope Effekte der Au-MUDA-ADR NPs auf ventrikuläre Kardiomyozyten	- 102 -
7.4	Zelluläre Aufnahme biofunktionalisierter Nanopartikel	- 103 -
7.5	Größenabhängige Wirkungen der Au-MUDA-AT NPs	- 109 -
7.6	EFS-induzierte Relaxationen und Kontraktionen des Jejunums	- 111 -
7.7	Modulation der intestinalen Kontraktilität durch Au-MUDA-CCh NPs	- 112 -
7.8	Effekte der Au-MUDA-CCh NPs auf die zytoplasmatische $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration	- 114 -
7.9	Multivalente Rezeptorstimulation	- 116 -
7.10	Toxizität, Biosdistribution und mögliche therapeutische Anwendbarkeit der biofunktionalisierten Goldnanopartikel	- 118 -
7.11	Ausblick	- 120 -

<b>8. Zusammenfassung</b>	<b>- 122 -</b>
<b>9. Summary</b>	<b>- 124 -</b>
<b>10. Grafische Zusammenfassungen</b>	<b>- 126 -</b>
10.1 Wirkungen biofunktionalisierter Goldnanopartikel an respiratorischen und kardialen Myozyten	- 126 -
10.2 Wirkungen biofunktionalisierter Goldnanopartikel am intestinalen Epithel	- 127 -
10.3 Wirkungen biofunktionalisierter Goldnanopartikel auf die intestinale Muskulatur	- 128 -
<b>11. Verzeichnisse</b>	<b>- 129 -</b>
11.1 Abbildungsverzeichnis	- 129 -
11.2 Tabellenverzeichnis	- 131 -
11.3 Literaturverzeichnis	- 132 -
<b>12. Publikationsliste</b>	<b>- 157 -</b>
12.1 Projektbezogene Publikationen	- 157 -
12.2 Weitere Publikationen	- 157 -
12.3 Manuskripte in Vorbereitung	- 157 -
12.4 Wissenschaftliche Beiträge auf Konferenzen	- 158 -
<b>13. Erklärung</b>	<b>- 159 -</b>
<b>14. Danksagung</b>	<b>- 160 -</b>
<b>15. Lebenslauf</b>	<b>- 161 -</b>