

Aus der Klinik für Pädiatrie
mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die sympathische und sensible Atemwegsinnervation der
Ratte: Herkunft und neurochemische Charakterisierung

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin
Berlin

von

Anne Radtke

aus Frankfurt am Main

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. A. Fischer

2. Prof. Dr. med. T. Welte

3. Priv.-Doz. Dr. med. Th. Tschernig

Datum der Disputation: 11. Mai 2007

Inhaltsverzeichnis		Seite
1	Einleitung	1
1.1	Die Innervation der unteren Atemwege.....	1
1.1.1	Die autonome Innervation der unteren Atemwege.....	1
1.1.2	Die sensible Innervation der unteren Atemwege.....	3
1.2	Mediatoren.....	6
1.2.1	Klassische Mediatoren.....	6
1.2.1.1	Noradrenalin (NA).....	6
1.2.1.2	Acetylcholin (ACh).....	8
1.2.2	NANC-Mediatoren.....	9
1.2.2.1	Neuropeptid Y (NPY).....	9
1.2.2.2	Stickstoffmonoxid (NO).....	12
1.2.2.3	Tachykinine.....	15
1.3	Ziele und Fragestellung.....	17
2	Material und Methoden	19
2.1	Versuchstiere.....	19
2.2	Verabreichung des retrograden Tracers	19
2.3	Gewebeentnahme.....	19
2.4	Gewebebearbeitung.....	20
2.5	Immunhistochemie.....	20
2.6	Mikroskopische Auswertung.....	22
3	Ergebnisse	23
3.1	Lokalisation retrograd markierter Neurone.....	23
3.1.1	Retrogrades Tracing mittels Fast Blue.....	23
3.1.2	Sensible Ganglien	23
3.1.3	Sympathische Ganglien.....	23
3.2	Immunhistochemie retrograd markierter Neurone.....	25
3.2.1	Sensible Ganglien.....	25
3.2.2	Sympathische Ganglien.....	32
4	Diskussion	38
4.1	Retrograde neuronale Markierung und Doppelimmunhistochemie.....	38
4.2	Innervation der unteren Atemwege.....	39
4.2.1	Sensible Ganglien.....	39

4.2.2	Sympathische Ganglien.....	39
4.3	Immunhistochemische Auswertung.....	40
4.3.1	Sensible Vagusganglien.....	40
4.3.1.1	Retrograd markierte Neurone mit SP-Immunreaktivität.....	41
4.3.1.2	Retrograd markierte Neurone mit NOS+/SP+Immunreaktivität.....	43
4.3.1.3	Retrograd markierte Neurone mit NOS+/(SP-)Immunreaktivität.....	44
4.3.1.4	Retrograd markierte Neurone ohne NOS/SP-Immunreaktivität.....	44
4.3.2	Sympathische Ganglien.....	45
4.3.2.1	Retrograd markierte Neurone mit TH+(/NPY-) Immunreaktivität.....	45
4.3.2.2	Retrograd markierte Neurone mit TH+/NPY+ Immunreaktivität.....	46
4.3.2.3	Retrograd markierte Neurone mit NPY+(/TH-) Immunreaktivität.....	46
4.3.2.4	Retrograd markierte Neurone ohne TH/NPY Immunreaktivität.....	47
5	Zusammenfassung.....	48
6	Literaturverzeichnis.....	50
	Lebenslauf.....	77
	Danksagung.....	78
	Erklärung.....	79

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	Seite
Abbildung 1	Übersicht: Innervation der Atemwege..... 2
Abbildung 2	Verteilung des Tracers..... 24
Abbildung 3	SP- und NOS-Immunreaktivität in Nervenfasern der unteren Atemwege der Ratte..... 26
Abbildung 4	Korrelation von SP- und NOS-Immunreaktivität in retrograd markierten Ganglienzellen des Ganglion jugulare/Ganglion nodosum der Ratte..... 27
Abbildung 5	Korrelation von SP- und NOS-Immunreaktivität in retrograd markierten Ganglienzellen des Ganglion jugulare/Ganglion nodosum der Ratte..... 28
Abbildung 6	Neurochemische Charakterisierung der zur Lunge projizierenden Neurone im Ganglion nodosum..... 30
Abbildung 7	Neurochemische Charakterisierung der zur Lunge projizierenden Neurone im Ganglion jugulare..... 31
Abbildung 8	TH- und NPY-Immunreaktivität in Nervenfasern der unteren Atemwege der Ratte..... 33
Abbildung 9	Korrelation von TH- und NPY-Immunreaktivität in retrograd markierten Ganglienzellen des Ganglion stellatum..... 34
Abbildung 10	Neurochemische Charakterisierung der zur Lunge projizierenden Neurone im Ganglion cervicale superius..... 36
Abbildung 11	Neurochemische Charakterisierung der zur Lunge projizierenden Neurone im Ganglion stellatum..... 37
Tabelle 1	Afferente Neurone in den Atemwegen..... 5
Tabelle 2	Antikörper und Immunreagenzien..... 21
Tabelle 3	Reagenzien..... 22
Tabelle 4	Filterkombinationen der Fluoreszenzmikroskopie..... 22
Tabelle 5	Immunhistochemisches Verteilungsmuster von SP- und NOS in retrograd markierten Neuronen der sensiblen Vagusganglien nodosum und Ganglion jugulare..... 29
Tabelle 6	Immunhistochemisches Verteilungsmuster von TH- und NPY in retrograd markierten Neuronen der sympathischen Ganglien stellatum und Ganglion cervicale superius..... 35

Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
CGRP	calcitonin gene related peptide
eNANC	exzitatorisch nicht-adrenerg-nicht-cholinerg
EFS	Elektrische Feldstimulation
FB	Fast Blue
FITC	Fluorescein-Isothiocynat
GMP	Guanosinmonophosphat
GABA	Gammaaminobuttersäureamid
iNANC	Inhibitorisch nicht-adrenerg-nicht-cholinerg
IFN γ	Interferon γ
IL-4	Interleukin 4
L-NAME	N-Nitro-L-Arginin-Methylester
mRNA	Messenger Ribonucleinsäure
NA	Noradrenalin
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NEP	Neurale Endopeptidase
NKA	Neurokinin A
NKB	Neurokinin B
NK1-Rezeptor	Neurokinin-1-Rezeptor
NK2-Rezeptor	Neurokinin-2-Rezeptor
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid -Synthase
eNOS	endotheliale NO-Synthase
iNOS	induzierbare NO-Synthase
nNOS	neuronale NO-Synthase
NPY	Neuropeptid Y
PBS	Phosphate bufferd saline
RAR	rapidly adapting stretch receptor
SAR	slowly adapting stretch receptor
SP	Substanz P
TH	Thyrosin Hydroxylase
TRPV1	transient receptor potential vanilloid 1
VIP	Vasoactives intestinales Peptid

LEBENS LAUF

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Axel Fischer danke ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung des Dissertationsverfahrens. Prof. Dr. David Groneberg und Dr. Thai Dinh möchte ich für die ermutigende Unterstützung und die fachkundliche Beratung danken.

Mein großer Dank gilt meiner Familie für ihre Geduld und ihr Verständnis, ohne die diese Dissertation nicht entstanden wäre.

ERKLÄRUNG

„Ich, Anne Radtke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die sympathische und sensible Atemwegsinnervation der Ratte: Herkunft und neurochemische Charakterisierung“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

17.05.2007