

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
1. Abkürzungsverzeichnis	- 6 -
2. Einleitung	- 9 -
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 cholinriger und adrenerger Liganden in verschiedenen Organsystemen	- 19 -
2.4.1 Wirkung cholinriger und adrenerger Rezeptoren im Darmtrakt	- 19 -
2.4.2 Wirkung cholinriger und adrenerger Rezeptoren im Respirationstrakt	- 23 -
2.4.3 Wirkung cholinriger und adrenerger Liganden auf glatte Muskelzellen	- 24 -
2.4.4 Wirkung cholinriger 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 -
3. Fragestellung des Ph.D.-Projekts	- 34 -
4. Material und Methoden	- 35 -
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 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 Ca^{2+} -Imaging	- 49 -
4.9.1	Prinzip des Ca^{2+} -Imagings	- 49 -
4.9.2	Gewinnung von Kolonkrypten	- 51 -
4.9.3	Ablauf der Ca^{2+} -Imaging-Versuche	- 51 -
4.9.4	Auswertung der 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 -
5. Statistik und Abbildungen	- 61 -
6. Ergebnisse	- 62 -
6.1 Ergebnisse aus den Versuchen mit adrenerg und noradrenerg funktionalisierten Nanopartikeln (Au-MUDA-ADR/-NA NPs)	- 62 -
6.1.1 Stimulation intestinaler β -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 β_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 ΔI_{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 Ca^{2+} - Konzentration	- 89 -
6.3.3	Zelluläre Aufnahme von Au-MUDA-CCh NPs in equine mesenchymale Stammzellen	- 91 -
7.	Diskussion	- 96 -
7.1	Au-MUDA-ADR NPs-induzierte 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 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 -

8.	Zusammenfassung	- 122 -
9.	Summary	- 124 -
10.	Grafische Zusammenfassungen	- 126 -
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 -
11.	Verzeichnisse	- 129 -
11.1	Abbildungsverzeichnis	- 129 -
11.2	Tabellenverzeichnis	- 131 -
11.3	Literaturverzeichnis	- 132 -
12.	Publikationsliste	- 157 -
12.1	Projektbezogene Publikationen	- 157 -
12.2	Weitere Publikationen	- 157 -
12.3	Manuskripte in Vorbereitung	- 157 -
12.4	Wissenschaftliche Beiträge auf Konferenzen	- 158 -
13.	Erklärung	- 159 -
14.	Danksagung	- 160 -
15.	Lebenslauf	- 161 -