

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

1.1.1 Allgemeines

1.1.2 Die VEGF- Familie

1.1.3 VEGF- Produktion und –Regulation

1.1.4 VEGF- Rezeptoren und ihre biologische Bedeutung

1.1.4.1 Tyrosinkinase-Rezeptoren

1.1.4.2 sFLT

1.1.5 Rezeptorexpression

1.1.5.1 Endothelzellen

1.1.5.2 Trophoblastzellen

1.1.5.3 Zellen des peripheren Blutes

1.1.5.4 Einflüsse auf die Rezeptorexpression

1.1.6 Interaktion von Ligand und Rezeptor

1.1.7 Signaltransduktion

1.2 Präeklampsie

1.2.1 Allgemeines

1.2.2 Vaskuläre Veränderungen in der Schwangerschaft

1.2.3 Aktivierung des mütterlichen Endothels

1.2.3.1 Ausmaß der morphologische Veränderungen des Gefäßsystems

1.2.3.2 Veränderte Gefäßreaktivität

1.2.3.3 Affektion des Gerinnungssystems

1.2.3.4 Träger und Marker der gestörten maternalen Endothelfunktion

1.3 Neutrophile Granulozyten

1.3.1 Aktivierung von neutrophilen Granulozyten bei Entzündungsreaktionen

1.3.2 Neutrophile als Effektorzellen bei Präeklampsie

1.3.3 Mechanismen der Aktivierung bei Präeklampsie

1.3.3.1 Adhäsionsmoleküle

1.3.3.2 Endothelin

2. Fragestellung

3. Material und Methoden

3.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

3.2 Probengewinnung

3.3 Durchflusszytometrie

3.3.1 Charakterisierung der Population neutrophiler Granulozyten im Vollblut durch extrazelluläre Mehrfach-Markierung

3.3.2 Markierung des VEGF-Rezeptors FLT-1

3.3.3 Konjugation des anti-FLT-1 intern- Antikörpers mit Fluoresceinisothiocyanat

3.3.4 Intrazelluläre Markierung des FLT-1

3.3.5 Optimierung der eingesetzten Antikörpermenge für die FLT-1-Markierung

3.3.6 Nachweis der Spezifität der Antikörperbindung an die FLT-1-Domäne

3.4 Zellisolierung

3.4.1 Isolierung über Hypaque-Ficoll-Gradienten

3.4.2 Isolierung über Ficoll-Percoll-Gradienten

3.4.3 Isolierung über Polymorph-Prep

3.4.4 Vergleich der Verfahren

3.5 Zellkultur

3.5.1 Stimulation der kultivierten neutrophilen Granulozyten durch Zusatz von VEGF

3.5.2 Migrationsassay

3.6 Molekularbiologische Untersuchungen

3.6.1 Isolierung von Gesamt-RNA

3.6.2 Synthese von cDNA durch Reverse Transkription

3.6.3 Reverse Transkriptase- Polymerasekettenreaktion (RT-PCR)

3.6.4 Primerdesign und -synthese

3.7 Statistik

3.8 Materialliste und Bezugsquellen

3.9 Häufig verwendete Lösungen, Puffer und Medien

3.9.1 Lösungen

3.9.2 Puffer

3.9.3 Medien

3.9.4 Gele

4. Ergebnisse

4.1 Durchflusszytometrie

4.1.1 Charakterisierung der neutrophilen Granulozyten

4.1.2 FLT-1-Expression der neutrophilen Granulozyten

4.1.2.1 Veränderung der FLT-1-Expression in der Schwangerschaft

4.1.2.2 Expression bei Präeklampsie

4.2 RT-PCR-Analyse von FLT-1, sFLT und β -actin

4.2.1 Expression von FLT-1 und β -actin

4.2.2 Expression von sFLT

4.3 FLT-1-Expression im Stimulationsexperiment

4.4 Funktionsanalyse des FLT-1 im Migrationsassay

5. Diskussion

5.1 FLT-1-Expression neutrophiler Granulozyten im Verlauf normotensiver und durch Präeklampsie komplizierter Schwangerschaft

5.2 Ergebnisse der RT-PCR-Analyse der FLT-1/ sFLT-Expression

5.3 Veränderung der FLT-1-Expression durch Stimulation der Granulozyten mit VEGF

5.4 Migrationsassay

5.5 Ausblick auf weiterführende Untersuchungen

6. Zusammenfassung

7. Literaturverzeichnis

8. Abbildungsverzeichnis

9. Danksagung

10. Anmerkungen

11. Lebenslauf