

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Immunhistologischer Nachweis
von
Zellkontaktproteinen im Rekonditionierungsmodell
der Schweinelunge**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jana Sandte
Tierärztin aus Hamburg

Berlin 2020
Journal-Nr.: 4079

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Immunhistologischer Nachweis
von
Zellkontaktproteinen im Rekonditionierungsmodell
der Schweinelunge**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jana Sandte
Tierärztin aus Hamburg

Berlin 2020

Journal-Nr.: 4079

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

(Die Arbeit wurde ausgeführt am Universitätsklinikum Hamburg, Universitäres Herzzentrum, Klinik- und Poliklinik für Herz- und Gefäßchirurgie, Direktor: Prof. Dr. Dr. med. Hermann Reichenspurner und an der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Labor für Zell- und Molekularbiologie, Direktor: Prof. Dr. med. Stefan W. Schneider)

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Salah Amasheh
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Johanna Brandner
Dritter Gutachter: PD Dr. Florian Wagner

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

pigs; animal models; lungs; transplantation; tight junction proteins (MeSH);
connexins (MeSH); claudines (MeSH); occludin (MeSH); immunofluorescence

Tag der Promotion: 29.06.2020

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-056-1

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2020

Dissertation, Freie Universität Berlin
D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2020

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	- 3 -
Einleitung	- 7 -
Klinische Versuche.....	- 8 -
Narkose.....	- 9 -
Schädigungsmodelle / Systemeinfluss	- 9 -
Spenderoperation.....	- 10 -
Konservierung	- 10 -
Explantation.....	- 11 -
Versuchsgruppenübersicht	- 14 -
Systeme	- 15 -
Rekonditionierung	- 17 -
Probennahme	- 19 -
Bewertung	- 19 -
Auswertung	- 22 -
Literaturteil.....	- 26 -
Lunge.....	- 26 -
Zellverbindungen	- 28 -
Tight-Junctions.....	- 29 -
Adhärenz-Verbindungen	- 37 -
Gap-Junctions.....	- 39 -
Fragestellung	- 41 -
Material und Methoden	- 42 -
Material	- 42 -
Verwendete Lösungen und Puffer für die Fluoreszenzmikroskopie	- 42 -
Verwendete Chemikalien und Reagenzien mit ihren Quellen.....	- 44 -
Methoden.....	- 45 -
Immunhistologische Untersuchung	- 45 -
Ergebnisse	- 53 -
Claudin-3	- 53 -
Claudin-4.....	- 57 -
Claudin-5.....	- 60 -
Occludin	- 63 -

ZO-1	- 67 -
E-Cadherin	- 70 -
β -Catenin	- 73 -
Cx43	- 77 -
Diskussion	- 81 -
Claudin-3	- 81 -
Claudin-4	- 83 -
Claudin-5	- 83 -
Occludin	- 85 -
ZO-1	- 87 -
E-Cadherin	- 88 -
β -Catenin	- 88 -
Cx43	- 89 -
Gesamtübersicht Vergleich der Gruppen mit Prae	- 89 -
Zusammenfassung	- 92 -
Summary	- 94 -
Abbildungsverzeichnis	- 96 -
Tabellenverzeichnis	- 99 -
Literaturverzeichnis	- 104 -
Anhang Ergebnisse	- 121 -
Claudin-3	- 121 -
Claudin-3 Atemwegsepithel	- 121 -
Claudin-3 Endothel	- 123 -
Claudin-3 Alveolarsepten	- 124 -
Claudin-4	- 126 -
Claudin-4 Atemwegsepithel	- 126 -
Claudin-4 Endothel	- 126 -
Claudin-4 Alveolarsepten	- 126 -
Claudin-5	- 127 -
Claudin-5 Atemwegsepithel	- 127 -
Claudin-5 Endothel	- 129 -
Claudin-5 Alveolarsepten	- 131 -
ZO-1	- 133 -
ZO-1 Atemwegsepithel	- 133 -

ZO-1 Endothel.....	- 133 -
ZO-1 Alveolarsepten	- 134 -
Occludin	- 135 -
Occludin Atemwegsepithel	- 135 -
Occludin Endothel.....	- 136 -
Occludin Alveolarsepten	- 138 -
E-Cadherin	- 140 -
E-Cadherin Atemwegsepithel.....	- 140 -
E-Cadherin Endothel	- 141 -
E-Cadherin Alveolarsepten	- 141 -
β -Catenin	- 143 -
β -Catenin Atemwegsepithel	- 143 -
β -Catenin Endothel.....	- 145 -
β -Catenin Alveolarsepten	- 147 -
Cx43	- 149 -
Cx43 Atemwegsepithel	- 149 -
Cx43 Endothel.....	- 149 -
Cx43 Alveolarsepten	- 151 -
Anhang Abdruckgenehmigung.....	- 153 -
Danksagung.....	- 154 -
Selbstständigkeitserklärung.....	- 155 -

Einleitung

Bei einigen Lungenerkrankungen kann eine Lungentransplantation nötig werden, wenn die Behandlung mit Medikamenten und anderen Therapiemethoden, wie dauerhafte Sauerstofftherapie, nicht mehr ausreichen. Lange Zeit war bei terminalen Lungenerkrankungen keine weitere Therapie möglich. Im Jahr 1963 wurde erstmals eine menschliche Lunge von James Hardy und seinen Mitarbeitern transplantiert (Hardy et al. 1963). Der Patient überlebte 18 Tage. In den folgenden Jahren wurden weitere Versuche unternommen, doch erst 1981 überlebte ein Patient die Lungentransplantation mehrere Jahre (Reitz et al. 1982; zur Übersicht siehe Woo 2008). Bei diesem Patienten wurde von Bruce Reitz und Norman Shumway eine kombinierte Herz-Lungentransplantation durchgeführt. Die ersten erfolgreichen Einzellungentransplantationen, mit 14 bzw. 26 Monaten Überlebenszeit, wurden 1986 von Joel Cooper und seinen Mitarbeitern in Toronto durchgeführt (Toronto Lung Transplant Group 1986; als Übersicht siehe Orens et al. 2009). Im Laufe der Zeit ist die Lungentransplantation zu einer erfolgreichen Therapie für Patienten mit Lungenerkrankungen im Endstadium geworden (de Perrot et al. 2004). Wenn die geschätzte Lebenserwartung weniger als ein bis zwei Jahre beträgt und die Lebensqualität deutlich verschlechtert ist, wird je nach Fall eine Einzellungen-, Doppellungen- oder Herz-Lungen Transplantation in Erwägung gezogen (Garg et al. 1996). Die Erkrankungen, die zu solchen Maßnahmen führen, sind zumeist chronisch obstruktive Lungenerkrankungen und andere Formen des Lungenemphysems, idiopathische Lungenfibrose, zystische Fibrose (Mukoviszidose) und pulmonale Hypertonie (Benett et al. 2000, Lynch et al. 2006, DeMeo et al. 2001).

Ein großes Problem besteht darin, dass der Bedarf an Spenderlungen zu hoch ist im Vergleich zu den für eine Transplantation geeigneten Organen. Im Jahr 2007 waren 849 Patienten auf der Warteliste von Eurotransplant für eine Lungentransplantation verzeichnet. Bei 501 von diesen Patienten wurde 2007 eine Transplantation durchgeführt. 124 Patienten starben während der Wartezeit (van Raemdonck et al. 2009). Die meisten der gespendeten Lungen weisen Schädigungen auf, die dazu führen, dass sie für eine Transplantation abgelehnt werden müssen. Bei Eurotransplant International Foundation konnten 2007 nur 503 der 2139 gespendeten Lungen für eine Transplantation verwendet werden. Nach einer Analyse der California Transplant Donor Network müssen 85 % der Lungen aus verschiedenen Gründen abgelehnt werden (van Raemdonck et al. 2009). Diese Schäden treten meist durch den Hirntod, Beatmungstrauma durch längere Beatmung oder Aspiration von Mageninhalt des Spenders auf (DeMeo et al. 2001, van Raemdonck et al. 2009). Die Lungen weisen häufig Ödeme, Atelektasen, eingewanderte inflammatorische Zellen, bzw. Pneumonien auf. Dadurch sind nur etwa 23 % der gespendeten Lungen für eine Transplantation geeignet (van Raemdonck et al. 2009).

Eine der Strategien, dieses Missverhältnis zu verbessern, wird in dem Projekt zur Optimierung eines Reperfusionmodells zur Erweiterung des Organspenderpools bei Lungentransplantationen am Universitätskrankenhaus Eppendorf in Hamburg verfolgt. Es wird untersucht, ob Lungen, die für eine Transplantation normalerweise aufgrund von Vorschädigungen abgelehnt werden, durch Behandlung in einem in-vitro Reperfusionmodell verbessert, bzw. sogar wieder transplantationsfähig werden können. Aufgrund der ähnlichen Anatomie und Physiologie wurde in dem Projekt das Schwein als Modelltier gewählt. In einer Pilotstudie wurde ein ex-vivo Rekonditionierungssystem für die explantierten Lungen erarbeitet. Bei allen Versuchsgruppen des Projekts wurden die Schweine narkotisiert und beatmet, sowie hämodynamische Daten und arterielle Blutgasanalysen gewonnen. Die Lungen wurden nach entsprechender Vorbereitung explantiert. In den verschiedenen Gruppen wurden bestimmte Parameter verändert. Es wurde die Art des Rekonditionierungssystems verändert, bei einigen Gruppen eine Schädigung durch Aspiration vorgenommen, einige Gruppen wurden rekonditioniert, die Rekonditionierungslösung verändert, Intensivmedizinische Maßnahmen durchgeführt und zusätzlich ATG (Antithymozytenglobulin) zugegeben.

Klinische Versuche

Bei den klinischen Versuchen am Schweinmodell musste zunächst ein System entwickelt werden, mit dem genug Zeit für eine Behandlung der geschädigten Lungen gewonnen werden konnte. Mindestens sechs Stunden Reperfusionsdauer war das dafür nötige, angestrebte Ziel. Dieses ex-vivo Rekonditionierungssystem wurde in der Pilotstudie schrittweise erarbeitet. Es entstanden dabei ein Protokoll für die Rekonditionierung und ein möglichst optimaler Reperfusionskreislauf, in dem die Schädigung der Lungen durch die Maschinenperfusion möglichst gering ist. (Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2007; 26, (suppl): S111, Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2008; 27, (suppl.): S201).

Die klinischen Versuche wurden am narkotisierten und endotracheal intubierten Schwein durchgeführt. Das Hausschwein (*Sus scrofa domestica*) wurde aufgrund der ähnlichen Anatomie und Physiologie zum Menschen als Modelltier gewählt. Es wurden männliche und weibliche Tiere mit einem durchschnittlichen Gewicht von 65 kg verwendet. Die Tierhaltung und die Tierversuche erfolgten unter Einhaltung des deutschen Tierschutzgesetzes (§ 7 - § 9) vom 29.7.1972 mit letzter Änderung am 9.12.2010. Sie unterlagen der ständigen Kontrolle der zuständigen Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz, Veterinärwesen/

Lebensmittelsicherheit der Stadt Hamburg, wurden durch diese genehmigt und erfüllten die Voraussetzungen nach § 8 TierSchG.

Narkose

Die Narkose begann mit einer Prämedikation von Azaperon (4 mg/kg), Ketaminhydrochlorid (5 mg/kg), Midazolam (0,3 mg/kg) und Atropinsulfat (0,15 mg/kg) intramuskulär. Darauf folgte eine Fixierung in Rückenlage. Im weiteren Verlauf wurde intravenös Pentobarbital 8 mg/kg verabreicht und danach eine Dauertropfinfusion mit Fentanyl (0,01 mg/kg/h) und Midazolam (0,1 mg/kg/h) durchgeführt. Zusätzlich wurden 500 mg Methylprednisolon gegeben. Mit 300 IU/kg Heparin wurde ein Antikoagulanzen verabreicht.

Beatmet wurde nach Tracheotomie und endotrachealer Intubation mit 30 % Sauerstoffzusatz und einer Atemfrequenz von 16 pro Minute. Der mittlere Inspirationsdruck betrug 15 mbar mit einem PEEP von 7 mbar.

Um hämodynamische Daten sowie arterielle Blutgasanalysen zu gewinnen, wurden Katheter und Schleusen in Arteria carotis communis, Vena jugularis und Arteria femoralis eingesetzt. In die Arteria carotis communis wurde eine 6 F Schleuse eingesetzt und in die Vena Jugularis eine 8 F Schleuse mit Swan-Ganz Katheter für Messungen des zentralen Venendruckes (CVP), pulmonalarteriellen Druck (PAP), linksatrialen Druck (LAP) und den pulmonalvaskulären Widerstand (PVR). In die Arteria femoralis kam ein 5 F Katheter mit PiCCO-System (Pulsion Medical Systems, München, Deutschland) für die kontinuierliche Überwachung von Herzzeitvolumen (HZV), des systemischen Gefäßwiderstands (SVR) und des arteriellen Blutdrucks (MAP). Diese wurden an entsprechende Messvorrichtungen angeschlossen.

Schädigungsmodelle / Systemeinfluss

Bei der Gruppe 3 wurde keine Schädigung durchgeführt (Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2008; 27, (suppl.): S201).

Aspiration

Den Aspiratgruppen (5,5,6 und 9) wurden 0,5 ml/kg Magensaft und Blut im Verhältnis 5:1 mit einer Magensonde unter Druck intrabronchial instilliert und zur besseren Verteilung des Aspirats anschließend manuell beatmet. Zusätzlich wurden die Schweine für 30 Minuten in Bauchlage gedreht (Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2009; 28,

(suppl.): S237, Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2011; 30, (suppl.): S39).

Durch diese Lungenschädigungen entstanden Organe, die nach den Kriterien zur Bestimmung der Transplantabilität abgelehnt werden.

Einfluss des Systemaufbaus und der Perfusionslösung

Bei den Gruppen 7, 8 und 88 wurden zwei weitere Aspekte untersucht, der Einfluss des Systemaufbaus und der Perfusionslösung. Es wurde bei diesen Gruppen ein geschlossenes System mit geringerer Fremdoberfläche, atraumatischerer Zellpumpe und reduziertem Blut-Luft-Kontakt anstatt einem offenen System verwendet (Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2010; 29, (suppl.): S79, Wipper et al. Journal of Heart and Lung Transplantation 2010; 29, (suppl.): S96)

Bei Gruppe 8 wurde eine erythrozytenfreie Perfusionslösung verwendet, um die Erythrozyteninteraktionen als Auslöser von Entzündungsmechanismen zu reduzieren. Bei Gruppe 88 wurde zunächst auch erythrozytenfreie Perfusionslösung mit einer Perfusionsdauer von 6 Stunden verwendet. Anschließend wurde Erythrozytenkonzentrat dazu gegeben und es erfolgte eine Reperfusion für weitere 3 Stunden, um die Reaktion bei einer Reperfusion mit Blut zu überprüfen, wie sie nach Transplantation auftritt. Diese Versuchsgruppe diente somit der Simulation einer Transplantation nach Rekonditionierung.

Spenderoperation

Die Lungen wurden über einen Zeitraum von vier Stunden im Spendertier beobachtet, bevor sie nach einer Konservierung mit Perfadex explantiert und für die Rekonditionierung vorbereitet wurden. Es wurde eine mediane Sternotomie vorgenommen. Für die Herstellung von Erythrozytenkonzentraten in einem Cell Saver wurde ein Liter Blut aus der Aorta des Spendertieres entnommen. Zum hämodynamischen Ausgleich wurden Ringerlösung und HAES 6 % infundiert.

Konservierung

Um die Konservierung mit Perfadex (Vitrolife, Schweden) durchführen zu können, wurde die Pulmonalarterie mit einer Aortenkanüle, die durch eine Tabaksbeutelnaht befestigt wurde, kanüliert (Abbildung 1: Kanülierung der Pulmonalarterie für Perfadexkonservierung) und das Perfusionssystem entlüftet. Der Blutzuffluss zum Herz wurde mittels 2-0 Vicrylnaht an Vena

cava superior (cranialis), Vena cava inferior (caudalis) und Vena azygos sinistra unterbunden. Im Weiteren wurde die Aorta mit einer Aortenklemme verschlossen und der Sinus coronarius mit einer Satinskiklemme. Das linke Vorhofohr wurde durch eine Stichinzision eröffnet und an der linken Herzkammer wurde mit Hilfe eines elektrischen Kauters ein Herzflimmern ausgelöst. Die Perfusion wurde gestartet und so lange durchgeführt, bis klare Flüssigkeit zu sehen war. Die Konservierung der Lungen erfolgte mit einer antegraden sowie einer retrograden Perfusion von 40 ml/kg 6°C kalter Perfadexlösung mit Zugabe von 1,6 mg Glyceroltrinitrat und 0,3 ml Trometamol 3 mmol/l (Tris 36,34 %, Braun) pro Liter Perfadex.

Explantation

Im Anschluss daran wurde der Herz-Lungenblock nach Standardtechnik explantiert und Kanülen für die Verbindung mit dem Rekonditionierungssystem eingesetzt. Für die Pulmonalarterie wurde eine 28 F Kanüle verwendet und für den linken Vorhof eine 32 F Kanüle. Die Fixierung der Kanülen für die Pulmonalarterie über den rechten Ventrikel (Zufluss) und die des linken Vorhofs über den linken Ventrikel (Abfluss) geschah mit einer 3-0 Prolene Tabaksbeutelnaht. Koronararterien und Bronchialarterie wurden mit einer 2-0 Vicrylnaht unterbunden, Aortenwurzel und linker Vorhof mit einer 3-0 Prolenenah. Dies sollte den Blutverlust möglichst gering halten und einen geschlossenen Organkreislauf erzeugen. Zusätzlich wurden Messkatheter in der Pulmonalarterie und im linken Vorhof platziert, um kontinuierlich den Druck überwachen zu können (Abbildung 2: Vorbereitung für Verbindung mit Rekonditionierungssystem). Die Lungen wurden währenddessen mit kalter NaCl-Lösung gekühlt.

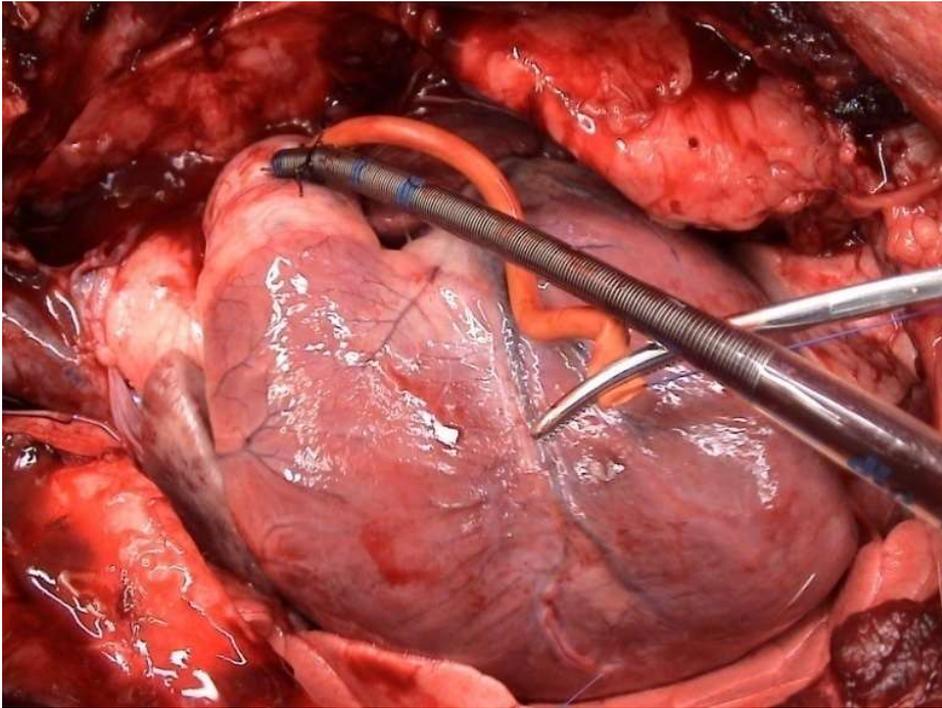


Abbildung 1: Kanülierung der Pulmonalarterie für Perfadexkonservierung

Quelle: Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Wipper, Universitäres Herzzentrum Hamburg Klinik und Poliklinik für Gefäßmedizin

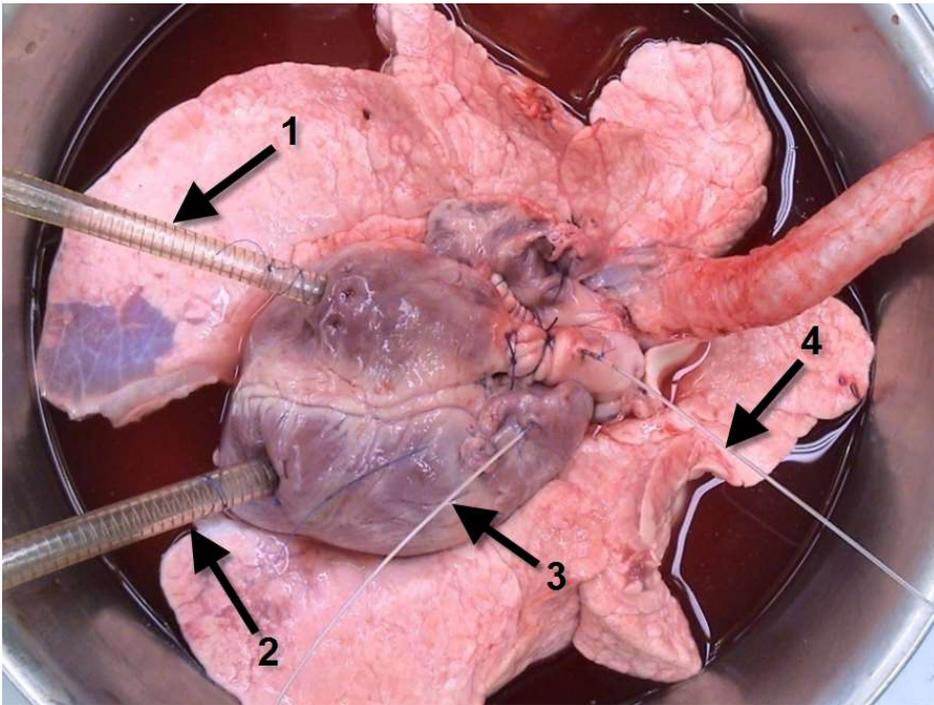


Abbildung 2: Vorbereitung für Verbindung mit Rekonditionierungssystem

- (1) Kanüle vom rechten Ventrikel in die Pulmonalarterie (Einstrom)
- (2) Kanüle durch linken Ventrikel in den linken Vorhof (Abstrom)
- (3) Druckmessung rechter Vorhof
- (4) Druckmessung Pulmonalarterie

Quelle: Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Wipper, Universitäres Herzzentrum Hamburg Klinik und Poliklinik für Gefäßmedizin

Versuchsgruppenübersicht

Gruppe	Anzahl Versuchstiere	Systemart	Aspiration	Rekonditionierung	Rekonditionierungslösung	Intensivmedizinische Maßnahmen	ATG
Prae-Gruppe	7	-	-	-	-	-	-
Gruppe 3	6	offen	nein	ja	Steen-Solution + Erythrozytenkonzentrat	nein	nein
Gruppe 55	5	offen	ja	nein	-	nein	nein
Gruppe 5	6	offen	ja	ja	Steen-Solution + Erythrozytenkonzentrat	nein	nein
Gruppe 6	7	offen	ja	ja	Steen-Solution + Erythrozytenkonzentrat	ja	nein
Gruppe 7	6	geschlossen	nein	ja	Steen-Solution + Erythrozytenkonzentrat	nein	nein
Gruppe 8	8	geschlossen	nein	ja	Steen-Solution	nein	nein
Gruppe 88	6	geschlossen	nein	ja	Steen-Solution (erste 6h) // Steen-Solution + Erythrozytenkonzentrat (letzte 3h)	nein	nein
Gruppe 9	7	offen	ja	ja	Steen-Solution + Erythrozytenkonzentrat	ja	ja

Tabelle 1: Versuchsgruppenübersicht

Systeme

Bei beiden Systemen wurde ein heparinbeschichtetes Schlauchsystem, ein Wärmeaustauscher, ein Leukozytenfilter, ein Deoxigenator mit der Begasung (O₂ 6 %, CO₂ 8 % und N₂ 86 %) und eine Plexiglasbox für die Lagerung des Herz-Lungenblocks verwendet.

Offenes System

Das offene System beinhaltete zusätzlich ein Reservoir und eine Rollerpumpe. Die Gesamtfüllmenge betrug 2000 ml (Abbildung 3: Offenes System mit (1) Leukozytenfilter, (2) Reservoir, (3) Deoxigenator und (4) Rollerpumpe).

Geschlossenes System

Das geschlossene System beinhaltet eine Zentrifugalpumpe, hatte kein Reservoir und die Gesamtfüllmenge betrug 1000 ml (Abbildung 4: Geschlossenes System ohne Reservoir mit (1) Zulaufbeutel für Reservevolumen und (2) Zentrifugalpumpe).

Intensivmedizinische Maßnahmen:

Die intensivmedizinischen Maßnahmen beinhalteten Antibiotikagabe und ACC-Verneblung.

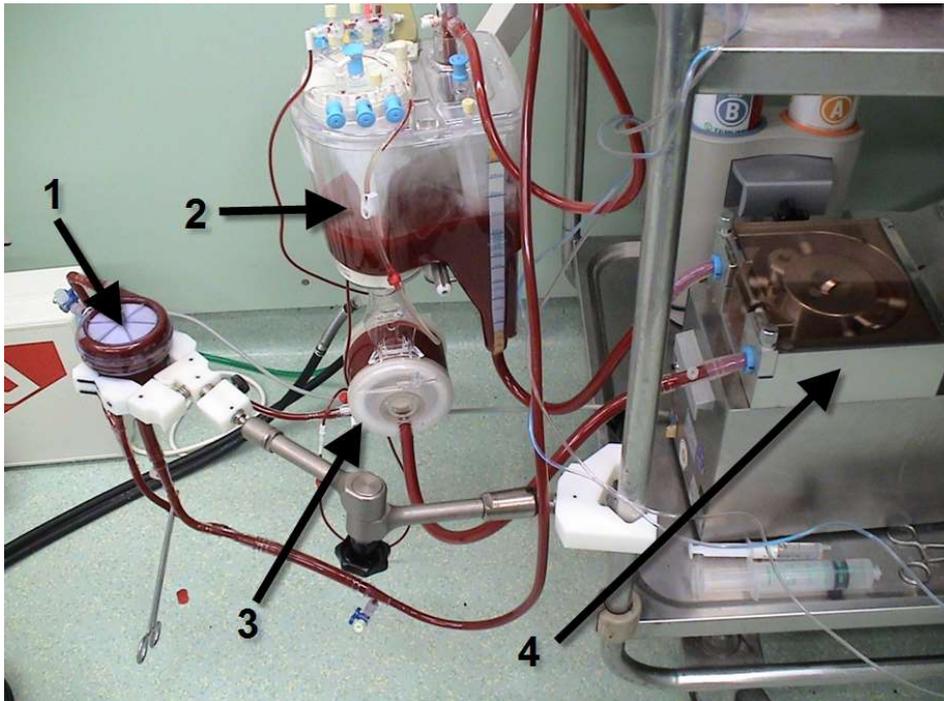


Abbildung 3: Offenes System mit (1) Leukozytenfilter, (2) Reservoir, (3) Deoxigenator und (4) Rollerpumpe

Quelle: Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Wipper, Universitäres Herzzentrum Hamburg Klinik und Poliklinik für Gefäßmedizin



Abbildung 4: Geschlossenes System ohne Reservoir mit (1) Zulaufbeutel für Reservevolumen und (2) Zentrifugalpumpe

Quelle: Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Wipper, Universitäres Herzzentrum Hamburg Klinik und Poliklinik für Gefäßmedizin

Rekonditionierung

Für die Rekonditionierung wurde der explantierte Herz-Lungenblock in eine sterilisierbare Plexiglasbox (Vitrolife; Goeteborg, Schweden; Abbildung 5: Plexiglasbox mit kanülierter und beatmeter Lunge zur Rekonditionierung (1) Zulaufkanüle, (2) Ablaufkanüle und (3) Tubus) verbracht und an den Reperfusionskreislauf angeschlossen. Dies wurde in allen Gruppen durchgeführt, bis auf Gruppe 55, da in den Aspirations-Vorversuchen nicht rekonditioniert wurde. Die Zusammensetzung des „Standard“ Reperfusionskreislaufs bestand aus einem offenen System mit Reservoir (Gruppen 3, 55, 5, 6 und 9) einer Rollerpumpe (Stöckert, München, Deutschland), einem heparinbeschichteten Schlauchsystem und einem Wärmeaustauscher. Die Gesamtfüllmenge betrug 2000 ml. Bei den Gruppen 7, 8 und 88 wurde ein geschlossenes System verwendet. Hierbei wurde anstatt der Rollerpumpe eine Zentrifugalpumpe eingesetzt, es gab kein Reservoir und die Gesamtfüllmenge wurde auf 1000 ml reduziert. Die Begasung des darin enthaltenen Deoxigenators (Capiiox SX, Terumo) erfolgte mit 6 % O₂, 8 % CO₂ und 86 % N₂. Bei allen Gruppen wurde ein Leukozytenfilter (Leuko-Gard 6, Pall, Portsmouth, England) zur Reduzierung der zirkulierenden

Entzündungszellen integriert. Als Rekonditionierungslösung wurde Steen Solution, eine stark albuminhaltige Lösung, zusammen mit Erythrozytenkonzentraten, im Verhältnis 2:1 verwendet. In Gruppe 8 wurde als Rekonditionierungslösung nur Steen Solution verwendet. Bei Gruppe 88 wurde zu der Steen Solution in den anschließenden 3 Stunden der Rekonditionierung Erythrozytenkonzentrat zugegeben. Durch den hohen kolloidosmotischen Druck der Steen Solution sollte es zu einer Ödemprophylaxe kommen und die Erythrozytenkonzentrate enthalten weniger zirkulierende inflammatorische Zellen als Vollblut. Alle Gruppen erhielten ex vivo zweimal Cortison sowie eine NO-Inhalation bei Beginn der Rekonditionierung und nach drei Stunden. Bei Gruppe 5 fand nach der Aspiration die Rekonditionierung ohne weitere intensivmedizinische Maßnahmen statt. Gruppe 6 wurde zusätzlich zu Cortison und NO-Inhalation mit Antibiotika (einmal in vivo und einmal während der Rekonditionierung) und ACC-Vernebelung (ex vivo, zwei Stunden nach Beginn der Rekonditionierung) intensivmedizinisch versorgt. Bei Gruppe 9 wurde zusätzlich Antithymozytenglobulin (ATG) verwendet. Dies wurde in vivo, bei der Perfusion und ex vivo bei der Rekonditionierung verabreicht.

Die Rekonditionierung erfolgte nach einem in Vorversuchen erprobten Protokoll. Bei 21°C mit einem Fluss von 0,1 l/min. wurde die Reperfusion gestartet. Um schädliche Metabolite zu entfernen, wurden die ersten 150 ml der Perfusionslösung nach Durchlaufen der Lunge verworfen. In einem Zeitraum von 30 Minuten wurde die Temperatur auf 37°C gesteigert (alle 2 Minuten um 1°C) und die Durchflussgeschwindigkeit auf 1,5 l/min. Die druckkontrollierte Beatmung wurde bereits bei 32°C und 15 mbar mit einem PEEP von 7 mbar und einer Frequenz von 16/min. eingeleitet. Zu bestimmten festgelegten Messzeitpunkten wurden u. a. Blutgasproben aus der Pulmonalarterie (pulmonaler Zustrom) und dem linken Vorhof (Abstrom) entnommen.

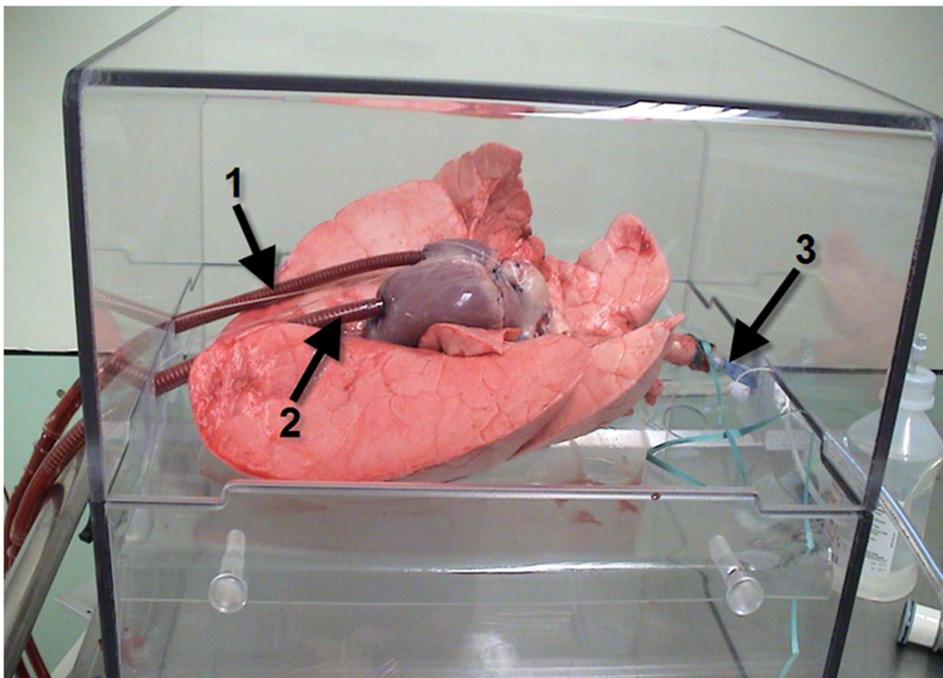


Abbildung 5: Plexiglasbox mit kanülierter und beatmeter Lunge zur Reconditionierung (1) Zulaufkanüle, (2) Ablaufkanüle und (3) Tubus

Quelle: Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Wipper, Universitäres Herzzentrum Hamburg Klinik und Poliklinik für Gefäßmedizin

Probennahme

Bei der anschließenden Probennahme wurden Proben aus jedem der sechs Lungenlappen genommen. Für die immunhistologischen Untersuchungen wurden die Proben aus dem linken Mittellappen (Lobus cranialis sinister pars caudalis) und rechten Mittellappen (Lobus medius) verwendet. Die Proben wurden für die histologischen und immunhistologischen Untersuchungen in 4 %iger Formalinlösung aufbewahrt. Für die Bestimmung des Naß-/Trockengewichtes (wet/dry-ratio) wurden die Proben unmittelbar nach Entnahme und nach 72 stündiger Trocknung bei 60°C gewogen. Dieses Verfahren dient der Bestimmung des Ödemgehalts. Die in Formalin fixierten Lungenproben wurden in Paraffin eingebettet und für die histologischen Untersuchungen mit Hämatoxylin-Eosin (HE) in Standardtechnik gefärbt.

Bewertung

Mithilfe eines modifizierten „Lung Injury Scores“ (LIS) in Anlehnung an das Modell von Rotta 1999, wurden die histologischen Schnitte ausgewertet. Es wurden jeweils 10 Felder pro Lungenlappen auf Atelektasen, Ödemansammlung, Emphysem, alveoläre und interstitielle

Infiltration mit Entzündungszellen und der Diameter der Alveolarwände bei 100-facher und 400-facher Vergrößerung im Lichtmikroskop untersucht (Tabelle 2: Bewertungsschema Histologie für LIS). Für jede Variable wurde das Ausmaß der Schädigung festgestellt. Je höher der Score (1 bis 5), desto mehr betroffene Fläche pro Gesichtsfeld (Tabelle 3: LIS – Bewertungsskala).

100er Vergrößerung	400er Vergrößerung
Atalektasen	Alveoläre Infiltration
Ödem	Interstitielle Infiltration
Emphysem	Zellwanddicke

Tabelle 2: Bewertungsschema Histologie für LIS

Grad	Ausmaß der Schädigung
1	Keine Schädigung
2	Schädigung < 25 % pro Gesichtsfeld
3	Schädigung < 50 % pro Gesichtsfeld
4	Schädigung < 75 % pro Gesichtsfeld
5	Schädigung > 75 % pro Gesichtsfeld

Tabelle 3: LIS – Bewertungsskala

Zur Berechnung der Oxygenierungskapazität wurde der POK (Pulmonale Oxygenierungskapazität in der Einheit mmHg) herangezogen, um die Sauerstoffaufnahme der Lunge darstellen zu können. Er wurde berechnet aus links atrialem ($LAPO_2/FiO_2$) und pulmonal arteriellem ($PAPo_2/FiO_2$) Oxigenationsindex.

$$POK = \frac{LAPO_2 - PAPo_2}{FiO_2}$$

$LAPO_2$ links atrialer Sauerstoffpartialdruck in mmHg

$PAPo_2$ pulmonalarterieller Sauerstoffpartialdruck in mmHg

FiO_2 inspiratorische Sauerstofffraktion in % (30 %)

Durch kontinuierliche Messungen von pulmonalarteriellem Druck (PAP = pulmonary arterial pressure), links atrialem Druck (LAP = left atrial pressure) und Herz-Zeit-Volumen (CO = cardiac output) konnte der pulmonalvaskuläre Widerstand (PVR = pulmonary vascular resistance) mit der Formel

$$PVR = 80 \times \frac{PAP - LAP}{CO}$$

PAP Druck in der Arteria pulmonalis in mmHg (pulmonary arterial pressure)

LAP Druck im linken Atrium in mmHg (left atrial pressure)

CO Herzzeitvolumen in l/min (cardiac output)

berechnet werden. Um den PVR in der Einheit $\text{dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$ darstellen zu können, wurde der Faktor 80 in die Formel eingesetzt.

Die pulmonale Compliance (in der Einheit ml/mbar), welche ein Maß für die Elastizität der Lunge ist, konnte mit

$$Compliance = \frac{V_T}{PIP - PEEP}$$

V_T Tidalvolumen in ml (tidal volume)

PIP Maximaler Druck während Inspiration in mbar (Peak inspiratory pressure)

PEEP Positiver Endexpiratorischer Druck in mbar (Positive End Expiratory Pressure)

berechnet werden.

Nach sechs Stunden Rekonditionierung wurde der Versuch beendet, falls nicht vorher ein irreversibles Lungenödem durch Kapillarleck einen Versuchsabbruch nötig machte (PDI = 5). Der „Pulmonary Deflation Index“ (PDI) wurde zur Beurteilung des makroskopischen Gesamtzustandes der Lunge, bzw. des Ausmaßes des Lungenödems und des Grades der Kollabierung der Lunge während der Diskonnektierung vom Beatmungsgerät herangezogen (Tabelle 4: Bewertungsschema PDI). Grad 5 entsprach einer irreversiblen Schädigung und war somit ein Abbruchkriterium. Mithilfe der Kriterien Oxygenierungskapazität (POK), Compliance, Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR) und PDI wurde die Transplantabilität ermittelt.

Grad	Ödem	Kollabierung
1	kein	vollständig
2	interstitiell 1 Lappen	vollständig
3	interstitiell mehrere Lappen	vollständig
4	intraalveolär	inkomplett
5	Regurgitationen durch die Trachea	keine

Tabelle 4: Bewertungsschema PDI

Auswertung

Die bei diesem Projekt bereits durch Wipper et al. ermittelten klinisch funktionellen (Compliance, POK und PVR) und histologischen Daten (LIS) zu den Gruppen sind im Folgenden in Graphen zusammengefasst.

Compliance

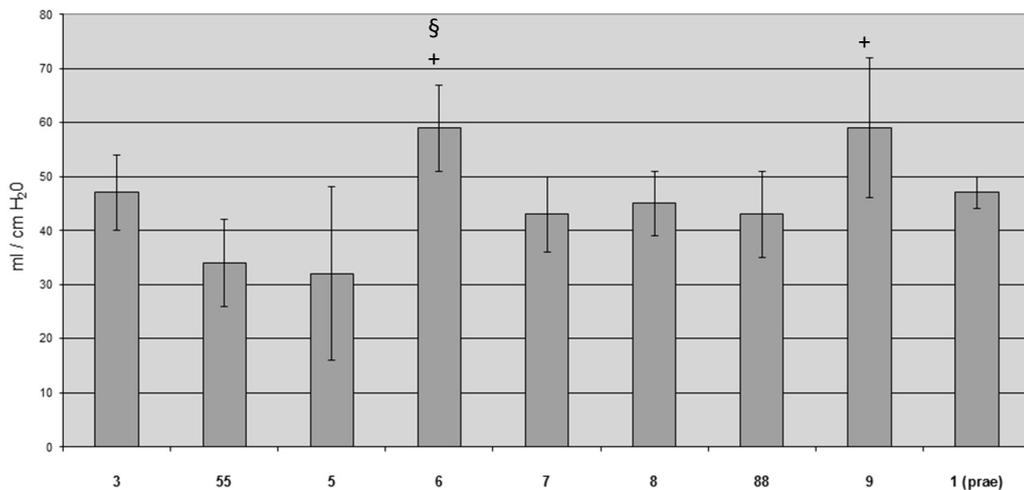


Abbildung 6: Compliance. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen an. Signifikante Unterschiede der Gruppe 5 im Vergleich mit den Gruppen 6 und 9 = +. Signifikante Unterschiede der Gruppe 3 im Vergleich mit den Gruppen 5 und 6 = §.

POK

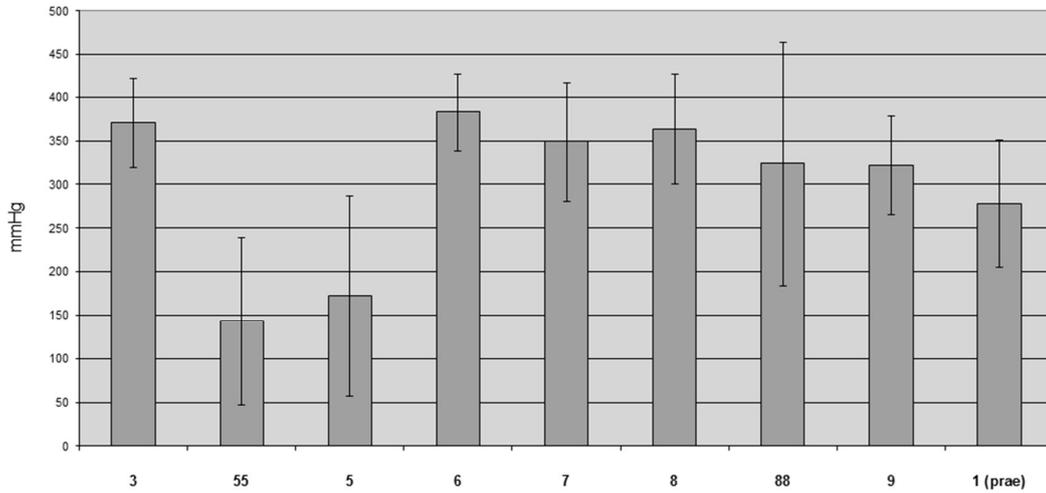


Abbildung 7: POK. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen an

PVR

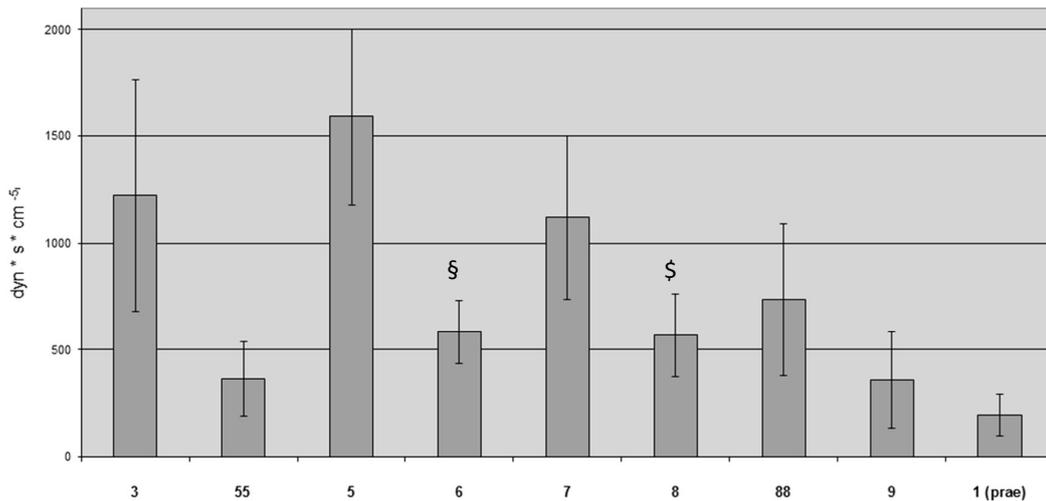


Abbildung 8: PVR. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen an. Signifikante Unterschiede der Gruppe 3 im Vergleich mit den Gruppen 5 und 6 = §. Signifikante Unterschiede der Gruppe 7 im Vergleich mit der Gruppe 8 = §.

LIS

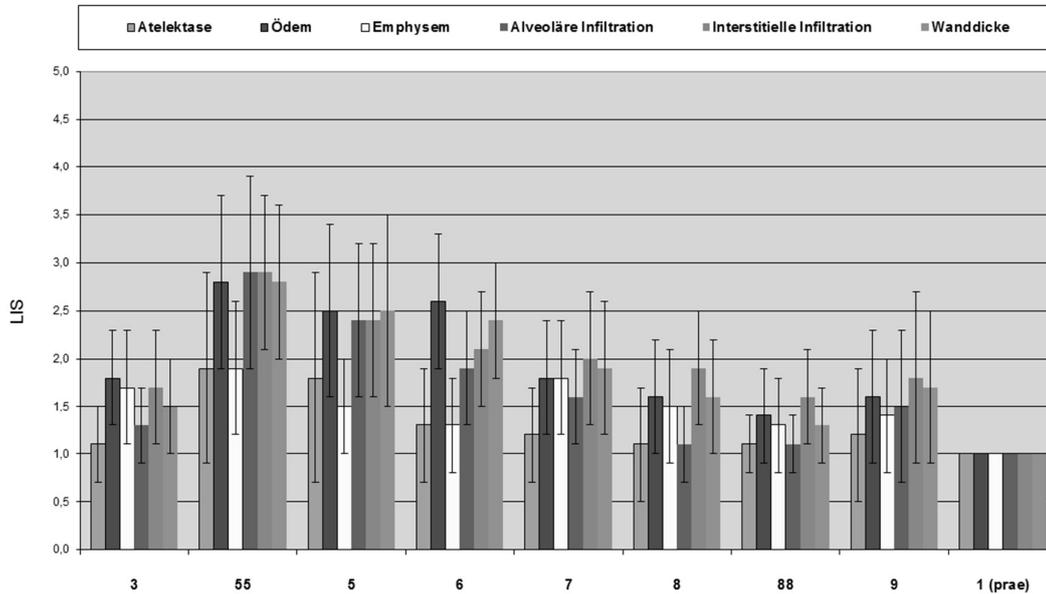


Abbildung 9: LIS. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen an

Anmerkung zu LIS: Die LIS Werte der Prae-Gruppe (Gruppe 1) wurden nicht ermittelt, sondern als Grad 1 angenommen. Grad 1 entspricht keiner Schädigung (siehe Tabelle 3: LIS – Bewertungsskala). Da in der Prae-Gruppe gesunde Lungen verwendet wurden, die durch die Beatmung etwas geschädigt sein können, ist allerdings davon auszugehen, dass die LIS Werte der Prae-Gruppe nur bei annähernd 1 liegen.

Bei meiner Arbeit geht es darum, auf molekularer Ebene Erkenntnisse über die Schädigung bzw. Erholungsfähigkeit der Tight-Junctions, Adhärenz-Verbindungen sowie von Gap-Junctions der in dem Projekt verwendeten Schweinelungen zu gewinnen. Es wird vermutet, dass diese eine wichtige Rolle für die funktionelle Erholungsfähigkeit und Funktionalität der Lunge spielen (Boitano et al. 2004; Als Übersicht siehe: Soini et al. 2011, Johnson et al. 2009). Hierfür werden einige Proteine dieser Zell-Zell-Verbindungen mittels Immunhistologie nachgewiesen. Die Auswertung dieser markierten Lungenpräparate erfolgt am Immunfluoreszenzmikroskop. Dadurch sollen Erkenntnisse gewonnen werden, inwieweit die Anwesenheit einiger, im Literaturteil genauer beschriebener, Proteine in Tight-Junctions, Adhärenz-Verbindungen und Gap-Junctions durch die experimentellen Einflüsse der Lungen beeinflusst wird. Es handelt sich bei den Proteinen um die Tight-Junction Proteine Claudin-3, Claudin-4 und Claudin-5, Occludin und ZO-1, die Adhärenz-Verbindungsproteine β -Catenin und E-Cadherin sowie das Gap-Junction Protein Cx43. Es wird die Intensität der

fluoreszenzmarkierten Proteine in Endothel, Alveolarepten und Atemwegsepithel der in den funktionell physiologischen Versuchen des Projekts verwendeten Schweinelungen bewertet und mit den Ergebnissen der gesunden Lungen verglichen. Ziel ist es, festzustellen, ob eine Korrelation zwischen den Ergebnissen auf molekularer Ebene und den gewonnenen funktionell physiologischen Ergebnissen/Histologie besteht. Dabei wird überprüft, ob sich die Proteine der Tight-Junction, Adhärenz-Verbindungen und Gap-Junctions bei guten bzw. schlechten funktionell physiologischen Ergebnissen auch mehr oder weniger dem Zustand einer gesunden Lunge (Prae-Gruppe) annähern. Das Vorkommen und die Funktionen der Proteine in Tight-Junctions, Adhärenz-Verbindungen und Gap-Junctions ist auch bei gesunden Lungen noch nicht vollständig geklärt. Es ist aber bereits bekannt, dass sie unter anderem für den Aufbau, als Barriere, der Regulation und der Interaktion dienen. Durch diese Arbeit erhofft man sich, die Ergebnisse der funktionell physiologischen Versuche/Histologie des Projekts auch auf molekularer Ebene bestätigen zu können und weitere Erkenntnisse zu den Tight-Junction-, Gap-Junction- und Adhärenz-Verbindungs-Proteinen zu gewinnen.

Literaturteil

Lunge

Die Lunge besteht aus einem rechten und einem linken Teil (Pulmo dextra und Pulmo sinistra). Sie stehen über die Bifurcatio tracheae in Verbindung. Das Lungengewebe besteht aus dem Lungenparenchym und dem Interstitialgewebe. Das Lungenparenchym dient dem Gasaustausch und besteht aus den alveolenträgenden Bronchiolen und deren Aufzweigungen bis hin zu den Alveolen. Das interstitielle Gewebe setzt sich aus elastischem und kollagenfaserigem Bindegewebe, gemischten Drüsen, glatter Muskulatur, vegetativen Nervenfasern, Blut- und Lymphgefäßen sowie den Verästelungen des Bronchialbaums zusammen. Für die Benennung der Lungenlappen werden die Aufzweigungen des Bronchialbaums als Grundlage herangezogen. Beim Schwein besteht die Lunge auf der linken Seite aus dem Lobus cranialis sinister (Pars cranialis und Pars caudalis) und dem Lobus caudalis sinister. Auf der rechten Seite befinden sich der Lobus cranialis dexter, Lobus medius, Lobus caudalis dexter und Lobus accessorius (siehe Abbildung 10: Schematische Darstellung der Gliederung der Lungenlappen (Ghetie, 1958 aus Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich)). Der Bronchialbaum setzt sich aus dem luftleitenden Bronchialsystem und dem respiratorischen System zusammen. Die Trachea gabelt sich an ihrem Ende zur Bifurcatio tracheae auf. Wie auch bei den Wiederkäuern zweigt beim Schwein vorher noch rechtsseitig der Bronchus trachealis von der Trachea ab. Das luftleitende Bronchialsystem setzt sich mit den Hauptbronchien (Bronchi principales), Lappenbronchien (Bronchi lobares), Segmentbronchien (Bronchi segmentales), Subsegmentbronchien (Bronchi subsegmentales), Bronchioli veri und Bronchioli terminales weiter fort. Daran schließt sich das respiratorische System bestehend aus Bronchioli respiratorii (beim Schwein nur selten), Ductus alveolares, Sacculi alveolares und die Alveolen (Alveoli pulmonis) an (siehe Abbildung 11: Schematische Darstellung der Gliederung des Bronchialbaums (Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich)). Die Alveolen werden von einschichtigem Plattenepithel (Pneumozyten Typ 1 und 2) ausgekleidet, unterlagert von einer Basalmembran. Sie werden von einem dichten Kapillarnetz umgeben und dienen dem Gasaustausch. Es kommt stellenweise zu Verschmelzungen der Basalmembranen von Alveolen und Kapillaren, sie bilden die Blut-Luft-Schanke (Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich).

Da es vor allem bei den Aspirationsversuchen zu einer inhomogenen Verteilung und somit Schädigung kommen kann, wurden möglichst mittig Proben der Lungen entnommen. Beim Schwein ist es auf der rechten Seite der Lobus medius, der im Weiteren als RML bezeichnet

wird und auf der linken Seite der Pars caudalis des Lobus cranialis sinister, im Weiteren als LML bezeichnet.

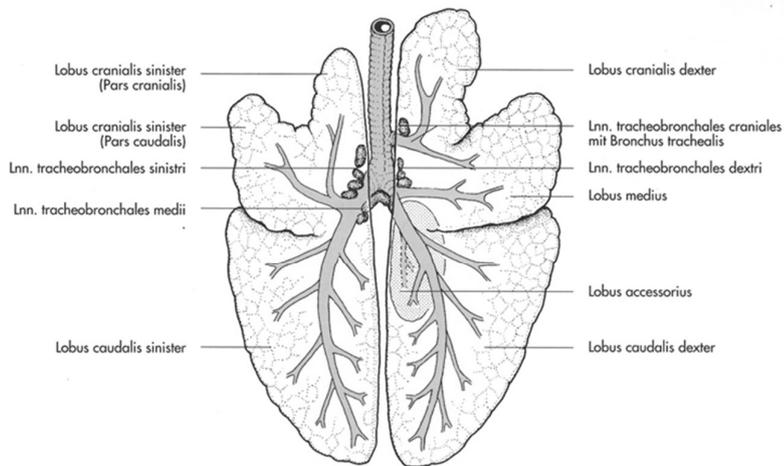


Abb. 8-27. Schematische Darstellung der Gliederung der Lungenlappen und des Bronchialbaums sowie der Lymphknoten des Schweines (Dorsalansicht), Ghetie, 1958.

Abbildung 10: Schematische Darstellung der Gliederung der Lungenlappen (Ghetie, 1958 aus Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich)

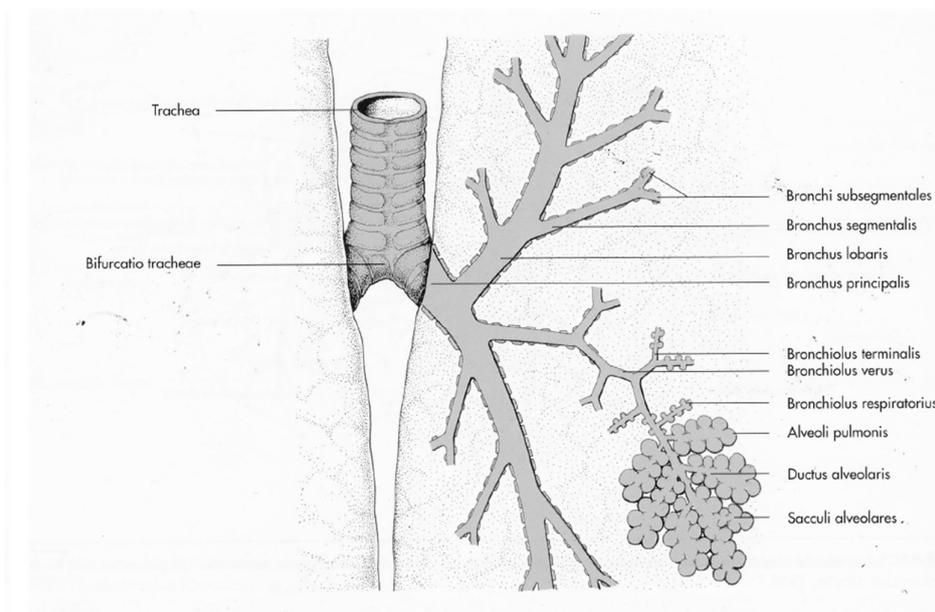


Abb. 8-30. Schematische Darstellung der Gliederung des Bronchialbaums.

Abbildung 11: Schematische Darstellung der Gliederung des Bronchialbaums (Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich)

Als Atemwegsepithel, siehe auch Abbildung 12: Lunge eines Kalbs mit Beschriftung (Modifiziert nach: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere 4. Auflage von Liebich), wird in dieser Arbeit das mehrreihige hochprismatische, weiter distal zum mehrreihig isoprismatischen, bzw. einschichtig isoprismatisch werdenden Flimmerepithel der Bronchioli und teilweise noch Bronchi bezeichnet (Junqueira et al. 2005; Liebich 2004).

Als Endothel, siehe auch Abbildung 12: Lunge eines Kalbs mit Beschriftung (Modifiziert nach: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere 4. Auflage von Liebich), wird das einschichtige Plattenepithel, das die innere Auskleidung der Lungenarterien und Lungenvenen bildet, bezeichnet (Liebich 2004).

Mit Alveolarsepten (Alveolarepithel), siehe auch Abbildung 12: Lunge eines Kalbs mit Beschriftung (Modifiziert nach: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere 4. Auflage von Liebich), ist das Septum interalveolare, das die gemeinsame Wand zweier Nachbaralveolen bildet, gemeint. Die Alveolen sind mit einschichtigem Plattenepithel (Typ 1 und 2 Pneumozyten) ausgekleidet (Liebich 2004).

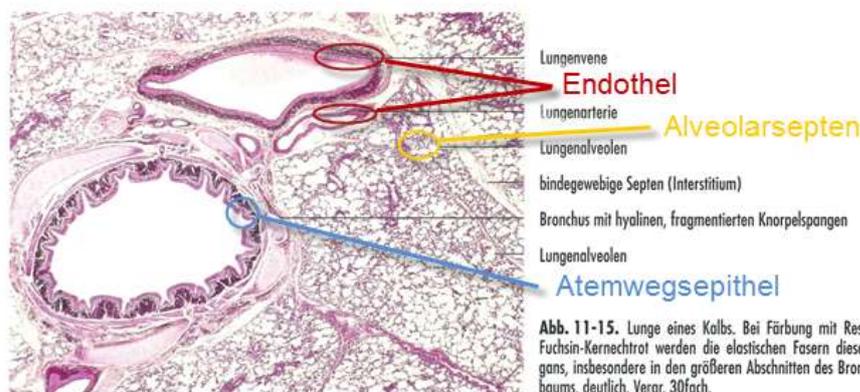


Abbildung 12: Lunge eines Kalbs mit Beschriftung (Modifiziert nach: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere 4. Auflage von Liebich)

Zellverbindungen

Der Zellzusammenhalt wird durch den interzellulären Zellverbindungs-Komplex ermöglicht. Dieser besteht aus Tight-Junctions, Adhärenz-Verbindungen und Desmosomen. Gap-Junctions dienen der Kommunikation zwischen den Zellen.

Tight-Junctions

Tight-Junctions (TJ) sind die am weitesten apikal gelegenen Zell-Zell-Verbindungen, die eine essentielle Rolle bei der Bildung der parazellulären Barriere spielen (als Übersicht siehe Cereijido und Anderson 2001). 1963 haben Farquhar und Palade (Farquhar und Palade 1963) erstmals Tight-Junctions auf einem ultrastrukturellen Level beschrieben. Es konnte der Zellverbindungs-Komplex mit seinen drei Teilen, bestehend aus Tight-Junction, Adhärenz-Verbindung und Desmosomen ebenso dargestellt werden, wie die Gap-Junctions (Farquhar und Palade 1963). Im Weiteren hat man herausgefunden, dass die Tight-Junctions die Zellen gürtelähnlich umrunden (Farquhar und Palade 1963). Sie bilden ein Netzwerk von Strängen, mit Stellen, an denen die benachbarten Zellen verbunden sind (Stachelin 1973). Die Anzahl der Stränge und die Komplexität der Netzwerke unterscheiden sich sehr in den unterschiedlichen Geweben (Stachelin 1973). Die meist verbreitete Meinung ist, dass die Stränge aus Reihen von Transmembran-Proteinen bestehen, die Zell-Zell Kontakte bilden (Gumbiner 1993). Neben diesen Tight-Junction Transmembranproteinen bestehen die Tight-Junctions auch aus assoziierten Plaque-Proteinen. Es ist eine Vielzahl verschiedener Proteine mit Lokalisation an den Tight-Junctions gefunden worden (Gonzales-Mariscal et al. 2003), eine Komplexität, die vermutlich die vielen verschiedenen Rollen der Tight-Junctions widerspiegelt. Sie haben nicht nur als parazelluläre Barriere eine Aufgabe, sondern auch bei der Zellpolarität (Cereijido et al. 1998), bei der Signalübertragung (Gonzales-Mariscal et al. 2008), Regulation der Zellproliferation (Tsukita et al. 2008) und beim Vesikeltransport (Yeaman et al. 2004). Anderson und van Itallie beschrieben 2009 in einer Übersichtsarbeit die Tight- Junctions als Barriere mit zwei Durchtrittsmöglichkeiten. Zum einen gibt es Poren mit einem Radius von 4 Å, die aus ladungsselektiven Claudinen bestehen. Zum anderen soll es größere Diskontinuitäten in der Barriere geben, die keine Ladungs- und Größendiskriminierung aufweisen und auch den Durchtritt von größeren Molekülen erlauben (Knipp et al. 1997 und Watson et al. 2001). Die parazelluläre Permeabilität unterscheidet sich von Epithel zu Epithel und Endothel zu Endothel und kann sich durch physiologische oder pathologische Stimuli ändern (Madara 1988; Bentzel et al. 1991).

Cummins beschreibt in seiner Übersichtsarbeit 2012 die Dysregulation der Tight-Junction Proteine als ein bekanntes pathophysiologisches Kennzeichen vieler Krankheiten, wie Tumoren, Schlaganfall und entzündliche Lungenerkrankungen. Als parazelluläre Barriere übernehmen die Tight-Junctions eine wichtige Rolle zur Aufrechterhaltung der Körperfunktion. Gestiegene epitheliale Permeabilität ist unter anderem eine Folge von Mukosaentzündung, die in gestörter Körperhomeostase und gehemmter Abwehr gegen Pathogene resultiert. Es wird generell angenommen, dass Entzündungsstimuli die transepitheliale Permeabilität steigern, durch Induktion des Abbaus der Zellverbindungen

(Ivanov et al. 2010). Es gibt auch Berichte über Brüche bzw. Dünnen werden des Tight-Junction-Gürtels bei Krankheiten wie Asthma (Godfrey 1997). Die Barriere der Alveolarsepten ist ein kritischer Punkt bei der Aufrechterhaltung der optimalen Lungenfunktion. Ist diese Barriere nach Verletzungen geschwächt, kann es zum Eindringen proteinreicher Flüssigkeit in den luftgefüllten alveolären Raum kommen, welche signifikant zu der Schwere der Lungenverletzung beiträgt (Ware und Matthay 2000). Auch Rokkam et al. 2011 weist darauf hin, dass das Fernhalten von Ödemen vom luftgefüllten Raum eine kritische Funktion der Alveolarseptenbarriere ist, die intakte Tight-Junctions erfordert. Ohta et al. 2012 beschreibt die Dysfunktion der Barriere von Alveolarsepten als kritischen Faktor in der Entwicklung von Lungenverletzungen, deren zugrunde liegenden molekularen Mechanismen aber bisher nur wenig verstanden sind. Crandall und Matthey 2001 bezeichnen die Störung der parazellulären alveolären Permeabilitätsbarriere als eine signifikante pathologische Konsequenz von akuter Lungenverletzung. Selbst bei normaler Endothelpermeabilität ist eine Verletzung der Alveolarsepten ausreichend, um eine pulmonale Ödembildung hervorzurufen (Gorin und Stewart 1979). Die Wiederherstellung der Epithelintegrität ist eine wichtige Determinante der Erholung und des Überlebens der akuten Lungenverletzung (Ware und Matthay 1999).

Xiao et al. 2011 stellten fest, dass krankheitsbedingte Defizite in den Tight-Junctions der Atemwegsepithelien bei Asthma mit reduzierter Tight-Junction Protein Lokalisation in den Zellverbindungs-Komplexen und einem assoziierten Anstieg der Permeabilität des Atemwegsepithels für Ionen und Makromoleküle korrelieren. Auch Ivanov et al. 2010 ist der Meinung, dass gestiegene Permeabilität durch die Atemwegsepithelbarriere mitbeteiligt an der Pathogenese von respiratorischer Entzündung ist. Defekte Atemwegsepithelbarrieren können den Flüssigkeitseintritt in die Lunge forcieren, welcher zu pulmonalen Ödemen führt und zu gehemmter Aktivierung der Atemwegsimmunantwort bei inhalierten Pathogenen und Allergenen.

Der Zusammenhalt der Endothelbarriere wird bei ALI (acute lung injury) und ARDS (acute respiratory distress syndrome) gestört, was zu einem anhaltenden Anstieg der Gefäßpermeabilität, verbunden mit einer signifikanten Sterblichkeit führt (Rubinfeld et al. 2005). Die gestiegene endotheliale Permeabilität ist ein wichtiger pathogener Mechanismus von Lungenödem, welches eine schwere Komplikation von akuter Lungenentzündung und ARDS (acute respiratory distress syndrome) ist und deren Pathologie von hohen Raten an Erkrankungshäufigkeit und Sterblichkeit gekennzeichnet ist (Birukov et al. 2013)

Claudine

Eine wichtige Transmembran-Protein-Familie der Tight-Junctions sind die Claudine. Die ersten Claudine wurden 1998 von Furuse, Tsukita und Mitarbeitern beschrieben. Beim Säugetier sind bislang 27 verschiedene Claudine bekannt (Soini 2011). Angelow et al. 2008 beschreibt in ihrer Übersicht, dass die Claudine 20 bis 27 kDa groß sind und aus vier Transmembrandomänen, zwei extrazellulären Schlaufen, einer intrazellulären Schlaufe und zytoplasmatisch gelegenen Amino- und Carboxyl-Enden bestehen (Angelow et al. 2008). Claudine formen eine selektive Permeabilitätsbarriere, die größen- und ladungsselektive Poren enthält (Tsukita und Furuse 2000, Van Itallie und Anderson 2006). Anderson und van Itallie (2009) beschreiben, dass die meisten Zelltypen mehrere Claudine exprimieren. Es wurde bemerkt, dass die Stärke der Expression und die Zusammensetzung der verschiedenen Claudine Auswirkungen auf elektrischen Widerstand, Ladungs- und Größenselektivität der Tight-Junctions haben. Die Claudine gelten als essentielle Barrierekomponente, da es insbesondere in Abwesenheit von Claudin-1 zu schweren Flüssigkeits- und Elektrolytverlusten kommt (Furuse et al. 2002). Knockout von Claudin-5 führt zwar nicht zu einem generellen Zusammenbruch von Tight-Junctions, aber zu einem selektiven Anstieg der parazellulären Permeabilität von kleinen Molekülen (Matter und Balda 2003). Sie haben die Vermutung, dass die Abwesenheit von Claudin-5 durch Hochregulation der Expression von einem anderen Claudin kompensiert wird. Nitta et al. 2003 haben herausgefunden, dass bei Mäusen, denen Claudin-5 fehlt, die Blut-Hirnschranke durchlässiger für Moleküle bis 800 D wird.

Anderson und van Itallie (2009) fassen zusammen, dass Claudin-1 (Inai et al. 1999; Mc Carthy et al. 2000), Claudin-4 (Van Itallie et al. 2001) und Claudin-5 (Wen et al. 2004; Amasheh et al. 2005) dazu tendieren, durchlässige Tight-Junctions dichter zu machen. Auch Claudin-3 wird als ein abdichtendes Tight-Junction Protein beschrieben (Milatz et al. 2010) Furuse et al. 2001 haben herausgefunden, dass Claudin-2 hingegen den transepithelialen Widerstand (Transepitheliale Resistance, TER) verringert.

La Femina et al. 2010 haben bei ihren Studien vorrangig Claudin-3, Claudin-4 und Claudin-18 in den Alveolarsepten (Alveolarepithel Typ 1 und 2) festgestellt, mit geringer Expression von Claudin-5. Sie sind der Meinung, dass Änderungen der Barrieren-Dichtigkeit nicht notwendigerweise mit Änderungen in der Claudinexpression in den Alveolarsepten assoziiert sind. Wang et al. 2003 haben bei immunhistologischen Untersuchungen von Sektionen erwachsener Rattenlungen festgestellt, dass Claudin-3, Claudin-4 und Claudin-5 in den Alveolarsepten vorkommen. Claudin-5 konnten sie in den Alveolarsepten, mit deutlich stärkerem Expressionsmuster als bei Claudin-3 und 4 finden. Morita et al. (aus Wang et al.

2003) beschreibt 1999 bereits das Vorkommen von Claudin-5 in Endothelzellen. Deutlich schwächer ausgeprägt als die vorgenannten, ist das Vorkommen von Claudin-1 und Claudin-2 in den Alveolarsepten (Wang et al. 2003). Soini et al. 2011 fassen in einer Übersicht zusammen, dass im Atemwegsepithel Claudin-1, Claudin-2, Claudin-3, Claudin-4, Claudin-5 und Claudin-7 auf Proteinebene gefunden wurden, in Alveolar Typ 1 Zellen Claudin-1, Claudin-3, Claudin-4, Claudin-5, Claudin-7, Claudin-8 und Claudin-18 und in Alveolar Typ 2 Zellen Claudin-2, Claudin-3, Claudin-4, Claudin-5 und Claudin-7. Zusätzlich konnte die mRNA von Claudin-1 in Alveolar Typ 2 Zellen nachgewiesen werden und die mRNA von Claudin-8 und Claudin-18 im Atemwegsepithel. Coyne et al. 2003 haben bei ihren Versuchen festgestellt, dass im Atemwegsepithel der Bronchi und Bronchiolen Claudin-1, Claudin-3, Claudin-4, Claudin-5, und Claudin-7 exprimiert wird. Sie haben entgegen vorangegangener Daten herausgefunden, dass es entlang des Bronchialbaumes (Bronchi und Bronchioli) keine Unterschiede im Expressionsmuster der Claudine gibt. Kaarteenaho-Wiik et al. 2009 haben Immunfluoreszenzschnitte von gesunden Lungen mit denen von an Usual-Interstitial-Pneumonie und an Sarkoidose Erkrankten in Bezug auf Claudinvorkommen verglichen. Dabei haben sie festgestellt, dass in gesunden Lungen im Atemwegsepithel u. a. Claudin-1, Claudin-3 und Claudin-4 mittel bis stark exprimiert werden und Claudin-5 schwach. Sie erwähnen auch, dass man üblicherweise davon ausgeht, Claudin-5 nur im Endothel zu finden (Morita et al. 1999). Allerdings ist auch schon bei Paschoud et al. 2007 epitheliale Expression von Claudin-5 in Tumorzellen festgestellt worden. Auch Jang et al. 2011 erwähnen, dass Claudin-5 im Kontrast zu anderen Claudinen in der Lunge im Atemwegsepithel schwach exprimiert wird und im Endothel der normalen Lunge stark. Kaarteenaho-Wiik et al. 2009 haben im Endothel der gesunden Lungen gesehen, dass Claudin-5 stark exprimiert wird und Claudin-1 sehr schwach. Claudin-3 und Claudin-4 haben sie im Endothel der gesunden Lunge nicht gefunden. In den Alveolarsepten werden Claudin-3 und Claudin-4 schwach exprimiert. Claudin-1 und Claudin-5 haben sie in den Alveolarsepten nicht gefunden (Kaarteenaho-Wiik et al. 2009).

		Claudin							
		1	2	3	4	5	7	8	18
Atemwegs- epithel	Soini et al. 2011	X	X	X	X	X	X	X nur als mRNA	X nur als mRNA
	Coyne et al. 2003	X		X	X	X	X		
	Kaarteenaho-Wiik et al.2009	X		X	X	(X)			

Tabelle 5: Tabelle Claudin Atemwegsepithel

		Claudin							
		1	2	3	4	5	7	8	18
Alveolarsepten	Soini et al. 2011	X	X	X	X	X	X	X	X
	La Femina et al. 2010			X	X	(X)			X
	Kaarteenaho-Wiik et al.2009			(X)	(X)				
	Wang et al. 2003	((X))	((X))	(X)	(X)	X			

Tabelle 6: Tabelle Claudin Alveolarsepten

		Claudin							
		1	2	3	4	5	7	8	18
Endothel	Morita et al. 1999					X			
	Kaarteenaho-Wiik et al.2009	(X)				X			

Tabelle 7: Tabelle Claudin Endothel

Verglichen mit den kranken Lungenschnitten konnten Kaarteenaho-Wiik et al. 2009 feststellen, dass bei allen Claudinen die untersucht wurden, ein Anstieg bei metaplastischem Atemwegsepithel vorkam, im unveränderten Atemwegsepithel allerdings wenig Unterschied zwischen gesunder und kranker Lunge vorhanden ist. Bei der Usual-Interstitial-Pneumonia konnte bei Claudin-5 im Endothel eine Intensivitätszunahme beobachtet werden (in den Endothelzellen, die erneuert waren). Änderungen der Claudin-Expression betreffen hauptsächlich regenerative Alveolarzellen oder Zellen, die ersetzt wurden durch metaplastisches Epithel (Soini 2011). Chiba et al. 2008 sind der Ansicht, dass die Expression und/ oder Verbreitung von Claudinen unter vielen pathologischen Bedingungen geändert sind und dass diese Änderungen eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie vieler Krankheiten spielen. Koval 2009 fasst aus Berichten von Fernandez et al. 2007 und Kaarteenaho-Wiik 2009 zusammen, dass Unterschiede in der Claudin-Expression mit dem pathologischen Status der Lunge in Verbindung gebracht werden konnten. Änderungen in der Expression und Lokalisation von Zellverbindungs-assoziierten Proteinen, sowie eine Modulation der Atemwegsbarrierefunktion gibt es laut Coyne et al. 2002 bei der Exposition von primären Atemwegskulturen mit Cytokinen, die auch bei Zystischer Fibrose hochreguliert sind. Wray et al. 2009 haben mit Genexpressionsmikroarrays herausgefunden, dass Claudin-4 Expression in den Alveolarsepten bei Mäusen mit beatmungsinduzierter Lungenverletzung akut hochreguliert wird und vermuten dabei einen Mechanismus, um ein pulmonales Ödem zu minimieren. Claudin-3 Expression hat sich hingegen nicht geändert bei beatmungsbedingter Lungenverletzung (Wray et al. 2009). Rokkam et al. 2011 haben bei ihren Versuchen mit nicht zur Transplantation verwendeten menschlichen Spenderlungen festgestellt, dass die

Claudin-4 Färbung in den Alveolarsepten geringer ist bei Lungen von Spendern mit größerer Beeinträchtigung der Atmungsphysiologie. Sie haben herausgefunden, dass die Claudin-4 Färbung eine positive Korrelation mit der Alveolar-fluid-clearance aufweist. Allerdings ist die Claudin-4 Färbung nicht sehr stark mit histologischen Messwerten von Lungenverletzungen assoziiert. Die Expression von anderen Tight-Junction Proteinen, inklusive ZO-1 ist nicht assoziiert mit der Alveolar-fluid-clearance oder Claudin-4 Levels. Bei Untersuchungen zu pharmakologischen Stoffen und deren Wirkung auf Alveolarsepten (Kultur-Alveolarepithelzellen) haben Wang et al. 2003 herausgefunden, dass bei diesen Zellen die parazelluläre Permeabilität bei Zugabe von Methanandamid (Cannabinoid) ansteigt. Die Expression von Claudin-5 ist dabei um das 12-fache gestiegen und von Claudin-3 um das 2-3 fache. Sie sind der Meinung, dass dies zu der Vermutung passt, Änderungen im Claudin Expressionslevel sind korreliert mit Änderungen der Funktion der Alveolarseptenbarriere.

	Claudin-3 bei Erkrankung / Schädigung		
	Atemwegsepithel	Alveolarsepten	Endothel
Kaartenaho-Wiik et al.2009	↑	↑	
Wang et al. 2003		↑	
Wray et al. 2009		→	

Tabelle 8: Tabelle Claudin-3 bei Erkrankung / Schädigung

	Claudin-4 bei Erkrankung / Schädigung		
	Atemwegsepithel	Alveolarsepten	Endothel
Kaartenaho-Wiik et al.2009	↑	↑	
Wray et al. 2009		↑	
Rokkam et al. 2011		↓	

Tabelle 9: Tabelle Claudin-4 bei Erkrankung / Schädigung

	Claudin-5 bei Erkrankung / Schädigung		
	Atemwegsepithel	Alveolarsepten	Endothel
Kaartenaho-Wiik et al.2009	↑		↑
Wang et al. 2003		↑	

Tabelle 10: Tabelle Claudin-5 bei Erkrankung / Schädigung

Coyne et al. 2003 haben gezeigt, dass Claudin-1 und Claudin-3 die Permeabilität für gelöste Stoffe in menschlichen Atemwegsepithelzellen verringern und Claudin-5 diese steigert. Overgaard et al. 2011 fassen zusammen, dass Claudin-5 eher mit abdichtenden Eigenschaften assoziiert wird, allerdings ein Anstieg der Claudin-5 Expression von Atemwegsepithel und Alveolarsepten in Korrelation mit erniedrigter Barrierefunktion steht. Mitchell und Overgaard et al. 2011 haben u.a. durch TER Messungen festgestellt, dass bei gesteigener Expression von

Claudin-3 die Barrierefunktion der Alveolarsepten sinkt und bei gesteigerter Expression von Claudin-4 die Barrierefunktion steigt.

Occludin

Als erstes Tight-Junction Transmembranprotein wurde 1993 Occludin identifiziert (Furuse et al. 1993). Es gehört zusammen mit Tricellulin und MarvelD3 in die tight-junction-associated Marvel-Protein Familie (TAMP) (Raleigh et al. 2010). Occludin ist wie Claudin ein Transmembranprotein mit vier Transmembrandomänen, zwei extrazellulären Schlaufen, die sich mit denen der gegenüberliegenden Zellmembran verbinden, einer intrazellulären Schlaufe sowie einem zytoplasmatischen N-terminus und einem C-terminus. Es ist 65 kDa groß und seine genaue Funktion ist noch nicht geklärt. Beim Fehlen von Occludin besteht trotzdem eine effektive Barriere (als Übersicht siehe: Schulzke und Fromm 2009). Sowohl bei Occludin Knockdown Zelllinien (Yu et al. 2005) als auch bei Occludin-Knockout-Mäusen (Saitou et al. 2000) konnten keine definierbaren Barrieredefekte festgestellt werden (als Übersicht: Anderson und van Itallie 2009). Allerdings konnten Saitou et al. 2000 histologische Abnormalitäten in verschiedenen Geweben der Knockout-Mäuse, wie Entzündung und Hyperplasie von Magenepithel, Calcifizierung des Gehirns, Hodenatrophie und Verdünnung des kompakten Knochens feststellen. Yu et al. 2005 konnten feststellen, dass mit einer Unterdrückung von Occludin in Madin-Darby canine kidney II Epithelzellen eine Herabregulation von Claudin-1 und Claudin-7 und ein Anstieg von Claudin-3 und Claudin-4 assoziiert ist. Hirase et al. 2001 gehen davon aus, dass Occludin eine Bedeutung bei der Signalübermittlung hat, als Ziel für rezeptorgesteuerte Signalübermittlung. Des Weiteren koordiniert es eventuell die Aktivität des Zytoskeletts und reguliert die Permeabilität (zur Übersicht: Schneeberger und Lynch 2004, Chiba et al. 2008). Auch Xiao 2011 schreibt Occludin eine wichtige Rolle bei der Regulation der Barriereichtigkeit zu. Es ist noch nicht genau geklärt, wie Claudine und Occludin in Tight-Junctions organisiert sind und auch wie sie interagieren, ist bisher nur zum Teil verstanden (Schneeberger und Lynch 2004).

Hwang et al. 2013 haben Occludin im Atemwegsepithel und Endothel der Lunge gefunden. Cavanaugh et al. 2001 haben bei ihren Versuchen zu den Auswirkungen von Dehnung auf die Tight-Junction Struktur in Alveolarsepten festgestellt, dass aus einer höheren Dehnung eine signifikante Verringerung der Intensität von Occludin resultiert. Bei geringerer Dehnung kommt es dagegen nicht zu einer signifikanten Änderung. Bei einer mechanischen Ventilation mit hohem Tidalvolumen kommt es zu einer signifikanten Reduzierung von Occludin in den Alveolarsepten und im Endothel von Rattenlungen. Bei einem niedrigen Tidalvolumen sinkt die Expression von Occludin nur geringfügig (Liu et al. 2014). Zhao et al. 2014 haben bei ihren Versuchen zur beatmungsinduzierten Lungenverletzung (VILI) an Ratten mit Western

Blot Analysen auch herausgefunden, dass bei einer größeren zyklischen Dehnung Occludin signifikant reduziert ist. Evans et al. 2002 konnten bei ihren Versuchen mit allergischen Mäusen feststellen, dass es bei Antigenkontakt zu fokalen Verlusten von Occludin im Atemwegsepithel kommt. Yeo und Jang konnten 2010 bei experimentellen Rhinovirus-Infektionen von menschlichen Nasenepithelzellen eine Verminderung von Occludin bei immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen feststellen.

ZO-Proteine

Die ZO-(Zonula Occludens) Proteine gehören zu den Plaque- oder auch Gerüstproteinen der Tight-Junctions. Allerdings kommen sie auch in Adhärenz-Verbindungen von Zellen vor, denen Tight-Junctions fehlen. Sie gehören zu der Familie der membrane associated guanylyl kinase homologues (MAGUK) Proteinen (Schneeberger und Lynch 2004) und sind mit einer PDZ-Bindungsdomäne ausgestattet (Woods und Bryant 1993 aus Umeda et al. 2006). ZO-1 war das erste Tight-Junction assoziierte Protein, das identifiziert wurde (Stevenson et al. 1986). ZO-1 interagiert mit ZO-2 und ZO-3 und verbindet das Transmembranprotein Occludin mit dem Aktin-Zytoskelett (Fanning et al. 1998, Wittchen et al. 1999). ZO-1 kann darüber hinaus u.a. Verbindungen mit Claudinen und JAM-1 eingehen (Ebnet 2008). Es stabilisiert die Barrierefunktion der Tight-Junction für größere gelöste Stoffe entscheidend und verbindet die Tight-Junction mit dem Zytoskelett (Van Itallie et al. 2009). Darüber hinaus kann ZO-1 die Zell-Proliferation durch Bindung an ZONAB (ZO-1 associated nucleic acid binding protein) inhibieren (Soini et al. 2011). Wenn ZO-1 fehlt, kommt es zu einer etwas verspäteten Formation der TJ, aber ohne funktionelle Beeinflussung (McNeil et al. 2006, Umeda et al. 2004). Erst in dem Fall, dass alle drei ZOs (ZO-1, ZO-2, ZO-3) fehlen, können keine TJ gebildet werden. Es kommt dann zu einem kompletten Verlust der Barrierefunktion. Es fehlen dann auch weitere TJ-Proteine, wie Occludin, Claudin-3 oder JAM 1. Die ZO-Proteine haben eine wichtige Rolle für die Entwicklung der TJ-Stränge, sie formen ein physikalisches Gerüst für Strang formende Proteine wie Claudine oder Occludin (Ebnet 2008). Laut Umeda et al. 2006 werden zunächst ZO-1 und ZO-2 in den Bereich der Tight-Junction rekrutiert, wodurch eine Polymerisation der Claudine initiiert und ermöglicht wird.

Hwang et al. 2013 konnten ZO-1 apikal an den Zellgrenzen des Atemwegsepithels und des Endothels in der Lunge nachweisen. Meng et al. 2011 haben in ihren Versuchen herausgefunden, dass die Expression von ZO-1 in den Alveolarsepten stark ist und eine intensive Immunfluoreszenzfärbung in der Versuchsgruppe mit gesunder Lunge vorhanden ist. 30 Minuten nach Induktion von Ödemen in der Lunge und akuter Lungenverletzung durch Perfluoroisobutylene (PFIB) nimmt die Immunfluoreszenzintensität von ZO-1 ab. Nach 24 Stunden ist der Punkt mit der geringsten Intensität erreicht, danach steigt sie wieder an.

Sajjan et al. 2008 infizierten menschliche Atemwegsepithelzellen mit Rhinovirus und konnten einen reduzierten TER, gestiegene Permeabilität für Inulin und immunhistochemische Beweise für einen Verlust von ZO-1 an den Tight-Junctions feststellen.

Ein Verlust der Lokalisation von ZO-1 ist bei entzündetem Atemwegsepithel von Patienten mit Asthma und zystischer Fibrose beobachtet worden (Ivanov et al. 2010). De Boer et al. 2008 beschrieben, dass die Schädigung des Atemwegsepithels bei Asthmapatienten bekannt ist, die Expression der Tight-Junction und Adhärenz-Verbindungs-Proteine allerdings bisher nur wenig erforscht ist. Sie haben bei Versuchen mit Bronchialbiopsien von Asthmapatienten und Nicht-Asthmapatienten u.a. eine geringere Expression von ZO-1 feststellen können, sowie eine unveränderte Expression von β -Catenin. Sie vermuten, dass die geringere Expression zu einem defekten Atemwegsepithel und einem erhöhten Eindringen von Eosinophilen in das Atemwegsepithel beiträgt. Yeo und Jang konnten 2010 bei experimentellen Rhinovirus-Infektionen von menschlichen Nasenepithelzellen eine Verminderung von ZO-1 bei immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen feststellen. Ni et al. 2013 haben in ihrer Studie herausgefunden, dass eine geringe Expression von ZO-1 mit einer schlechten Prognose bei Patienten mit nicht kleinzelligem Lungenkarzinom korreliert.

Adhärenz-Verbindungen

Adhärenz-Verbindungen sind Zellkontakte, die dazu dienen Gewebe zu formieren. Hauptbestandteil sind klassische Cadherine (z.B. E-Cadherin, N-Cadherin, VE-Cadherin). Sie sind über intrazelluläre Ankerproteine wie Catenine (z.B. β -Catenin) mit dem Aktin-Zytoskelett verbunden (Ebnet 2008). Cadherine sind Transmembran-Adhäsionsproteine, die mit dem extrazellulären Teil des Cadherins der Nachbarzelle verbunden sind (Alberts et al. 2011). Cadherine (calcium dependent adhesion molecules) haben ihren Namen aufgrund der Abhängigkeit von Ca^{2+} -Ionen. Entfernt man Ca^{2+} aus dem extrazellulären Raum, werden die Cadherin-Verbindungen getrennt. Zumindest im frühen embryonalen Gewebe sind die Cadherine vermutlich die Hauptadhäsionsmoleküle. Gibt man zu Kulturen mit embryonalem Gewebe Anti-Cadherin-Antikörper zu, zerfällt das Gewebe (Alberts et al. 2011). Die Autoren beschreiben, dass Antikörper gegen andere Adhäsionsmoleküle, wie Selectine oder Integrine bei intakter Cadherin-vermittelter Adhäsion kaum Einfluss haben. E-Cadherin hat seinen Namen dadurch erhalten, dass man es zuerst in vielen Typen von Epithelzellen gefunden hat. Derzeit geht man davon aus, dass sich die gegenüber liegenden Cadherine an ihren N-terminalen Enden verbinden. Diese sind am weitesten von der Plasmamembran entfernt. Sie bilden einen „Knauf“ und eine „Tasche“, die sich in die gegenüber liegenden Cadherine einfügen. Der extrazelluläre Teil der Cadherine besteht aus mehreren Kopien eines Motivs

(Cadherin Domänen). Die klassischen Cadherine, zu denen auch E-Cadherin gehört, besitzen 5 dieser Cadherin-Domänen. Sie bilden relativ starre Gebilde, die über Gelenke miteinander verbunden sind. In der Nähe dieser Gelenke sind Ca^{2+} Ionen gebunden, die zur Stabilität der Gelenkverbindungen beitragen. Die Affinität der Bindungspartner ist zwar eher gering, aber aufgrund der großen Anzahl an Bindungen kommt eine sehr starke Bindung zustande (Alberts et al. 2011). Zusätzlich zur adhäsiven Funktion hat der E-Cadherin/ β -Catenin Komplex eine wichtige Rolle bei der Signalmodulation (Tian et al. 2011, auch Xu et al. 2007). Takeichi und Abe 2005 beschreiben eine Desorganisation der Adhärenz-Verbindungen beim Verlust von Typ1 Cadherinen, zu denen u.a. E-Cadherin gehört. Des Weiteren ist E-Cadherin auch notwendig für die Bildung von Tight-Junctions, sowohl in einschichtigem als auch in mehrschichtigem Epithel (Gumbiner et al. 1988, Tunggal et al. 2005).

Smythe et al. 1999 haben eine Expression von E-Cadherin apikal an den lateralen Zellverbindungen von normalem Atemwegsepithel von Lungentumor-Patienten festgestellt. In Endothelzellen der Lungenkapillaren ist E-Cadherin das meist exprimierte Cadherin (Boitano et al. 2004). Bei ihren immunhistologischen Untersuchungen von gesundem menschlichen Lungengewebe haben Kaartenaho et al. 2010 E-Cadherin Expression im Atemwegsepithel und Alveolarsepten (Typ 2 Pneumozyten) festgestellt. β -Catenin wird u.a. in Atemwegsepithel, Alveolarsepten (Typ 1 und 2 Pneumozyten) und Endothelzellen exprimiert. Hauptsächlich wird es in der Zellmembran exprimiert, bei manchen Typ 2 Pneumozyten aber auch im Zytoplasma mit Anreicherung im Zellkern (Kaartenaho et al. 2010). De Boer et al. 2008 konnten E-Cadherin und β -Catenin in der Zellmembran von gesunden Atemwegsepithelbiopsien nachweisen, in geringer Menge auch im Zytoplasma. β -Catenin wurde auch im Zellkern nachgewiesen.

Bei Asthmapatienten ist die Expression von E-Cadherin signifikant geringer als bei Gesunden. Die Expression von β -Catenin ist nicht verändert (De Boer et al. 2008). Oldenburger et al. 2014 haben bei ihren Versuchen mit Atemwegsepithel-Zellkulturen festgestellt, dass eine Behandlung mit 1 % Zigarettenrauchextrakt die Expression von E-Cadherin an der Zellmembran reduziert. Carayol et al. 2002 haben bei ihren Versuchen mit menschlichen Atemwegsepithelzellen zum Thema Asthma festgestellt, dass E-Cadherin und β -Catenin in unstimulierten Zellen hauptsächlich lateral an der Zellwand vorkommen und nur minimal im Zytoplasma. 48 Stunden nach Stimulation mit Tumor Nekrose Faktor- α ist die Immunoreaktivität von E-Cadherin weiterhin an der Zellmembran, aber die Expression im Zytoplasma ist angestiegen. Bei β -Catenin wurde dies bereits 6, 12 und 24 Stunden nach Stimulation festgestellt (Carayol et al. 2002). Zemans et al. haben 2011 in ihren Studien herausgefunden, dass bei in vitro und in vivo Modellen die Hemmung von β -Catenin nach Neutrophilen vermittelter Verletzung die Reparatur der Alveolarsepten verzögert.

Gap-Junctions

Gap-Junctions werden in der Übersichtsarbeit von Alberts et al. 2011 als kanalbildende Verbindungen, die direkte Durchgänge vom Zytoplasma der einen Zelle zu dem Zytoplasma der angrenzenden Zelle bilden können, beschrieben. Sie verbinden die Zellen elektrisch und metabolisch (für kleine, wasserlösliche Moleküle < 1000 Da und anorganische Ionen durchgängig). Auch intrazelluläre Signalüberträger wie cyclisches AMP und Inositoltriphosphat können den Kanal passieren. Makromoleküle wie Proteine, Nucleinsäuren und Polysaccharide sind dazu nicht in der Lage (Alberts et al. 2011). Die Autoren beschreiben, dass die Gap-Junctions von den kanalbildenden Proteinen Connexinen und Innexinen durchspannt sind. Der Porendurchmesser des Kanals ist von Gewebe zu Gewebe etwas unterschiedlich, beträgt aber etwa 1,5 nm (Alberts et al. 2011).

Ein Kanal wird von zwei Connexonen gebildet, wenn sie in den Plasmamembranen zweier benachbarter Zellen passend angeordnet sind (Alberts et al. 2011). Die Autoren beschreiben in ihrer Übersichtsarbeit, dass eine Gap-Junction aus vielen Connexonpaaren besteht und ein Connexon aus sechs Connexin Untereinheiten besteht. Es können viele tausend Connexone sein, die allerdings ständig abgebaut und wieder neu aufgebaut werden. Die Autoren beschreiben weiter, dass jede Gap-Junction somit eine dynamische Struktur ist, die gebildet, aufgelöst oder umgebaut werden kann. Die Bildung einer Gap-Junction geschieht vermutlich wie bei anderen integralen Membranproteinen durch Exozytose in die Plasmamembran. Sie diffundieren dann, bis sie Anschluss an eine Gap-Junction bekommen. Deswegen befinden sich außen an einer Gap-Junction die neu gebildeten Connexone und innen die älteren (Alberts et al. 2011). Gap-Junctions kommen in Geweben vor, die eine elektrische Kopplung zur Synchronisation der Kontraktion benötigen (Herzmuskel, Darm), aber auch in vielen anderen Geweben, da somit Schwankungen in Konzentrationen ausgeglichen und die Aktivität von Zellen in Geweben koordiniert werden können (Alberts et al. 2011). Die Autoren beschreiben, dass Gap-Junctions wie Ionenkanäle geöffnet und geschlossen werden können. Die Durchlässigkeit wird bei experimenteller Senkung des zytosolischen pH-Wertes oder starker Erhöhung der freien Ca^{2+} Konzentration verringert (Alberts et al. 2011). Die Funktion der pH Regulierung ist noch nicht geklärt, die Ca^{2+} Regulierung dient dem Schutz der gesunden Nachbarzellen, bei Ca^{2+} Eintritt durch die durchlässigere Plasmamembran einer geschädigten Zelle (als Übersicht: Alberts et al. 2011).

Mechanische Stimulation von Typ 1 Alveolarzellen in situ initiiert einen vorübergehenden Anstieg der Ca^{2+} Konzentration, der durch Gap-Junctions an Typ 2 Alveolarzellen übermittelt wird, um die Sekretion von Surfactant zu stimulieren (Ashino et al. 2000). Koval 2002 geht

davon aus, dass differenzierte Connexin Expression und Kontrolle durch Zellen der Alveolarsepten das Potential haben, es diesen Zellen zu ermöglichen, das Vorhandensein von interzellulärer Kopplung zu regulieren. Dies soll auch eine Möglichkeit der Regulation der Surfactantsekretion sein. Weitere wichtige Lungenfunktionen wie die Koordination der Zilienschlagfrequenz oder Regulation von Entzündungsreaktionen werden der Gap-Junction Kommunikation zugeschrieben (Johnson und Koval 2009). Johnson und Koval fassen 2009 zusammen, dass in der Lunge die meisten Atemwegsepithelzellen Cx32 und Cx43 exprimieren. Endothelzellen exprimieren vorwiegend Cx37, Cx40 und Cx43 und Alveolarsepten exprimieren vorherrschend Cx26, Cx32, Cx43 und Cx46. Abraham et al. 2001 haben festgestellt, dass Cx43 in normalem Rattenlungengewebe in den Alveolarsepten nicht auf Typ 2 Zellen beschränkt ist, sondern eher allgegenwärtig in den Alveolarsepten vorkommt. In Lungenkapillaren wurde die Expression von Cx43 festgestellt. Cx43 tendiert dazu, in Gebieten mit turbulentem Blutfluss hochreguliert zu sein (als Übersicht: Boitano et al. 2004). Kasper et al. 1996 haben in den Alveolarsepten und dem Endothel von gesunden Rattenlungen Cx43 nachgewiesen und herausgefunden, dass die Cx43 Protein Expression während des Verlaufs einer durch Strahlung induzierten pulmonalen Fibrose ansteigt. Fernandez-Cobo et al. konnten 1998 ebenso einen Anstieg der Cx43 Expression während einer Entzündung in Niere und Lunge feststellen. O'Donnell et al. 2014 haben bei ihren Versuchen mit menschlichen Lungenendothelzell-Kulturen herausgefunden, dass bei einer Behandlung mit Thrombin, Lipopolysacchariden oder pathologischer zyklischer Dehnung (mechanischer Stimulus um beatmungsinduzierte Lungenverletzung zu imitieren) die Expression von Cx43 ansteigt. Abraham et al. 2001 haben festgestellt, dass Cx43 in den Alveolarsepten bei Bleomycin induzierter Lungenverletzung nahezu unverändert ist. Kasper et al. 1996 haben dagegen bei strahleninduzierter Lungenfibrose bei Ratten eine Heraufregulation von Cx43 in den Alveolarsepten bemerkt. Saredidine et al. 2009 haben in verschiedenen Versuchen an Mäusen gezeigt, dass Cx43 in den Alveolarsepten eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Neutrophilen-Rekrutierung in den Atemwegen spielt und als ein Regler zur Lungenentzündung beiträgt. Die Autoren schließen aus ihren Ergebnissen, dass Entzündungsmediatoren alveoläres Cx43 hochregulieren um die Neutrophilen-Rekrutierung zu den Atemwegen zu fördern. Eine Hochregulation von Cx43 konnte auch an Tumorzell-Lungenendothelzell-Übergängen von Lungenmetastasen einer Zelllinie von Adenokarzinomen der Brust in Mäusen *in vitro* und *in vivo* sowie in Blutgefäßen innerhalb des Tumors und in Mikrometastasen festgestellt werden (Elzarrad et al. 2008).

Fragestellung

In dieser Arbeit sollte geklärt werden, inwiefern sich Tight-Junction-, Adhärenz-Verbindungs- und Gap-Junction-Proteine in den verschiedenen Schädigungs- bzw. Regenerierungsgruppen, die in der Einleitung beschrieben wurden, verändern, und inwieweit man diese Veränderungen mit den klinischen Parametern der verschiedenen Gruppen korrelieren kann. Als TJ Proteine wurden dabei Claudin-3, Claudin-4, Claudin-5, ZO-1 und Occludin ausgewählt.

Claudin-3, Claudin-4 und Claudin-5 wurden ausgewählt, da sie eher abdichtend wirken (als Übersicht: Anderson et al. 2009, Milatz et al. 2010) bzw. bei (Lungen-) Verletzungen und Entzündungen teilweise hochreguliert sein sollen (Kaarteenaho et al. 2010, Wang et al. 2003, Wray et al. 2009, Rokkam et al. 2011). Occludin wurde ausgewählt, da es eine wichtige Rolle bei der Regulation der Barriere-Dichtigkeit haben soll (als Übersicht: Schneeberger et al. 2004, Xiao et al. 2011, Chiba et al. 2008). ZO-1 wurde als Vertreter der Plaque-Proteine gewählt. Es hat u.a. eine Rolle bei der Signaltransduktion und es wurde bereits ein Zusammenhang zwischen Erkrankungen mit Barriere-Defekten und verringertem ZO-1-Gehalt hergestellt (De Boer et al. 2008).

Als Vertreter der Adhärenz-Verbindungs-Proteine wurden β -Catenin und E-Cadherin untersucht, da diese bereits als in der Lunge vorkommend beschrieben wurden (Kaarteenaho et al. 2010) und man bereits Veränderungen bei Lungenerkrankungen beobachtet hat (De Boer et al. 2008). E-Cadherin wird auch eine Rolle bei dem Aufbau von Tight-Junctions zugeschrieben (Gumbiner 1988, Tunggal et al. 2005).

Cx43 wurde als Gap-Junction Protein gewählt, da es bereits in der Lunge gefunden wurde (als Übersicht: Johnson et al. 2009, Kasper et al. 1996) und es eine Bedeutung bei der Regulierung der Neutrophilen-Rekrutierung in den Atemwegen hat (Sarriedine et al. 2009).

Material und Methoden

Material

Verwendete Lösungen und Puffer für die Fluoreszenzmikroskopie

TEC-Puffer

(in 1 Liter Gebrauchslösung, pH 7,8)

0,25 g Trishydroxymethyl-Aminomethan (TRIS)

0,5 g Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)

0,32 g tri-Natriumcitrat ($C_6H_5Na_3O_7$)

gelöst in Aqua dest./ pH-Einstellung mit HCl (1 mol/l)

Citrat-Puffer

(in 100 ml Gebrauchslösung, pH 6,0)

13,3 ml $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ 21 g/l

61,5 ml $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 29,4 g/l

Gelöst in Aqua dest./pH-Einstellung mit HCl (1 mol/l)

TBST-Puffer

(in 1 Liter Gebrauchslösung, pH 7,6)

6,055 g Trishydroxymethyl-Aminomethan (TRIS)

8,766 g NaCl

0,5 ml Tween

Ca. 5,665 ml 25 % HCl

Gelöst in Aqua dest./pH-Einstellung mit HCl (1 mol/l)

PBS-Puffer

(in 1 Liter Gebrauchslösung, pH 7,3-7,5)

8,0 g NaCl

0,2 g KCl

1,87 g Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)

0,24 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)

Gelöst in Aqua dest./pH-Einstellung mit HCl (1 mol/l)

Trypsin Gebrauchslösung 0,001 %

100 µl der Trypsin Stammlösung:

0,01 g Trypsin

0,013 g CaCl₂*H₂O

10 ml Trishydroxymethyl-Aminomethan-HCl 0,05 mol/l

werden mit 10 ml Trishydroxymethyl-Aminomethan-HCl 0,05 mol/l angesetzt.

Magermilchlösung 5 %

0,5 g Magermilchpulver

10 ml PBS

DAPI Färbebad

40 µl DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol) Lösung 5 mg/ml

200 ml PBS

Verwendete Chemikalien und Reagenzien mit ihren Quellen

<i>Aqua dest. (hergestellt mit Astacus LS TI)</i>	Fa. membraPure GmbH, Bodenheim, Deutschland
<i>C₆H₈O₇*H₂O</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>DAKO Cytomation Protein Block</i>	Fa. Dako, Glostrup, Dänemark
<i>DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol)</i>	Fa. Roche, Basel, Schweiz
<i>EDTA</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>Ethanol</i>	Fa. Walter CMP GmbH und Co. KG, Kiel, Deutschland
<i>Fluoromount –G™</i>	Fa. Southern Biotech, Birmingham, Alabama, USA
<i>HCl</i>	Fa. Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA
<i>KCl</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>KH₂PO₄</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>Magermilchpulver</i>	Fa. Naturaflor, Töpfer GmbH, Dietmannsried, Deutschland
<i>NaCl</i>	Fa. Sigma Aldrich, St. Louis, Deutschland
<i>Na₂HPO₄*2H₂O</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>Pap Pen</i>	Fa. Coulter Beckmann GmbH, Krefeld, Deutschland
<i>Tri-Natriumcitrat (C₆H₅Na₃O₇)</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

<i>Tri-Natriumcitrat Dihydrat</i> ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$)	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>Tris (Trishydroxymethyl-Aminomethan)</i>	Fa. Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA
<i>Triton X-100</i>	Fa. Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA
<i>Trypsin</i>	Fa. Biochrom AG, Berlin, Deutschland
<i>Tween</i>	Fa. Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
<i>Xylolersatz XEM.-200</i>	Fa. Vogel, Gießen, Deutschland
<i>Zellkultur PBS</i>	Fa. Biochrom AG, Berlin, Deutschland

Methoden

Immunhistologische Untersuchung

Für die immunhistologischen Untersuchungen wurde bei jedem Schwein eine Probe von ca. 2 cm mal 2 cm aus dem linken und dem rechten mittleren Lungenlappen entnommen. Diese wurden umgehend in ein mit 4 % Formalin gefülltes 50 ml Falconröhrchen gelegt. Durch das Formalin wurden die Proben fixiert, um eine Autolyse des Gewebes zu verhindern.

Für die weitere Bearbeitung wurden die Proben in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Hierfür wurde ein Automat der Firma Leica genutzt. Im Anschluss wurden die Proben in Paraffin gegossen.

Schneiden

Schneiden der in Paraffin eingebetteten Gewebeproben:

Die in Paraffin eingebetteten Gewebeproben wurden zunächst auf der Kühlplatte Tissue Block System TBS 88 der Firma Medite Medizintechnik, Burgdorf vorgekühlt. Anschließend wurden sie in das mit Spannklammern ausgestattete Rotationsmikrotom Leica RM 2165 der Firma Leica Instruments GmbH, Nussloch eingespannt. Dort wurden mit Mikrotomklingen Microtome Blade S 35 der Firma pfm Produkte für Medizintechnik, Köln 5 µm dicke

Schnitte, in einem Freiwinkel von 3° angefertigt und mithilfe eines feinen Pinsels und eines Objektträgers „Assistent“ No. 2406 Elka OT Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Sondheim in das mit 40°C warmem, destilliertem Wasser gefüllte Paraffinstreckbad GFL 1052 der Firma GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel überführt. Danach wurden die Schnitte auf beschichteten Objektträgern „Assistent“ No. 72 Super Frost/ Plus OT Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Sondheim zum Trocknen auf den Objektträger-Strecktisch Medax SP12 gelegt. Über Nacht kamen sie zum Fixieren bei 55°C in den Wärmeschrank S30 der Firma Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach.

Färbung

Immunhistochemische Färbung der Paraffinschnitte:

Die Proteine wurden mithilfe von Antikörpern dargestellt. Ein Primärantikörper markiert das Protein, das durch einen gegen den Primärantikörper gerichteten und mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierten Sekundärantikörper detektiert wird.

Zunächst wurden die in Färbewiegen eingesetzten Schnitte entparaffiniert und hydratisiert, indem sie in folgender Reihenfolge in gefüllte Küvetten eingesetzt wurden:

- Xylolersatz 1 -> 20 min
- Xylolersatz 2 -> 20 min
- Ethanol absolut 1 -> kurz (30 sek.)
- Ethanol absolut 2 -> 5 min
- Ethanol 96 % -> kurz
- Ethanol 80 % -> kurz
- Ethanol 70 % -> kurz
- Aqua dest. -> schwenken
- Aqua dest. -> 5 min.

Demaskierung

Darauf folgte die Demaskierung der Antigene durch Hitzebehandlung. Hierfür wurden die Schnitte in Mikrowellengefäße eingesetzt und je nach Antikörper (siehe Tabelle 11: Demaskierung (Tec- oder Citrat-Puffer)) mit TEC-Puffer oder Citrat-Puffer befüllt. Die Schnitte wurden bei 600 W insgesamt 15 (Claudin-3) bzw. 20 min. (alle anderen AK) in der Mikrowelle erhitzt. Nach jedem Hitzezyklus, drei mal 5 Minuten bei Claudin-3 bzw. vier mal 5 Minuten bei den anderen Antikörpern, wurde Puffer nachgefüllt. Im Anschluss kühlten die

Schnitte 20 bis 30 min. ab, bevor sie in Küvetten mit 2 mal 3 min. TBST bzw. 2 mal 5 min. PBS (siehe Tabelle 12: Waschpuffer (TBST oder PBS)) gespült wurden.

	TEC	Citrat
Claudin-3	X	
Claudin-4	X	
Claudin-5		X
ZO-1	X	
Ocludin	X	
E-Cadherin	X	
β-Catenin		X
Cx43	X	

Tabelle 11: Demaskierung (Tec- oder Citrat-Puffer)

	TBST	PBS
Claudin-3	X	
Claudin-4	X	
Claudin-5	X	
ZO-1	X	
Ocludin	X	
E-Cadherin	X	
β-Catenin		X
Cx43	X	

Tabelle 12: Waschpuffer (TBST oder PBS)

Proteolytischen Vorbehandlung

Bei der proteolytischen Vorbehandlung mit Trypsin wurde zunächst mit einem PapPen eine wasserabweisende Barriere in ausreichendem Abstand um den Schnitt herum auf den Objektträger aufgetragen. Je nach Größe der Schnitte wurden nun 30 bis 100 µl von 0,001 % Trypsin Gebrauchslösung aufgetragen. Zur Inkubation kamen die Schnitte für 10 min. bei 37 Grad Celsius in den Wärmeschrank (S30 der Firma Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach). Danach wurde für 30 sek. mit Aqua dest. gespült und anschließend mit TBST 2 mal 3 min. bzw. mit PBS für 2 mal 5 min, je nach Antikörper (siehe Tabelle 12: Waschpuffer (TBST oder PBS)) gespült.

Block und Triton

Um freie unspezifische Bindungsstellen zu blockieren, wurde je nach Antikörper (siehe Tabelle 13: Verwendeter Block (DAKO-Block oder 5 % Magermilchblock mit Triton) entweder der DAKO-Block oder ein Block mit 5 % Magermilchlösung und Triton verwendet.

Das Triton führt zusätzlich zu einer Veränderung der Oberflächenspannung und macht damit Epitope zugänglicher.

Beim DAKO-Block wurden die Schnitte mit wenigen Tropfen DAKO Cytomation Protein Block bedeckt und für 30 min. bei Raumtemperatur inkubiert.

Der Block mit 5 % Magermilchlösung bestand aus 970 µl 5 % Magermilchlösung + 20 µl NGS (Normal Goat Serum) + 10 µl 10 % Triton und es wurden 30 bis 100 µl je nach Größe auf den Schnitt gegeben. Die Inkubation fand für 30 min. bei Raumtemperatur statt.

	DAKO-Block	5 % Magermilchblock mit Triton
Claudin-3	X	
Claudin-4		X
Claudin-5	X	
ZO-1	X	
Occludin	X	
E-Cadherin	X	
β-Catenin		X
Cx43		X

Tabelle 13: Verwendeter Block (DAKO-Block oder 5 % Magermilchblock mit Triton)

Primärantikörper

Nun konnte der Primärantikörper aufgetragen werden. Dafür wurden die Antikörper entsprechend den in Tabelle 14: Primärantikörperverdünnung mit PBS angegebenen Verdünnungen mit PBS verdünnt.

Zu den Präparaten wurden auch Negativkontrollen angefertigt, damit man sehen konnte, ob der Antikörper eventuell unspezifisch bindet. Dazu wurden Isotypen-spezifische Immunglobulin-Präparationen in denselben Konzentrationen wie der eingesetzte Primärantikörper verwendet (Tabelle 15: Negativkontrollen mit PBS).

Bevor je nach Schnittgröße 30-100 µl Antikörperlösung oder Negativkontrolllösung auf die Schnitte aufgetragen wurden, wurden die Lösungen für 3 min. bei 13 000 g zentrifugiert. Es wurde nur der Überstand aufgetragen, die störenden Schwebeteilchen verblieben im Sediment.

Über Nacht inkubierten die Schnitte bei 4°C in einer abgedeckten Färbeschale im Kühlraum.

	Prim. AK aus	Firma	Klon / Antikörperpräparation	Verdünnung
Claudin-3	Kaninchen	Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA	Z23JM	1:40
Claudin-4	Maus	Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA	3E2C1	1:40
Claudin-5	Maus	Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA	4C3C2	1:50
ZO-1	Maus	Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA	Z-R1	1:100
Occludin	Maus	Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA	OC-3F10	1:20
E-Cadherin	Maus	Novocastra Laboratories Ltd., Newcastle Upon Tyne, UK	36B5	1:20
β-Catenin	Maus	Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA	14	1:60
Cx43	Kaninchen	Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, CA, USA	ZMD640	1:50

Tabelle 14: Primärantikörperverdünnung mit PBS

	Negativkontrolle	Firma	Verdünnung
Claudin-3	Negative Control Rabbit Immunoglobulin Fraction Code-No. X 0903	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:40
Claudin-4	Negative Control Mouse IgG1 Code-No. X 0931	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:40
Claudin-5	Negative Control Mouse IgG1 Code-No. X 0931	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:50
ZO-1	Negative Control Mouse IgG1 Code-No. X 0931	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:100
Occludin	Negative Control Mouse IgG1 Code-No. X 0931	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:20
E-Cadherin	Negative Control Mouse IgG1 Code-No. X 0931	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:20
β-Catenin	Negative Control Mouse IgG1 Code-No. X 0931	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:60
Cx43	Negative Control Rabbit Immunoglobulin Fraction Code-No. X 0903	DakoCytomation Denmark A/S, Glostrup, DK	1:50

Tabelle 15: Negativkontrollen mit PBS

Sekundärantikörper

Am nächsten Tag wurde der Sekundärantikörper aufgetragen. Zunächst wurden die Schnitte je nach verwendetem Antikörper (Tabelle 12: Waschpuffer (TBST oder PBS)) mit PBS- oder TBST Puffer einmal kurz und dann 3-mal für 10 Minuten gespült.

Der Sekundärantikörper wurde so ausgewählt, dass er zu der Spezies, in welcher der Primärantikörper produziert wurde, passt (Tabelle 16: Verwendete Sekundärantikörper). Es folgte eine Verdünnung mit PBS je nach Antikörper (Tabelle 17: Sekundärantikörperverdünnung mit PBS).

Wie auch bei den Primärantikörpern und den Negativkontrollen war es nötig, den Sekundärantikörper vor dem Auftragen auf den Objektträger 3 Minuten bei 13 000 g zu zentrifugieren. Nur der Überstand wurde aufgetragen. Im Anschluss inkubierten die Schnitte für 30 Minuten bei Raumtemperatur, bevor sie je nach Antikörper für 5 Minuten in PBS oder TBST gespült wurden.

Prim. AK aus	Sek. AK	Firma
Kaninchen	AF488F (ab')2 Fragment of goat anti rabbit IgG	MoBiTec GmbH, Göttingen
	AF594F (ab')2 Fragment of goat anti rabbit IgG	MoBiTec GmbH, Göttingen
Maus	AF488F (ab')2 Fragment of goat anti mouse IgG	MoBiTec GmbH, Göttingen
	AF594F (ab')2 Fragment of goat anti mouse IgG	MoBiTec GmbH, Göttingen

Tabelle 16: Verwendete Sekundärantikörper

	Sekundärantikörperverdünnung
Claudin-3	1:500
Claudin-4	1:1000
Claudin-5	1:1000
ZO-1	1:1000
Occludin	1:1000
E-Cadherin	1:1000
β-Catenin	1:1000
Cx43	1:500

Tabelle 17: Sekundärantikörperverdünnung mit PBS

Kerngegenfärbung mit DAPI

Für die Kerngegenfärbung wurden die Schnitte für 1 Minute bei Raumtemperatur in Küvetten in das abgedunkelte DAPI-Färbbad verbracht. Anschließend wurde mit PBS zweimal für 5 Minuten gespült, danach zweimal für 3 Minuten mit Aqua dest.

Eindeckeln der Schnitte

Zum Eindeckeln der Schnitte wurden diese aus den Küvetten in Färbeschalen gelegt und je nach Größe des Schnittes mit 2 bis 5 Tropfen Fluoromount-G tm bedeckt. Das Fluoromount-G tm wurde mit einer Pipette aufgetragen. Ein sauberes Deckglas wurde angesetzt und möglichst luftblasenfrei auf den Schnitt gelegt.

Die Arbeitsschritte Schneiden bis Eindeckeln der Schnitte wurden durchgeführt von Sabine Vidal-y-Sy, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Labor für Zell- und Molekularbiologie.

Mikroskopieren

Nach dem Trocknen der eingedeckelten Präparate konnte mit dem Mikroskopieren begonnen werden. Hierfür wurde das Fluoreszenzmikroskop Zeiss Axiophot 2 genutzt. Als Phasenkontrasteinstellung wurde Phase 3 verwendet. Auf die Objektträger wurde ein Tropfen Öl gegeben und mit dem Objektiv Zeiss Plan Neofluar 40x/1,3 Oil ausgewertet. Für die Begutachtung der Schnitte wurde das gesamte Präparat meanderförmig von links oben nach rechts unten durchgesehen und die Intensität der Fluoreszenz an den Zellmembranen von Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarsepten bewertet. Die Begutachtung der Präparate erfolgte zweifach. Die untersuchten Lungenschnitte wiesen fast im gesamten Bereich eine homogene Intensität der Fluoreszenz auf. Es war nur bei einigen Präparaten in kleinen Bereichen Abweichungen festzustellen. Daher wurde die Intensität der Fluoreszenz nach dem überwiegenden Teil bewertet. Als Bewertung wurde ein Wert zwischen 0 = nicht vorhanden und 3 = maximale Fluoreszenzintensität gewählt.

Statistik

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte mit dem Programm Statistical Package for Social Sciences Version 21 (SPSS) für Windows. Bei der grafischen Darstellung kamen Balkendiagramme des Programms Excel zur Anwendung. Für die Gruppenvergleiche wurden die Ergebnisse der immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchung durch eine einfaktorielle Varianzanalyse (Anova) und einem darauf folgenden Post-Hoc-Test (Tukey-HSD) untersucht. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit freundlicher Unterstützung von Dr. Hans O. Pinnschmidt, Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie am Universitätsklinikum Eppendorf in Hamburg.

Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss von Rekonditionierung (Gruppe 3), verschiedenen Systemkomponenten (geschlossenes/ offenes System und Perfusionslösung; Gruppe 7, 8 und 88) und Funktionseinschränkungen der Lunge durch Aspiration mit unterschiedlichen experimentellen Einflüssen (Gruppe 55, 5, 6 und 9) auf die Anwesenheit und Verteilung von Tight-Junction-, Adhärenz-Verbindungs- und Gap-Junction-Proteine in der Lunge untersucht werden. Es wurden nicht für alle Proteine alle Gruppen ausgewertet. In den Fällen, in denen keine Veränderung zur Prae-Gruppe in den Gruppen in denen die größten Unterschiede zu erwarten waren (Gruppe 55 und 5 mit erhöhtem LIS) erkennbar war, wurde auf eine weitere Auswertung verzichtet. Die Gruppe 9 wurde nicht für alle Proteine ausgewertet, da einige Proteine schon gefärbt waren, als diese Gruppe in den klinischen Versuchen abgeschlossen wurde.

Es wurden alle Gruppen auch mit Gruppe 3 verglichen, da diese Gruppe mit seinem möglichst optimalen ex-vivo Rekonditionierungssystem als Kontrollgruppe im Projekt diente.

Es ist zu beachten, dass die Intensitäten der Fluoreszenz nur innerhalb eines Antikörpers vergleichbar sind, nicht zwischen verschiedenen Antikörpern, da die Antikörperkonzentrationen und -affinitäten unterschiedlich sind.

Die Ergebnisse sind im Folgenden nach den Antikörpern aufgegliedert. Für eine bessere Übersichtlichkeit befinden sich die Signifikanzberechnungen im Anhang.

Claudin-3

Claudin-3 wird im gesunden Atemwegsepithel apikal an den Zellgrenzen gefunden (Abbildung 13), im gesunden Endothel (Abbildung 14) und den gesunden Alveolarsepten (Abbildung 15) wird Claudin-3 ebenfalls an den Zellgrenzen gefunden.

Im Atemwegsepithel findet man für Claudin-3 keine signifikante Veränderung durch die verschiedenen experimentellen Einflüsse zur Kontrolle (Prae-Gruppe; $2,36 \pm 0,13$) (Abbildung 16, Tabelle 18). Allerdings findet man für die Gruppen 3, 6 und 7 (eingeschränkt auch 5) eine Erniedrigung. Gruppe 8 und 88 sind nahezu unverändert und Gruppe 55 ist leicht erhöht, so dass man einen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe 3 und der Gruppe 55 beobachten kann (Abbildung 16, Tabelle 18). Diese beiden Gruppen unterscheiden sich darin, dass in Gruppe 3 eine Rekonditionierung stattfand, während dies in Gruppe 55 nicht der Fall war (siehe Tabelle 1: Versuchsgruppenübersicht).

Im Endothel weist Claudin-3 in der Kontroll-Gruppe 1 (Prae-Gruppe) einen Mittelwert von $0,29 \pm 0,15$ auf (Abbildung 16, Tabelle 19). Der Mittelwert der Gruppe 55 ist signifikant erhöht ($1,25 \pm 0,16$), alle anderen experimentellen Einflüsse zeigen keine signifikanten Veränderungen zur Kontrolle (Abbildung 16, Tabelle 19). Die Erhöhung der Intensität in Gruppe 55, die einzige Gruppe, in der keine Rekonditionierung stattfand, ist auch signifikant im Vergleich zu allen anderen experimentellen Einflüssen mit Ausnahme von Gruppe 5.

In den Alveolarsepten liegt der Mittelwert der Kontroll-Gruppe 1 (Prae-Gruppe) bei $0,46 \pm 0,14$ (Abbildung 16, Tabelle 20). Man beobachtet für alle experimentellen Einflüsse eine leichte Erhöhung der Intensität. Besonders deutlich ist diese in Gruppe 6 ($1,04 \pm 0,10$), die sich auch signifikant von der Kontroll-Gruppe 1 (Prae-Gruppe) unterscheidet (Abbildung 16, Tabelle 20). Gruppe 6 ist die einzige Gruppe mit intensivmedizinischen Maßnahmen in diesem Experiment. Weitere signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht zu beobachten.

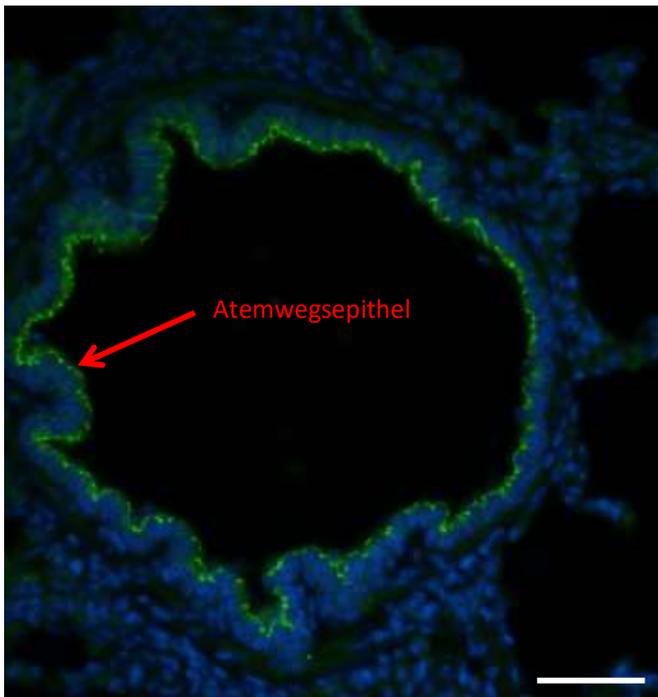


Abbildung 13: Immunlokalisation von Claudin-3 (grün) im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

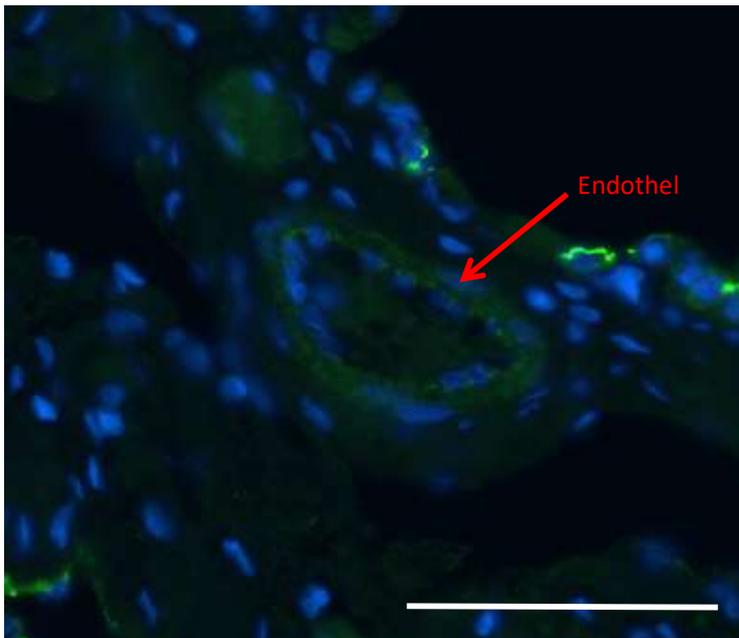


Abbildung 14: Immunlokalisation von Claudin-3 (grün) im Endothel der Prael-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

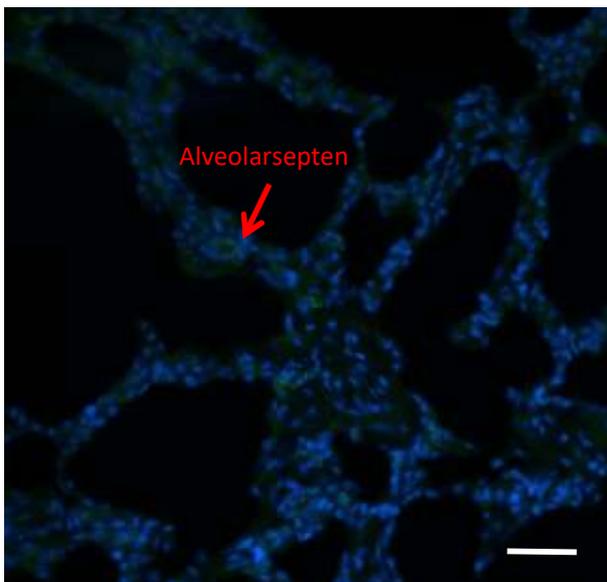


Abbildung 15: Immunlokalisation von Claudin-3 (grün) in den Alveolarsepten der Prael-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

Claudin 3

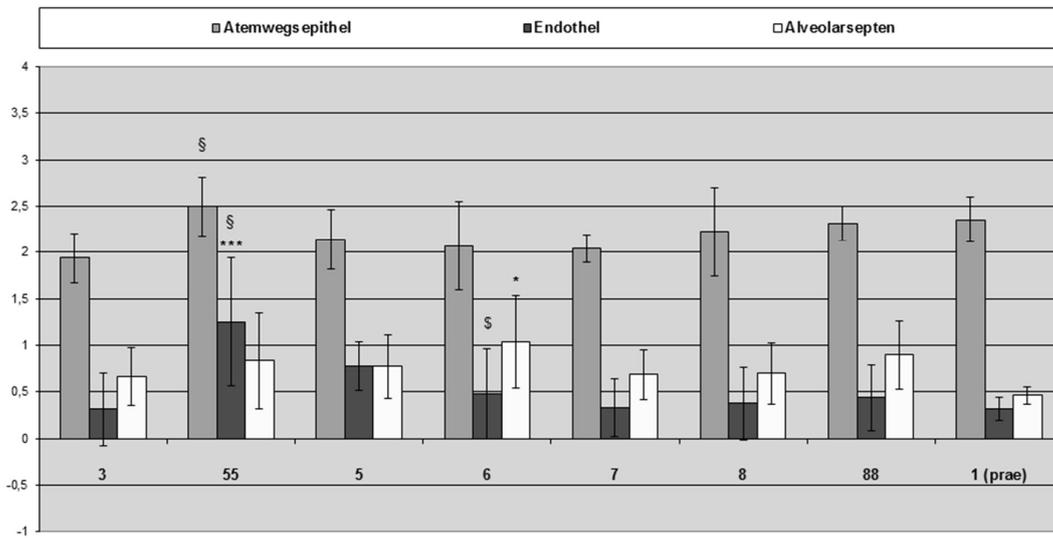


Abbildung 16: Claudin-3 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarepithel bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an (siehe auch Tabelle 18 bis Tabelle 20). Signifikanzen zu Gruppe 1 (Prae-Gruppe) $p < 0,05 = *$, $p \leq 0,01 = **$, $p \leq 0,001 = ***$. Signifikanzen zu Gruppe 3 $p < 0,05 = §$. Signifikanzen der Gruppe 55 mit Gruppe 5 und Gruppe 6 $p < 0,05 = §$. $n = 6$ (Gruppe 3), $n = 5$ (Gruppe 55), $n = 6$ (Gruppe 5), $n = 7$ (Gruppe 6), $n = 6$ (Gruppe 7), $n = 8$ (Gruppe 8), $n = 6$ (Gruppe 88), $n = 7$ (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). $n =$ unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,942	0,095	1,752	2,131
55	2,500	0,135	2,232	2,768
5	2,136	0,099	1,938	2,334
6	2,071	0,088	1,896	2,247
7	2,033	0,095	1,844	2,223
8	2,210	0,104	2,002	2,418
88	2,292	0,095	2,102	2,481
1 (Prae)	2,357	0,125	2,109	2,605

Tabelle 18: Intensität von Claudin-3 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,308	0,114	0,081	0,536
55	1,250	0,161	0,928	1,572
5	0,773	0,119	0,535	1,010
6	0,479	0,106	0,268	0,689
7	0,325	0,114	0,098	0,552
8	0,370	0,125	0,121	0,619
88	0,450	0,114	0,223	0,677
1 (Prae)	0,286	0,150	-0,012	0,583

Tabelle 19: Intensität von Claudin-3 im Endothel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,658	0,105	0,449	0,868
55	0,833	0,149	0,537	1,130
5	0,773	0,110	0,554	0,992
6	1,036	0,098	0,841	1,230
7	0,692	0,105	0,482	0,901
8	0,710	0,115	0,480	0,940
88	0,908	0,105	0,699	1,118
1 (Prae)	0,457	0,138	0,182	0,732

Tabelle 20: Intensität von Claudin-3 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen

Claudin-4

In dieser Arbeit konnte Claudin-4 apikal an den Zellgrenzen im Atemwegsepithel nachgewiesen werden (Abbildung 17). Obwohl das Protein in der Literatur auch in den Alveolarsepten (teilweise schwach vorkommend) beschrieben wurde, konnte es hier in denselben Schnitten, die im Atemwegsepithel positiv für Claudin-4 waren, nicht nachgewiesen werden. Zwar konnte eine Färbung in den Alveolarsepten beobachtet werden (Abbildung 18), diese war aber identisch mit der Isotyp-Negativkontrolle (Abbildung 18, Insert). Auch im Endothel konnte es, in Übereinstimmung mit der Literatur nicht nachgewiesen werden. Im Atemwegsepithel weist die Kontroll-Gruppe 1 (Prae-Gruppe) einen Mittelwert von $1,03 \pm 0,17$ auf (Abbildung 19, Tabelle 21). Der Mittelwert von Gruppe 3 liegt mit $1,42 \pm 0,19$ leicht höher, der Unterschied ist aber nicht signifikant (Abbildung 19, Tabelle 21). Die anderen Gruppen liegen auf dem Niveau der Kontroll-Gruppe 1. Es wurde auf eine Auswertung der übrigen Gruppen verzichtet.

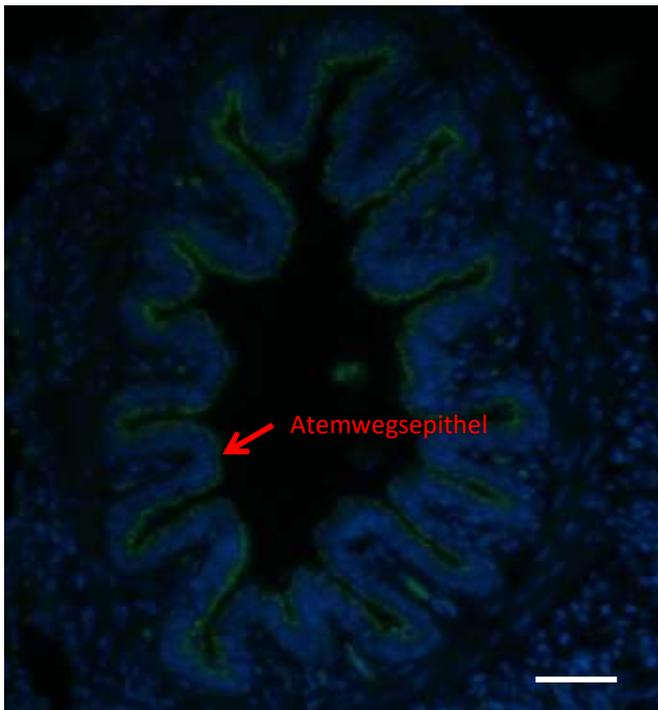


Abbildung 17: Immunlokalisation von Claudin-4 (grün) im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

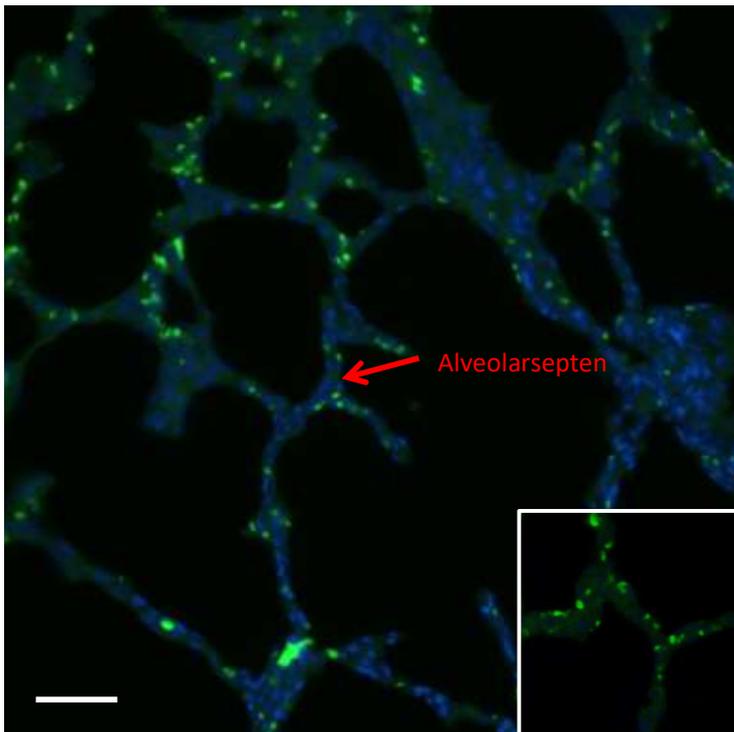


Abbildung 18: Immunlokalisierung von Claudin-4 (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μ m. Insert: Isotyp-gefärbte Negativkontrolle (ohne DAPI-Färbung).

Claudin 4

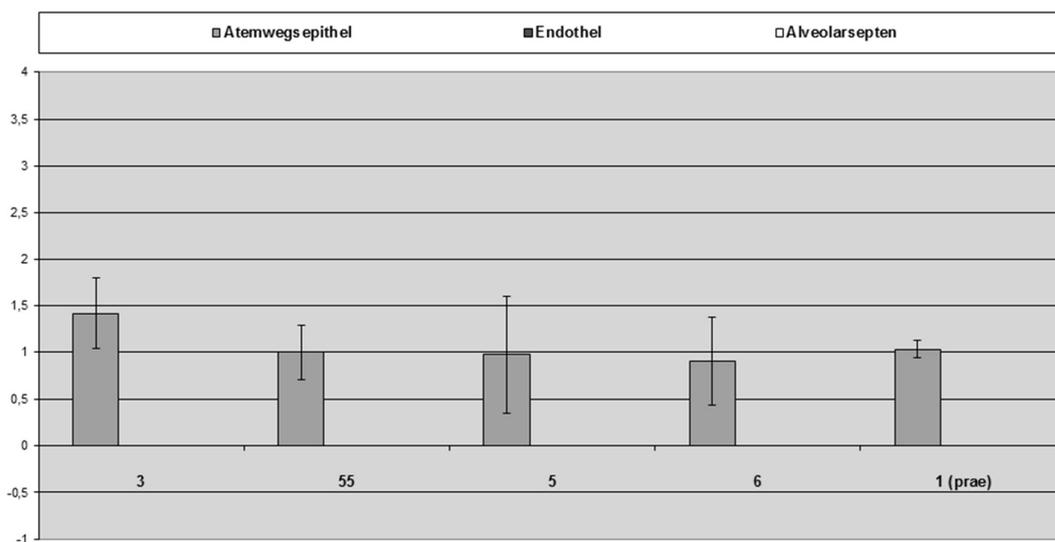


Abbildung 19: Claudin-4 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den

Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarsepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 21). n=3 (Gruppe 3), n=5 (Gruppe 55), n=6 (Gruppe 5), n=7 (Gruppe 6) und n=7 (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). n = unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,417	0,187	1,039	1,794
55	1,000	0,173	0,650	1,350
5	0,975	0,132	0,708	1,242
6	0,900	0,127	0,643	1,157
1 (Prae)	1,029	0,173	0,679	1,378

Tabelle 21: Intensität von Claudin-4 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Claudin-5

Claudin-5 wurde in der Kontroll-Gruppe 1 (Prae-Gruppe) im Endothel und in den Alveolarsepten an den Zellgrenzen gefunden (Abbildung 20). Im Atemwegsepithel war es, obwohl das Protein in der Literatur auch im Atemwegsepithel (teilweise schwach ausgeprägt) vorkommend beschrieben wurde, überwiegend abwesend (Daten nicht gezeigt).

Wie in der Kontroll-Gruppe 1 ist Claudin-5 auch nach den experimentellen Einflüssen im Atemwegsepithel abwesend. Eine Ausnahme bildet Gruppe 6, bei der das Protein in 2 von 14 Präparaten einen Färbeintensitätsscore von 1,5 zeigte. In den anderen Präparaten war Claudin-5 aber im Atemwegsepithel weiterhin abwesend. Es gibt keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 21, Tabelle 22).

Im Endothel liegt der Mittelwert der Kontroll-Gruppe 1 (Prae-Gruppe) bei $1,79 \pm 0,20$ (Abbildung 21, Tabelle 23). Dieser Wert ist in den Gruppen 5, 6 und 55, bei denen die Lunge durch Aspiration geschädigt wurde, stark erniedrigt (Gruppe 5 und 6 $p < 0,05$, Gruppe 55 $p = 0,07$), für die Gruppen 3 und 88 findet man auch noch eine mäßige Erniedrigung (Abbildung 21, Tabelle 23, Tabelle 1). Die Werte der anderen Gruppen, unter anderem auch der Gruppe 9, bei der nach der Aspiration zusätzlich zu den Intensivmedizinischen Maßnahmen noch Antithymozytenglobulin (ATG) zugefügt wurde, liegen nahe bei der Kontroll-Gruppe 1 und sind ebenfalls signifikant höher als die Gruppen 5 und 6 (Abbildung 21, Tabelle 23, Tabelle 1).

In den Alveolarsepten betrug der Mittelwert des Färbeintensitätsscores der Kontroll-Gruppe 1 $1,14 \pm 0,21$ (Abbildung 21, Tabelle 24). Auch hier beobachtet man eine starke Erniedrigung in den Gruppen 5 und 55 und eine leichte Erniedrigung in der Gruppe 6. In den Gruppen 7 und 8 beobachtet man sogar eine Erhöhung. Die anderen Gruppen waren ähnlich der Kontroll-Gruppe 1. Keine der Gruppen unterscheidet sich signifikant zur Kontroll-Gruppe 1, aber es kommt zu signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen 7 und 8 des geschlossenen Systems einerseits und den Gruppen 5, 55 und 6 des offenen Systems andererseits (Abbildung 21, Tabelle 24, Tabelle 1).

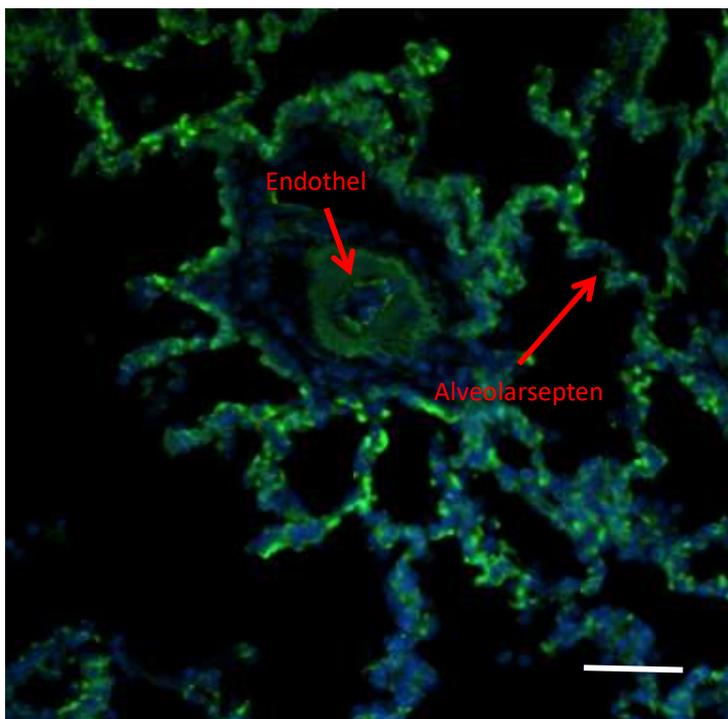


Abbildung 20: Immunlokalisation von Claudin-5 (grün) in Alveolarsepten und Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

Claudin 5

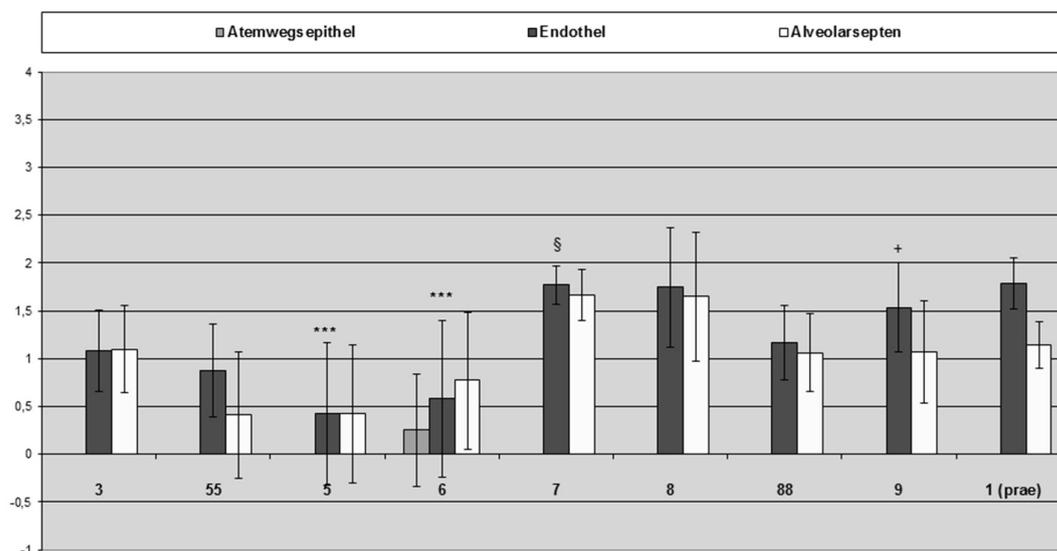


Abbildung 21: Claudin-5 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 22 bis Tabelle 24). Signifikanzen zu Gruppe 1 (Prae-Gruppe) $p < 0,05 = *$, $p \leq 0,01 = **$, $p \leq 0,001 = ***$. Signifikanzen zu Gruppe 3 $p < 0,05 = §$. Signifikanzen der Gruppe 5 mit Gruppe 6 und Gruppe 9 $p < 0,05 = +$. $n = 6$ (Gruppe 3), $n = 5$ (Gruppe 55), $n = 6$ (Gruppe 5), $n = 7$ (Gruppe 6), $n = 6$ (Gruppe 7), $n = 8$ (Gruppe 8), $n = 6$ (Gruppe 88), $n = 7$ (Gruppe 9), $n = 7$ (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). $n =$ unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,000	0,063	-0,125	0,125
55	0,000	0,089	-0,177	0,177
5	0,000	0,069	-0,137	0,137
6	0,250	0,063	0,125	0,375
7	0,000	0,063	-0,125	0,125
8	0,000	0,069	-0,137	0,137
9	0,000	0,082	-0,164	0,164
88	0,000	0,063	-0,125	0,125
1 (Prae)	0,000	0,082	-0,164	0,164

Tabelle 22: Intensität von Claudin-5 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,075	0,154	0,768	1,382
55	0,883	0,218	0,450	1,317
5	0,430	0,169	0,094	0,766
6	0,583	0,154	0,277	0,890
7	1,792	0,154	1,485	2,098
8	1,730	0,169	1,394	2,066
9	1,529	0,202	1,127	1,930
88	1,175	0,154	0,868	1,482
1 (Prae)	1,786	0,202	1,384	2,187

Tabelle 23: Intensität von Claudin-5 im Endothel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,108	0,158	0,795	1,422
55	0,417	0,223	-0,027	0,860
5	0,420	0,173	0,077	0,763
6	0,775	0,158	0,461	1,089
7	1,675	0,158	1,361	1,989
8	1,660	0,173	1,317	2,003
9	1,071	0,206	0,661	1,482
88	1,067	0,158	0,753	1,380
1 (Prae)	1,143	0,206	0,732	1,553

Tabelle 24: Intensität von Claudin-5 in den Alveolarepten in den verschiedenen Gruppen

Occludin

Occludin wird in der Kontroll-Gruppe 1 apikal an den Zellgrenzen im Atemwegsepithel, im Endothel und den Alveolarepten gefunden (Abbildung 22, Abbildung 23).

Im Atemwegsepithel liegt der Immunintensitätsscore bei Gruppe 1 im Mittelwert bei $2,07 \pm 0,13$ (Abbildung 24, Tabelle 25). Die Gruppen 7, 8 und 88 haben ähnliche Mittelwerte. Die Mittelwerte der Gruppen 3 und 55 liegen etwas, die Mittelwerte der Gruppen 5 und 6 deutlich darunter. Bei zwei der Aspirationsgruppen, Gruppe 5 und 6, bei denen zusätzlich eine Rekonditionierung durchgeführt wurde, sind die p-Werte im Vergleich mit den Gruppen 1, 7, 8 und 88 $< 0,05$ (Abbildung 24, Tabelle 25, Tabelle 1). Als weiterer signifikanter Unterschied liegt der Mittelwert von Gruppe 6 unter dem von Gruppe 55.

Im Endothel liegt der Mittelwert der Kontrollgruppe (Gruppe 1) bei $1,86 \pm 0,14$ (Abbildung 24, Tabelle 26). Man beobachtet eine deutliche und signifikante Erniedrigung bei den Gruppen 5 und 6. Auch die Intensitäten der Gruppen 3 und 55 sind signifikant erniedrigt, aber nicht so deutlich. Die Gruppen 7, 8 und 88 zeigen einen mäßig und nicht signifikant erniedrigten Wert (Abbildung 24, Tabelle 26).

In den Alveolaresepten liegt der Mittelwert der Kontrollgruppe (Gruppe 1) bei $2,29 \pm 0,13$ (Abbildung 24, Tabelle 27). Alle experimentellen Einflüsse führen zu einer leichten Erniedrigung, die am deutlichsten in den Gruppen 5 und 6 sind ($p < 0,05$). Die Gruppen 5 und 6 unterscheiden sich auch signifikant von den Gruppen 7, 8 und 88 sowie Gruppe 5 von Gruppe 55 (Abbildung 24, Tabelle 27).

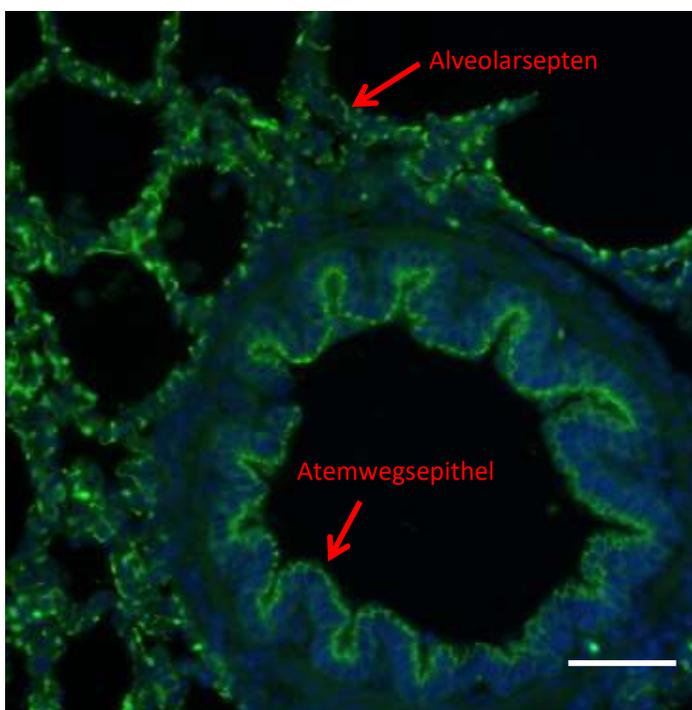


Abbildung 22: Immunlokalisation von Occludin (grün) in Alveolaresepten und im Atemwegsepithel der Praelongationsgruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

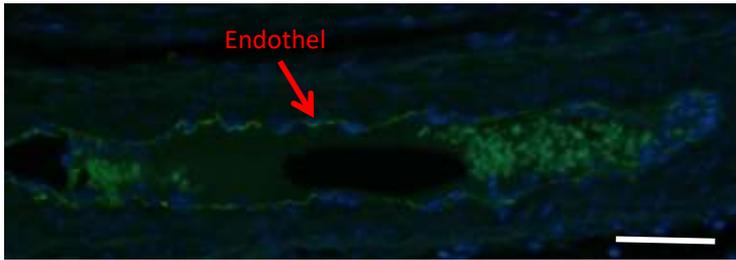


Abbildung 23: Immunlokalisation von Occludin (grün) im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

Occludin

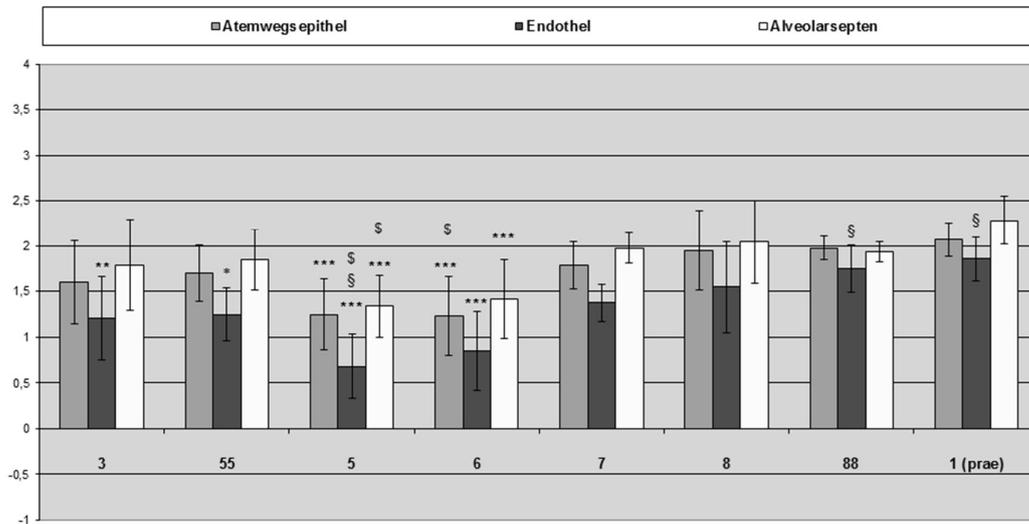


Abbildung 24: Occludin Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 25 bis Tabelle 27). Signifikanzen zu Gruppe 1 (Prae-Gruppe) $p < 0,05 = *$, $p \leq 0,01 = **$, $p \leq 0,001 = ***$. Signifikanzen zu Gruppe 3 $p < 0,05 = §$. Signifikanzen der Gruppe 55 mit Gruppe 5 und Gruppe 6 $p < 0,05 = \$$. $n = 6$ (Gruppe 3), $n = 5$ (Gruppe 55), $n = 6$ (Gruppe 5), $n = 7$ (Gruppe 6), $n = 6$ (Gruppe 7), $n = 8$ (Gruppe 8), $n = 6$ (Gruppe 88), $n = 7$ (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). $n =$ unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,600	0,101	1,398	1,802
55	1,700	0,111	1,479	1,921
5	1,255	0,106	1,044	1,465
6	1,217	0,101	1,015	1,418
7	1,792	0,101	1,590	1,993
8	1,950	0,111	1,729	2,171
88	1,983	0,101	1,782	2,185
1 (Prae)	2,071	0,133	1,807	2,336

Tabelle 25: Intensität von Occludin im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,208	0,105	1,000	1,417
55	1,250	0,115	1,022	1,478
5	0,682	0,109	0,464	0,900
6	0,850	0,105	0,642	1,058
7	1,367	0,105	1,158	1,575
8	1,550	0,115	1,322	1,778
88	1,750	0,105	1,542	1,958
1 (Prae)	1,857	0,137	1,584	2,130

Tabelle 26: Intensität von Occludin im Endothel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,783	0,102	1,581	1,985
55	1,850	0,111	1,629	2,071
5	1,336	0,106	1,125	1,547
6	1,417	0,102	1,215	1,619
7	1,975	0,102	1,773	2,177
8	2,050	0,111	1,829	2,271
88	1,950	0,102	1,748	2,152
1 (Prae)	2,286	0,133	2,021	2,550

Tabelle 27: Intensität von Occludin in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen

ZO-1

ZO-1 wurde in der Kontroll-Gruppe 1 apikal an den Zellgrenzen im Atemwegsepithel, im Endothel und in den Alveolarsepten gefunden (Abbildung 25, Abbildung 26).

Im Atemwegsepithel liegt der Mittelwert der Kontroll-Gruppe 1 bei $1,21 \pm 0,17$ (Abbildung 27, Tabelle 28). Die Gruppe 6 zeigt einen niedrigeren Intensitätsscore, alle anderen Werte sind unverändert. Von den untersuchten Gruppen unterscheidet sich keine signifikant von Gruppe 1 (Abbildung 27, Tabelle 28). Auf eine Untersuchung der übrigen Gruppen wurde verzichtet.

Im Endothel zeigt die Kontroll-Gruppe 1 einen Mittelwert von $1,14 \pm 0,19$ (Abbildung 27, Tabelle 29). Die Gruppen 3, 55, 5 und 6 weisen niedrigere Mittelwerte auf. Es unterscheidet sich keine der untersuchten Gruppen signifikant von Gruppe 1 (Abbildung 27, Tabelle 29). Auf eine Untersuchung der weiteren Gruppen wurde verzichtet.

In den Alveolarsepten liegt der Mittelwert der Kontroll-Gruppe 1 bei $1,21 \pm 0,19$ (Abbildung 27, Tabelle 30). Die Gruppen 3 und 55 haben höhere, die Gruppen 5 und 6 niedrigere Mittelwerte (Abbildung 27, Tabelle 30). Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen und Gruppe 1. Auf eine Untersuchung der weiteren Gruppen wurde verzichtet.

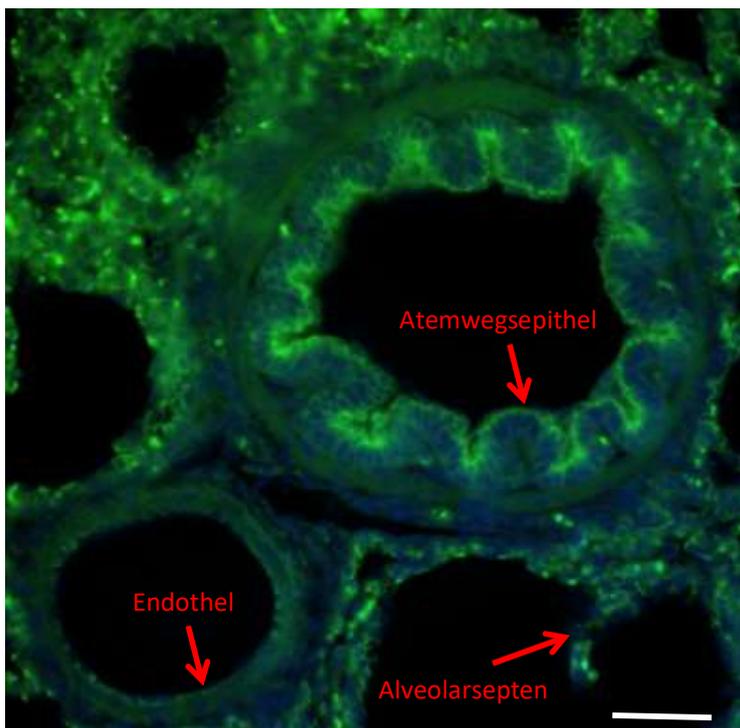


Abbildung 25: Immunlokalisation von ZO-1 (grün) in Alveolarsepten, im Endothel und im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

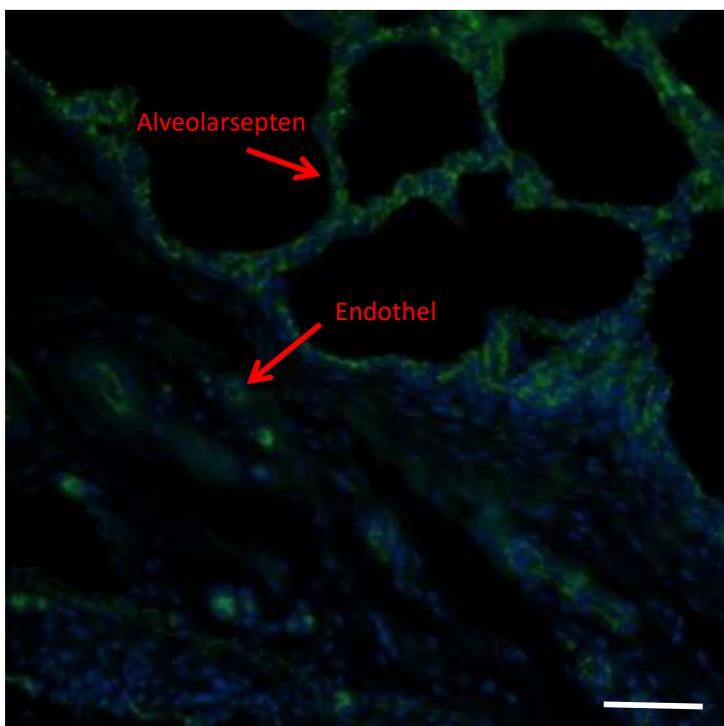


Abbildung 26: Immunlokalisation von ZO-1 (grün) in Alveolarsepten und im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

ZO1

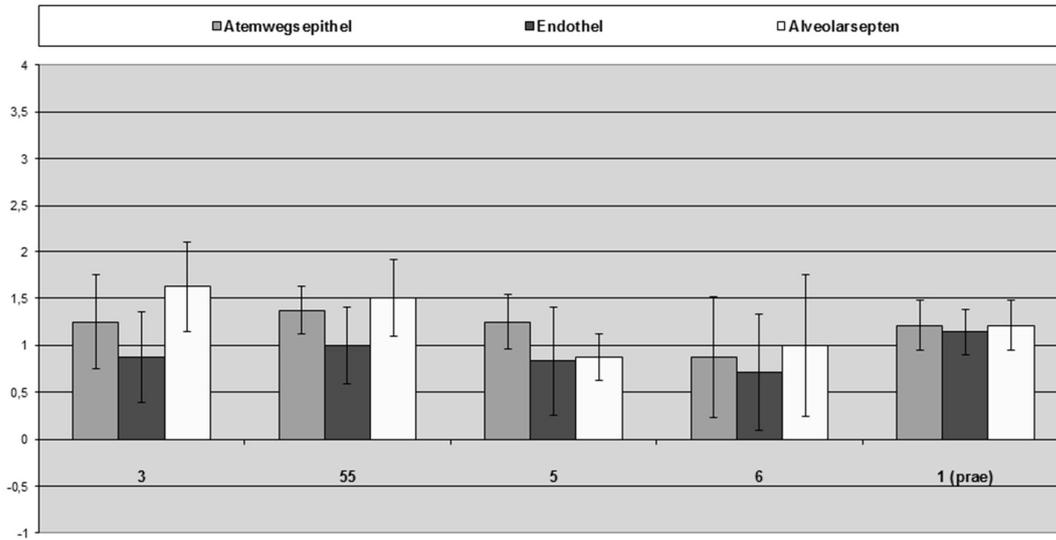


Abbildung 27: ZO-1 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 28 bis Tabelle 30). n = 2 (Gruppe 3), n = 3 (Gruppe 55), n = 4 (Gruppe 5), n = 7 (Gruppe 6), n = 7 (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). n = unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,250	0,226	0,781	1,719
55	1,375	0,226	0,906	1,844
5	1,250	0,226	0,781	1,719
6	0,875	0,160	0,544	1,206
1 (Prae)	1,214	0,171	0,860	1,568

Tabelle 28: Intensität von ZO-1 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,875	0,249	0,358	1,392
55	1,000	0,249	0,483	1,517
5	0,625	0,249	0,108	1,142
6	0,713	0,176	0,347	1,078
1 (Prae)	1,143	0,188	0,752	1,533

Tabelle 29: Intensität von ZO-1 im Endothel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,625	0,257	1,092	2,158
55	1,500	0,257	0,967	2,033
5	0,875	0,257	0,342	1,408
6	1,000	0,182	0,623	1,377
1 (Prae)	1,214	0,194	0,812	1,617

Tabelle 30: Intensität von ZO-1 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen

E-Cadherin

E-Cadherin konnte im Atemwegsepithel apikolateral an den Zellmembranen nachgewiesen werden, in den Alveolarsepten konnte E-Cadherin an den Zellmembranen gefunden werden (Abbildung 28, Abbildung 29). Im Endothel konnte E-Cadherin in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden, obwohl es in der Literatur auch im Endothel beschrieben wird. Weder im Atemwegsepithel noch in den Alveolarsepten konnte ein nennenswerter Einfluss der experimentellen Einflüsse (Schädigung durch Aspiration, Systemunterschiede und Behandlung) auf die Immunreaktivität von E-Cadherin beobachtet werden (Abbildung 30, Tabelle 31, Tabelle 32, Tabelle 1).

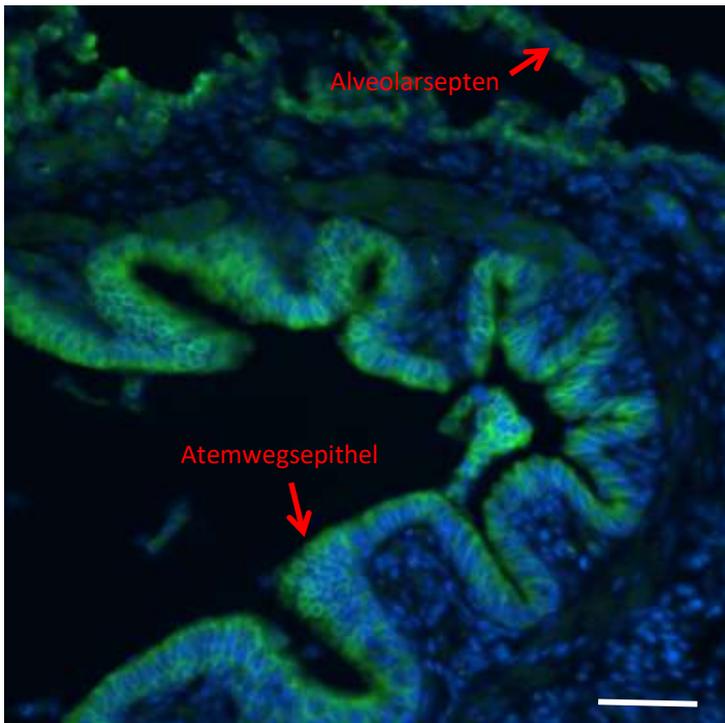


Abbildung 28: Immunlokalisation von E-Cadherin (grün) in Alveolarsepten und im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

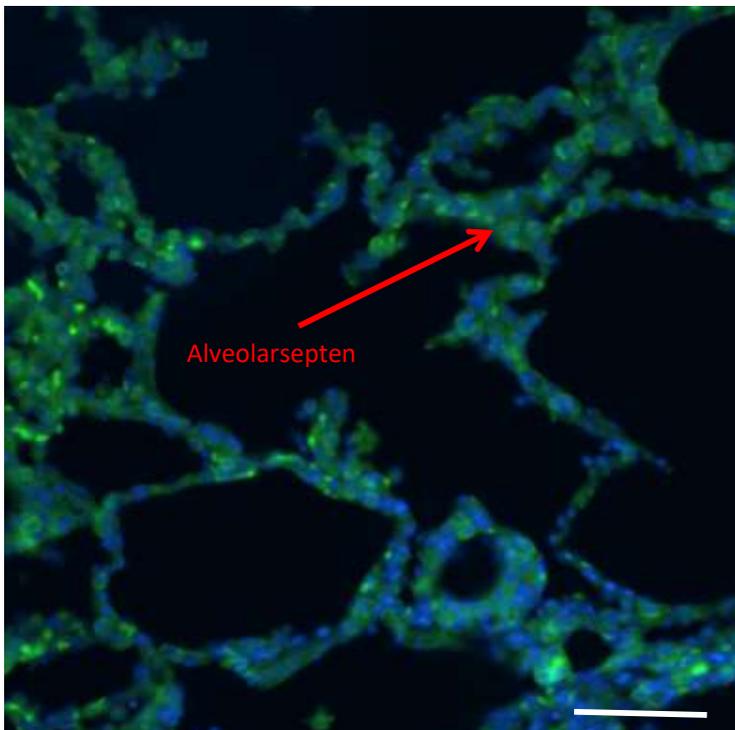


Abbildung 29: Immunlokalisation von E-Cadherin (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

E-Cadherin

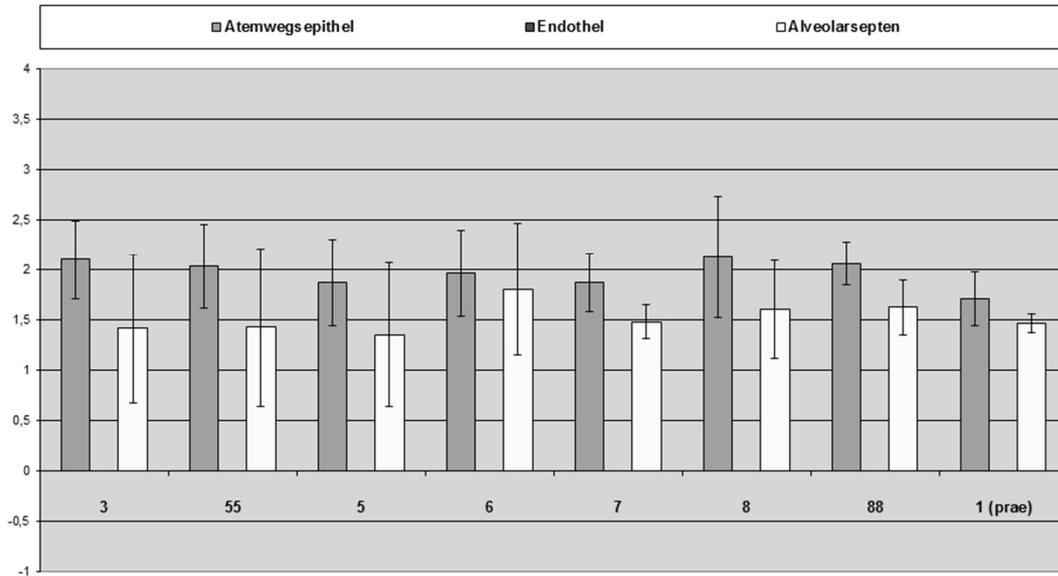


Abbildung 30: E-Cadherin Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 31 und Tabelle 32). n = 6 (Gruppe 3), n = 5 (Gruppe 55), n = 6 (Gruppe 5), n = 7 (Gruppe 6), n = 6 (Gruppe 7), n = 8 (Gruppe 8), n = 6 (Gruppe 88), n = 7 (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). n = unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	2,108	0,130	1,850	2,367
55	1,775	0,159	1,459	2,091
5	1,875	0,130	1,617	2,133
6	1,962	0,125	1,713	2,210
7	1,867	0,130	1,608	2,125
8	2,110	0,142	1,827	2,393
88	2,042	0,130	1,783	2,300
1 (Prae)	1,714	0,170	1,376	2,052

Tabelle 31: Intensität von E-Cadherin im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,417	0,166	1,086	1,747
55	1,250	0,203	0,845	1,655
5	1,350	0,166	1,019	1,681
6	1,808	0,160	1,490	2,125
7	1,483	0,166	1,153	1,814
8	1,620	0,182	1,258	1,982
88	1,642	0,166	1,311	1,972
1 (Prae)	1,457	0,218	1,024	1,890

Tabelle 32: Intensität von E-Cadherin in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen

β-Catenin

β-Catenin wird im Kontrollgewebe (Gruppe 1) im Atemwegsepithel (Abbildung 31), im Endothel (Abbildung 32) und in den Alveolarsepten (Abbildung 33) an der Zellmembran gefunden.

Im Atemwegsepithel liegt der Mittelwert in der Kontroll-Gruppe 1 bei $1,86 \pm 0,24$ (Abbildung 34, Tabelle 33). Die Mittelwerte der anderen Gruppen liegen z.T. deutlich unterhalb dieses Mittelwertes. Es bestehen aber keine signifikanten Unterschiede. Allerdings ist der Unterschied zwischen Kontroll-Gruppe 1 und Gruppe 3 ($p=0,059$) nur knapp über der Signifikanz-Grenze (Abbildung 34, Tabelle 33).

Im Endothel weist die Kontrollgruppe (Gruppe 1) einen Mittelwert von $1,50 \pm 0,21$ (Abbildung 34, Tabelle 34) auf. Alle experimentellen Einflüsse führen zu einer leichten Erniedrigung des Immunreaktivitätsscores. Die ist besonders deutlich für die Gruppen 3 und 88, am wenigsten deutlich für die Gruppe 9. Signifikant niedriger als die Kontrollgruppe (Gruppe 1) sind die Werte der Gruppen 3, 6, 8 und 88. Weitere signifikante Unterschiede bestehen zwischen Gruppe 3 und 9, Gruppe 3 und 7 sowie Gruppe 9 und 88 (Abbildung 34, Tabelle 34).

In den Alveolarsepten liegt der Mittelwert der Kontrollgruppe (Gruppe 1) bei $0,97 \pm 0,16$ (Abbildung 34, Tabelle 35). Alle experimentellen Einflüsse führen zu einer Herabregulation. Diese ist nur mäßig bei Gruppe 5 und 8 und sehr stark ausgeprägt bei den Gruppen 3, 6 und 55 ($p<0,05$). Gruppe 6 weist den niedrigsten Mittelwert auf und es bestehen signifikante Unterschiede auch zu den Gruppen 5, 7, 8 und 9. Von Gruppe 3 ausgehend sind signifikante Unterschiede der Mittelwerte auch zu den Gruppen 5, 7, 8 und 9 vorhanden (Abbildung 34, Tabelle 35).

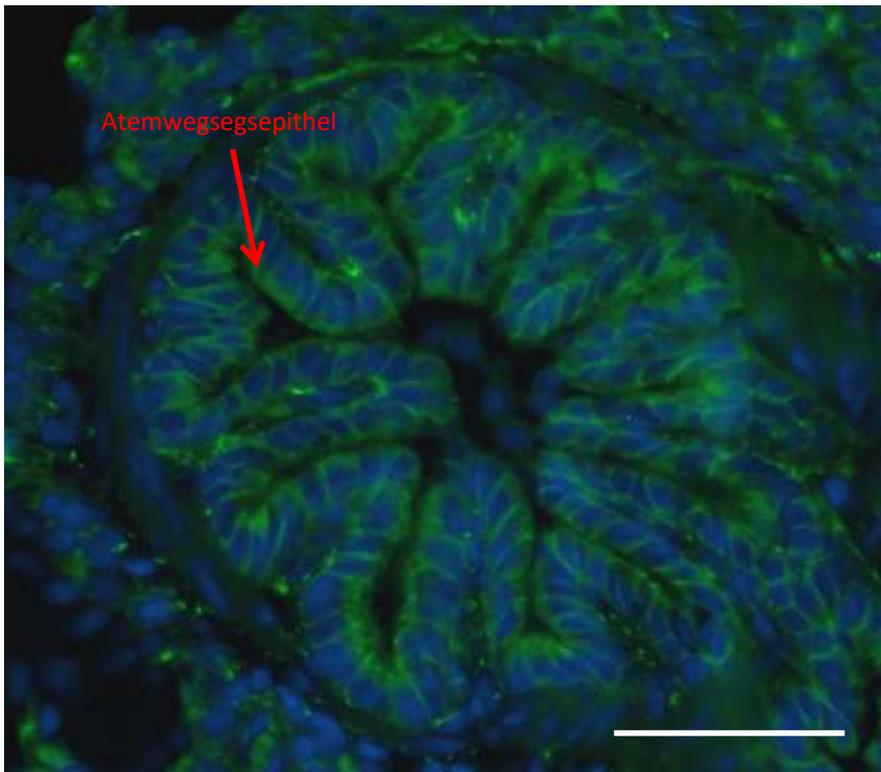


Abbildung 31: Immunlokalisation von β -Catenin (grün) im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μ m

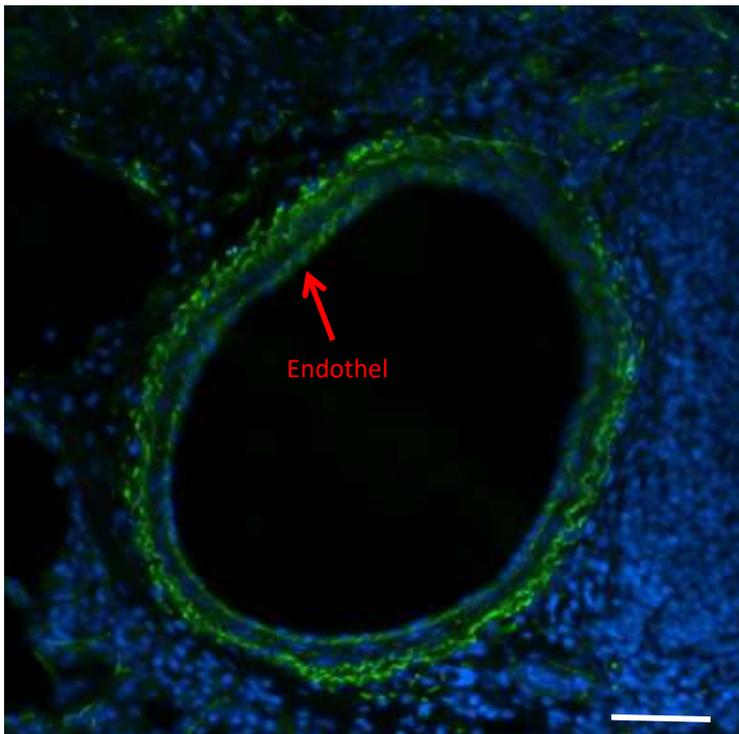


Abbildung 32: Immunlokalisation von β -Catenin (grün) im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μ m

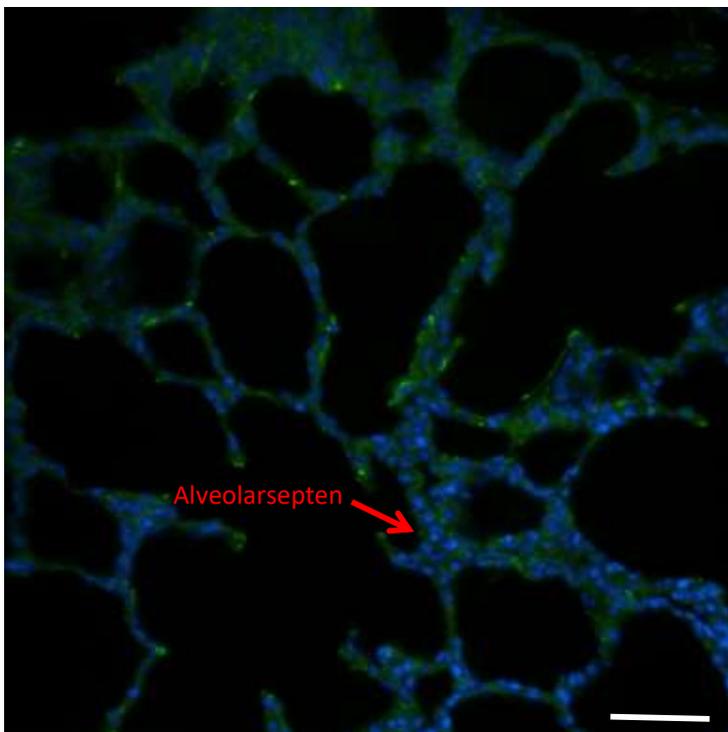


Abbildung 33: Immunlokalisation von β -Catenin (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μ m

β-Catenin

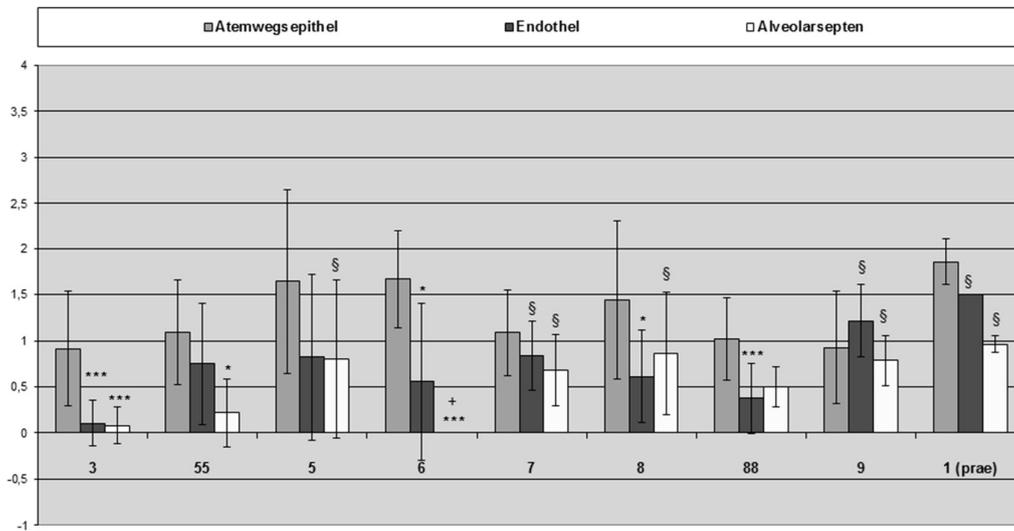


Abbildung 34: β-Catenin Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarsepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 33 bis Tabelle 35). Signifikanzen zu Gruppe 1 (Prae-Gruppe) $p < 0,05 = *$, $p \leq 0,01 = **$, $p \leq 0,001 = ***$. Signifikanzen zu Gruppe 3 $p < 0,05 = §$. Signifikanzen der Gruppe 5 mit Gruppe 6 und Gruppe 9 $p < 0,05 = +$. $n = 6$ (Gruppe 3), $n = 5$ (Gruppe 55), $n = 6$ (Gruppe 5), $n = 7$ (Gruppe 6), $n = 6$ (Gruppe 7), $n = 7$ (Gruppe 8), $n = 6$ (Gruppe 88), $n = 7$ (Gruppe 9), $n = 7$ (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). $n =$ unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,908	0,184	0,542	1,275
55	1,088	0,225	0,639	1,536
5	1,650	0,202	1,249	2,051
6	1,644	0,212	1,221	2,068
7	1,109	0,192	0,726	1,492
8	1,422	0,212	0,999	1,845
9	0,929	0,241	0,449	1,408
88	1,017	0,184	0,650	1,383
1 (Prae)	1,857	0,241	1,377	2,337

Tabelle 33: Intensität von β-Catenin im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,108	0,157	-0,205	0,421
55	0,750	0,193	0,367	1,133
5	0,820	0,172	0,477	1,163
6	0,556	0,182	0,194	0,917
7	0,855	0,164	0,528	1,182
8	0,611	0,182	0,250	0,973
9	1,214	0,206	0,804	1,624
88	0,375	0,157	0,062	0,688
1 (Prae)	1,500	0,206	1,090	1,910

Tabelle 34: Intensität von β -Catenin im Endothel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,083	0,125	-0,165	0,331
55	0,213	0,153	-0,091	0,516
5	0,800	0,136	0,528	1,072
6	0,000	0,144	-0,286	0,286
7	0,682	0,130	0,423	0,941
8	0,867	0,144	0,580	1,153
9	0,786	0,163	0,461	1,110
88	0,500	0,125	0,252	0,748
1 (Prae)	0,971	0,163	0,647	1,296

Tabelle 35: Intensität von β -Catenin in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen

Cx43

Connexin 43 (Cx43) wird im Kontrollgewebe (Gruppe 1) in den Alveolarsepten gefunden (Abbildung 35). Im Endothel wird es in dieser Arbeit im Kontrollgewebe nicht exprimiert, im Gegensatz zur Literatur, in der Cx43 teilweise auch im Endothel beschrieben wird (O'Donnell et al. 2014). Bei einigen Gruppen des Projekts ist Cx43 jedoch nach experimentellen Einflüssen auch im Endothel vorhanden.

Während in der Kontrollgruppe (Gruppe 1) Cx43 im Endothel nicht exprimiert wird, wird es in den Gruppen 5, 6 und 55 deutlich, in den Gruppen 3 und 88 marginal gefunden (Abbildung 36, Tabelle 36). Neben der Kontroll-Gruppe 1 unterscheiden sich die Gruppen 3, 7, 8, 9 und 88 signifikant von Gruppe 5.

In den Alveolarsepten liegt der Mittelwert der Kontroll-Gruppe 1 bei $1,29 \pm 0,14$ (Abbildung 36, Tabelle 37). Kein experimenteller Einfluss führt zu einer deutlichen Veränderung. Durch die experimentellen Einflüsse der Gruppen 5, 6 und 9 hat man eine leichte, aber nicht signifikante Herabregulation.

Im Atemwegsepithel konnte in dieser Arbeit kein Cx43 nachgewiesen werden, obwohl es teilweise in der Literatur (Huang et al. 2003) als im Atemwegsepithel vorkommend beschrieben wird (Abbildung 36).

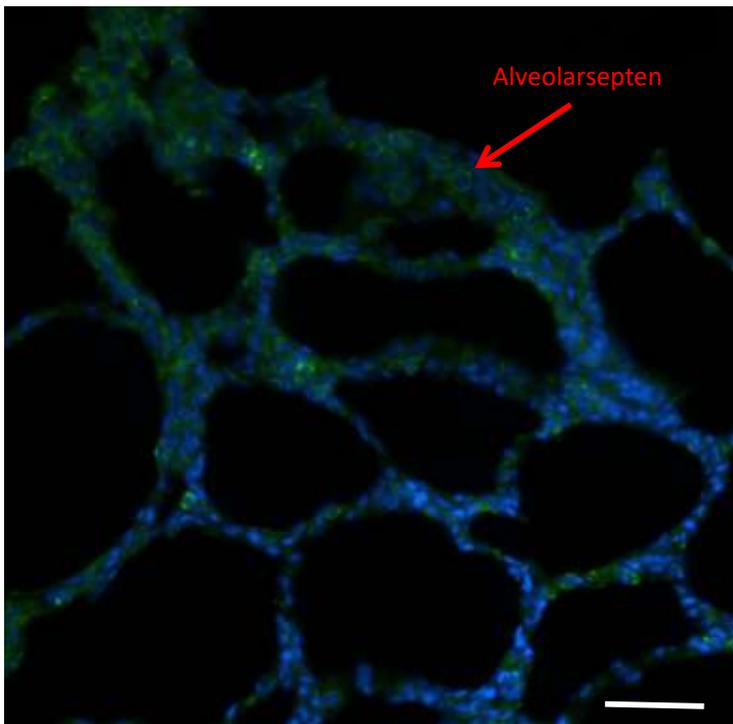


Abbildung 35: Immunlokalisation von Cx43 (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm

Cx43

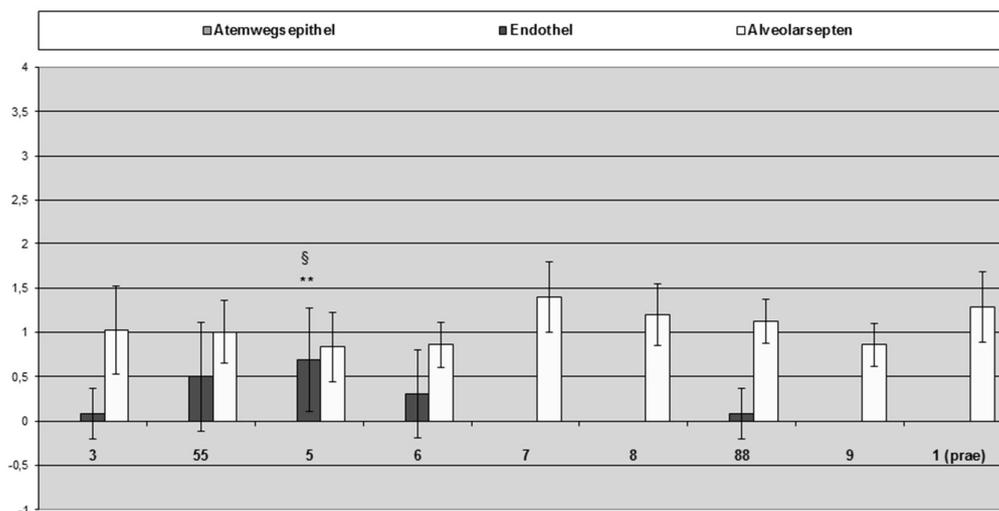


Abbildung 36: Cx43 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen. Die Säulen geben jeweils die arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Versuchsgruppen in den Lokalisationen Atemwegsepithel, Endothel und Alveolarsepten bezogen auf die Intensität der Fluoreszenz an. (siehe auch Tabelle 36 und Tabelle 37). Signifikanzen zu Gruppe 1 (Prae-Gruppe) $p < 0,05 = *$, $p \leq 0,01 = **$, $p \leq 0,001 = ***$. Signifikanzen zu Gruppe 3 $p < 0,05 = §$. $n = 6$ (Gruppe 3), $n = 5$ (Gruppe 55), $n = 6$ (Gruppe 5), $n = 7$ (Gruppe 6), $n = 6$ (Gruppe 7), $n = 8$ (Gruppe 8), $n = 6$ (Gruppe 88), $n = 7$ (Gruppe 9), $n = 7$ (Gruppe 1 (Prae-Gruppe)). $n =$ unterschiedliche Schweine.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	0,083	0,094	-0,104	0,271
55	0,500	0,146	0,210	0,790
5	0,700	0,109	0,484	0,916
6	0,300	0,109	0,084	0,516
7	0,000	0,094	-0,187	0,187
8	0,000	0,103	-0,205	0,205
9	0,000	0,123	-0,245	0,245
88	0,083	0,094	-0,104	0,271
1 (Prae)	0,000	0,123	-0,245	0,245

Tabelle 36: Intensität von Cx43 im Endothel in den verschiedenen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
3	1,033	0,104	0,827	1,240
55	1,000	0,160	0,680	1,320
5	0,833	0,120	0,595	1,072
6	0,867	0,120	0,628	1,105
7	1,400	0,104	1,194	1,606
8	1,190	0,113	0,964	1,416
9	0,857	0,136	0,587	1,127
88	1,125	0,104	0,919	1,331
1 (Prae)	1,286	0,136	1,016	1,556

Tabelle 37: Intensität von Cx43 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden einige Proteine, die in Tight-Junctions, Adhärenz-Verbindungen und Gap-Junctions vorkommen, hinsichtlich ihrer Anwesenheit und Verteilung in den verwendeten Schweinelungen des Projekts zur Optimierung eines Reperfusionmodells zur Erweiterung des Organspenderpools bei Lungentransplantationen am Universitätskrankenhaus Eppendorf in Hamburg untersucht.

Claudin-3

Bei Claudin-3 handelt es sich in den Atemwegsepithelzellen laut Coyne et al. 2003 um ein eher abdichtendes Protein. Eine erniedrigte Expression deutet somit auf eine verminderte, eine erhöhte Expression auf eine erhöhte Barriere hin.

Im Atemwegsepithel findet man für Claudin-3 keine signifikante Veränderung durch die verschiedenen experimentellen Einflüsse zur Kontrolle (Prae-Gruppe (Gruppe 1)). Allerdings findet man für die Gruppen, bei denen ein offenes System genutzt wurde und eine Rekonditionierung mit Steen-Solution und Erythrozytenkonzentrat als Rekonditionierungslösung durchgeführt wurde (3, 6 und eingeschränkt auch 5), eine Erniedrigung. Dabei scheint es keine Auswirkung zu haben, ob eine Aspiration stattgefunden hat oder intensivmedizinische Maßnahmen angewendet wurden. Bei Gruppe 7 ist der Mittelwert ebenfalls erniedrigt. Bei dieser Gruppe wurde ebenfalls eine Rekonditionierung mit Steen-Solution und Erythrozytenkonzentrat als Rekonditionierungslösung, allerdings in einem geschlossenen System, angewendet. Bei den anderen Gruppen, bei denen ein geschlossenes System verwendet wurde und das Erythrozytenkonzentrat fehlte bzw. verzögert hinzugefügt wurde, sind die Mittelwerte nahezu unverändert. Nach Aspiration ohne Rekonditionierung im offenen System ist der Mittelwert leicht erhöht (Gruppe 55), im Vergleich zu Gruppe 3 sogar signifikant. Diese Beobachtungen geben eventuell einen Hinweis darauf, dass eine sofortige Zugabe von Erythrozytenkonzentrat zu einer Erniedrigung von Claudin-3 im Atemwegsepithel führt. Diese Erniedrigung des eher abdichtenden Proteins in den Atemwegsepithelzellen (Coyne et al. 2003) könnte zu einer verminderten Barrierefunktion führen. Auf der anderen Seite könnte die leichte Erhöhung in Gruppe 55 auf eine Reaktion als Schutzmechanismus hindeuten.

Verglichen mit den klinisch-funktionellen Daten (PVR, Compliance und POK) sowie den histologischen Daten (LIS) kann man feststellen, dass es auch beim PVR besonders in den Gruppen 3, 5, 7 und (eingeschränkt auch 6) zu einer Erhöhung und somit Verschlechterung

der Lungenfunktion kommt. Interessanterweise ist der PVR der Gruppe 55 nur leicht erhöht, obwohl man nach der Schädigung durch Aspiration eine stärkere Verschlechterung erwarten würde. Die Compliance und der POK zeigen für die Gruppen 55 und 5 eine deutliche Erniedrigung und somit Verschlechterung der Lungenfunktion. Die histologischen LIS Daten sind in den Gruppen 5, 6 und besonders in Gruppe 55 erhöht und zeigen somit eine relativ starke Schädigung. Dies ist auch gut nachvollziehbar, da es in diesen Gruppen die stärksten Schädigungen durch die Aspiration gab. In Gruppe 7 kommt es beim LIS nur zu einer leichten Erhöhung, in Gruppe 3 noch geringer. Warum es in den Gruppen 3 und 55 zu Abweichungen beim PVR im Vergleich mit den Parametern Compliance, POK und LIS gibt, kann man momentan nicht erklären. Es hat aber den Anschein, dass der pulmonale Gefäßwiderstand evtl. einen Einfluss auf Claudin-3 im Atemwegsepithel haben könnte.

Im Endothel findet man für alle experimentellen Einflüsse eine leichte Erhöhung der Claudin-3 Intensität, die für die experimentellen Einflüsse in Gruppe 5 und 55 am stärksten ausfallen. Bei Gruppe 55 ist diese Erhöhung signifikant. Dies deutet darauf hin, dass alle experimentellen Einflüsse, besonders die mit einer Schädigung durch Aspiration (Gruppe 55, 5 und 6), zu einer generellen Erhöhung von Claudin-3 im Endothel führen. Dies passt auch zu den histologischen LIS Daten, die eine relativ starke Schädigung in diesen Gruppen zeigt. Die Compliance und der POK zeigen auch eine deutliche Verschlechterung der Lungenfunktion in den Gruppen 55 und 5. Wir konnten somit feststellen, dass Claudin-3 im Endothel der Lunge bei Schädigung durch Aspiration erhöht ist. Wenn Claudin-3 sich im Endothel als eher abdichtendes Protein, wie von Coyne et al. 2003 für die Atemwegsepithelzelle beschrieben, verhält, könnte die Erhöhung als eine Art Rettungsmechanismus dienen. Dies wäre eine Möglichkeit einem endothelialen Leck vorzubeugen oder es abzumildern. Dieser Effekt scheint dann durch die Rekonditionierung verringert zu werden. Die signifikante Erhöhung von Claudin-3 in Gruppe 55 könnte darauf hindeuten, dass eine Rekonditionierung, die in den anderen Gruppen vorgenommen wurde, positiven Effekt auf die Barrierefunktion hat. Zusätzliche intensivmedizinische Maßnahmen, wie in Gruppe 6 vorgenommen, scheinen diesen Effekt zu verstärken.

In den Alveolarsepten sinkt die Barrierefunktion bei gesteigerter Expression von Claudin-3 (Mitchell et al. 2011). Wang et al. 2003 vermuten, dass Änderungen im Claudin Expressionslevel mit Änderungen der Funktion der Alveolarseptenbarriere korreliert sind. Sie haben bei Zellkulturen von Alveolarsepten die parazelluläre Permeabilität durch Behandlung mit Methanandamid (Cannabinoid) erhöht und dabei einen 2-3 fachen Anstieg von Claudin-3 festgestellt.

Die experimentellen Einflüsse des Projekts führen auch in den Alveolarsepten zu einer leichten Erhöhung von Claudin-3. Besonders deutlich ist diese Erhöhung bei Gruppe 6, die sich auch signifikant von der Kontroll-Gruppe 1 unterscheidet. Durch die Beobachtungen von Mitchell et al. 2011 und Wang et al. 2003 kann dies ein Hinweis auf eine gesunkene Barrierefunktion in den Alveolarsepten sein. Scheinbar führen alle experimentellen Einflüsse, sowohl im offenen als auch im geschlossenen System, zu solch einer Veränderung der Alveolarseptenbarriere. Da dieser Effekt bei Gruppe 6 besonders deutlich ist, kann es ein Hinweis darauf sein, dass die intensivmedizinischen Maßnahmen, die in dieser Gruppe zusätzlich vorgenommen wurden, in Bezug auf Claudin-3 in den Alveolarsepten eher negative Auswirkungen haben.

Claudin-4

Bei Claudin-4 handelt es sich um ein Tight-Junction Protein, das dazu tendiert durchlässige Tight-Junctions dichter zu machen (Van Itallie et al. 2001). Bei den Untersuchungen zu diesem Projekt konnte Claudin-4 nur im Atemwegsepithel nachgewiesen werden. Es kam zu keinen nennenswerten Veränderungen von Claudin-4 in den Gruppen des Projektes. Dies deutet darauf hin, dass die experimentellen Einflüsse dieses Projektes keine Auswirkungen auf Claudin-4 im Atemwegsepithel haben. In anderen Arbeiten findet man ein Vorkommen von Claudin-4 auch in den Alveolarsepten, teilweise schwach exprimiert (Kaartenaho-Wiik et al. 2009; La Femina et al. 2010; Wang et al. 2003; Soini et al. 2011). Da es sich in den vorgenannten Arbeiten um Lungengewebe und Zellkulturen von Menschen bzw. Ratten handelt, wäre es möglich, dass Claudin-4 aufgrund eines speziesspezifischen Unterschiedes hier nicht in den Alveolarsepten nachgewiesen werden konnte. Der Grund könnte aber auch in den Spezifitäten der verwendeten Antikörper oder in den Färbebedingungen liegen.

Claudin-5

Claudin-5 ist bekannt als abdichtendes Claudin in Endothelien. Es spielt eine wichtige Rolle bei der Barrierefunktion der Blut-Hirn-Schranke (Nitta et al. 2003). Über seine Rolle außerhalb von Endothelien ist bislang noch weniger bekannt. Claudin-5 konnte im Atemwegsepithel in allen Gruppen außer Gruppe 6 nicht nachgewiesen werden. Auch in Gruppe 6 war nur bei wenigen Präparaten eine leichte Färbung zu sehen. Die Relevanz dieser Färbung müsste in weiteren Versuchen abgeklärt werden. Andere Arbeitsgruppen wie Kaartenaho-Wiik et al. 2009 haben im Atemwegsepithel der Lunge eine schwache Expression von Claudin-5 festgestellt.

Im Endothel wurde ein deutlich negativer Einfluss, d.h. eine Verminderung der Claudin-5 Immunintensität, durch die Behandlung im offenen System festgestellt. Das offene System scheint hier großen Einfluss zu haben, da die Verminderung sowohl mit als auch ohne Aspiration, Rekonditionierung und intensivmedizinische Maßnahmen auftritt. Dieser Effekt ist bei den Gruppen 5 und 6 besonders deutlich mit einem signifikanten Unterschied zu Gruppe 1. Zusätzlich könnte die Aspiration eine Rolle spielen, da in der Gruppe 3 mit dem offenen System ohne Aspiration eine höhere Immunintensität vorhanden ist als in den übrigen Gruppen im offenen System, allerdings niedriger als in Gruppe 1. Durch das zusätzliche ATG in Gruppe 9 scheint eine deutliche Verbesserung möglich zu sein, die aber die Ausgangswerte nicht wieder herstellt. Dazu passen auch weitestgehend die histologischen (LIS) Daten, bei denen aber in Gruppe 55 die stärkste Schädigung vorliegt. Bei den klinisch funktionellen Daten sind bei Gruppe 5 auch die Compliance, der POC und der PVR relativ schlecht, diese können aber durch die intensivmedizinischen Maßnahmen in Gruppe 6 wieder verbessert werden. Diese Verbesserungen der klinisch funktionellen Daten scheint aber auf Claudin-5 im Endothel nur geringe Auswirkungen zu haben. Erst in Gruppe 9, mit zusätzlicher Gabe von ATG nähert sich Claudin-5 im Endothel wieder den Werten der Gruppe 1 an. In der Gruppe 9 hat sich der LIS passend dazu auch wieder deutlich verbessert. Im geschlossenen System ist keine Abnahme der Immunintensität zu beobachten, außer etwas bei Gruppe 88, in der im Verlauf der Rekonditionierung das Erythrozytenkonzentrat zugegeben wird. Claudin-5 im Endothel scheint mehr an die histologischen Gegebenheiten gebunden zu sein, als an die klinisch-funktionellen.

Auch in den Alveolarsepten führt das offene System zu einer Erniedrigung von Claudin-5, die allerdings im Vergleich zu Gruppe 1 nicht signifikant ist. Interessanterweise scheint diese Erniedrigung aspirationsabhängig zu sein, da sie in Gruppe 3 nicht gefunden wird bzw. kann sie vermutlich durch Zugabe von ATG (Gruppe 9) aufgehoben werden. Der histologische LIS spiegelt ein sehr ähnliches Bild wider. In den Gruppen 55, 5 und etwas abgeschwächt in Gruppe 6 liegt die höchste Schädigung vor. Eine Erniedrigung der Claudin-5 Intensität in den Alveolarsepten gibt somit einen Hinweis auf eine histologisch sichtbare Schädigung. Auch der POK und die Compliance zeigen in den Gruppen 55 und 5, allerdings nicht in Gruppe 6 eine Verschlechterung der Lungenfunktion auf. Im geschlossenen System ist die Intensität von Claudin-5 sogar leicht, wenn auch nur tendenziell, erhöht. Dies ist aber nicht der Fall in der Gruppe 88, in der das Erythrozytenkonzentrat im Laufe der Rekonditionierung zugegeben wird. Bei den Gruppen des geschlossenen Systems ist auch beim LIS und den klinisch funktionellen Daten, bis auf den PVR deutlich geringere Schädigungen/Abweichungen zur Prae-Gruppe (Gruppe 1) festzustellen.

Overgaard et al. 2011 fassen zusammen, dass Claudin-5 eher mit abdichtenden Eigenschaften assoziiert wird, wobei allerdings ein Anstieg der Claudin-5 Expression in Atemwegsepithel und Alveolarsepten in Korrelation mit erniedrigter Barrierefunktion steht. Die tendenzielle Erhöhung von Claudin-5 in den Alveolarsepten der Gruppen 7 und 8 deutet anhand der histologischen und klinisch-funktionellen Daten in diesem Fall eher nicht auf eine erniedrigte Barrierefunktion hin. Es scheint aber durch die Erniedrigung von Claudin-5 mit seinen abdichtenden Eigenschaften zu einer Verringerung der Abdichtung zu kommen.

Occludin

Occludin wurde in Versuchen mit Zellkulturen als Faktor, der die Dichtigkeit von Tight-Junctions bestimmt, identifiziert (u.a. McCarthy et al. 1996; als Übersicht: Raleigh et al. 2010). Allerdings zeigen Occludin-ko-Mäuse keine grundlegende Veränderung von Barrieren, es sind aber Langzeiteffekte wie verringertes Wachstum nach der Geburt, Hodenatrophie, Infertilität bei Männchen, Speicheldrüsendysfunktion, chronische Entzündung und Hyperplasie des Magenepithels, Verkalkungen im Gehirn und Dickenabnahme des Kompaktknochens zu beobachten (Saitou et al. 2000). Somit ist Occludin vermutlich vor allem für die Regulation von Tight-Junctions wichtig und ihre Rolle könnte sich deutlicher nach einer Belastung der Barriere zeigen.

Im Atemwegsepithel beobachtet man einen negativen Einfluss des offenen Systems mit Aspiration auf die Occludin Expression. Eine zusätzliche Rekonditionierung (Gruppe 5 und 6) führt zu einer signifikanten Verringerung der Occludin Expression und verstärkt somit den negativen Einfluss auf die Occludin Expression. Ohne Aspiration ist der Effekt nicht so deutlich. Dies scheint ein Hinweis darauf zu sein, dass die Summierung der experimentellen Einflüsse (Behandlung im offenen System, Aspiration, Rekonditionierung) zu einer verstärkten Belastung auf die Atemwegsepithelbarriere, insbesondere auf Occludin, führt. Im geschlossenen System ohne Aspiration kommt es mit Rekonditionierung nur zu einer ganz leichten Erniedrigung der Occludin Expression. Die Rekonditionierung alleine scheint diesen negativen Effekt somit nicht auszulösen. Das offene System und die Aspiration haben vermutlich größeren Einfluss.

Bei dem Vergleich mit den klinisch funktionellen Werten (PVR, Compliance und POK) fällt auf, dass es bei den klinisch funktionellen Werten bereits in Gruppe 6 zu einer deutlichen Verbesserung nach Aspiration durch Rekonditionierung mit intensivmedizinischen Maßnahmen kommt. Bei Occludin ist aber eine signifikante Verringerung in den Gruppen 5 und 6 festgestellt worden, die Verringerung in Gruppe 55 ist jedoch nicht so stark. Dies ist ein Hinweis darauf, dass sich die Expression von Occludin nicht so schnell verändert wie die

klinisch funktionellen Werte, sondern eher mit Verzögerung bzw. dass Occludin stärker durch die Summierung der Einflüsse, zumindest im offenen System beeinflusst wird. Occludin scheint auch nicht sehr von den histologischen Veränderungen (LIS) beeinflusst zu werden, da diese bereits in Gruppe 55 stark ausgeprägt sind und sich in Gruppe 6 tendenziell verbessert haben. Die Vermutung, dass Occludin eine wichtige Rolle nach einer Belastung der Barriere spielt und es eher zu Langzeiteffekten kommt, würde dazu passen.

Auch im Endothel führt das offene System zu einer signifikanten Erniedrigung der Occludin Expression. Dieser Effekt ist weniger deutlich ohne Aspiration bzw. ohne Rekonditionierung. Somit scheint auch hier eine Summierung der experimentellen Einflüsse den negativen Effekt auf Occludin zu verstärken. Im geschlossenen System ohne Aspiration hat man dagegen nur eine geringe Abnahme und keine signifikanten Unterschiede. Der Vergleich mit den klinisch funktionellen Werten und histologischen Werten (LIS) stellt sich ähnlich wie beim Atemwegsepithel dar.

In den Alveolarsepten kommt es ebenfalls zu einer signifikanten Erniedrigung der Occludin Expression im offenen System bei Aspiration mit Rekonditionierung. Die zusätzlichen Intensivmedizinischen Maßnahmen (in Gruppe 6) führen zu keiner relevanten Veränderung. Bei den Gruppen im offenen System, in denen nur eine Aspiration oder Rekonditionierung durchgeführt wurde, kommt es zwar zu einer leichten Abnahme der Occludin Expression, aber diese ist nicht signifikant. Im geschlossenen System mit Rekonditionierung ist die Abnahme nur geringfügig, wodurch sich die Gruppen im geschlossenen System auch signifikant von den Gruppen im offenen System mit Aspiration und Rekonditionierung unterscheiden. Der Vergleich mit den klinisch funktionellen Werten und histologischen Werten (LIS) stellt sich ähnlich wie beim Atemwegsepithel dar.

Es lässt sich sowohl im Atemwegsepithel, im Endothel als auch in den Alveolarsepten ein ähnliches Verhalten von Occludin beobachten. Scheinbar hat das offene System besonders in Kombination mit Aspiration und Rekonditionierung einen deutlichen Einfluss auf die Abnahme der Occludin Expression. Im geschlossenen System kann man dies nicht in der Form beobachten. Dies könnte ein Hinweis sein, dass das offene System in Bezug auf Occludin schlechter geeignet ist als das geschlossene System. Liu et al. 2014 konnten bereits beobachten, dass die Höhe des Tidalvolumens bei der mechanischen Ventilation auch einen Einfluss auf die Occludin Expression hat. Ein hohes Tidalvolumen führt zu einer signifikanten Reduzierung von Occludin in Rattenlungen. Dagegen sinkt die Expression von Occludin bei einem niedrigen Tidalvolumen nur geringfügig. Dies deutet auch darauf hin, dass eine Abnahme der Occludin Expression mit der Höhe der Belastung der Tight-Junctions in Verbindung steht.

ZO-1

Bei ZO-1 handelt es sich um ein Tight-Junction-Plaques Protein, das für die Gerüstbildung von Tight-Junctions wichtig ist (Ebnet 2008). Es ist aber auch ein Faktor bei der Signalgebung zum Zellkern und kann in Adhärenz-Verbindungen vorkommen (Schneeberger und Lynch 2004; Soini 2011).

Im Atemwegsepithel und im Endothel konnten keine signifikanten Einflüsse durch das offene System oder die anschließenden experimentellen Einflüsse für ZO-1 beobachtet werden. Nur in Gruppe 6 waren die Werte merklich aber nicht signifikant erniedrigt. Dies könnte darauf hinweisen, dass die intensivmedizinische Behandlung zu einer Erniedrigung von ZO-1 im Atemwegsepithel und Endothel führt. Eine geringere Expression von ZO-1 konnten u.a. auch De Boer et al. 2008 bei Bronchialbiopsien von Asthmapatienten im Vergleich zu Nicht-Asthmapatienten feststellen. Sie vermuten, dass die geringere Expression zu einem defekten Atemwegsepithel und einem erhöhten Eindringen von Eosinophilen in das Atemwegsepithel beiträgt. Auch der LIS zeigt eine deutliche Schädigung der Gruppe 6 im Vergleich zur Gruppe 1. Allerdings zeigt der LIS eine noch etwas stärkere Schädigung in den Gruppen 55 und 5, diese hat sich bei ZO-1 aber nicht durch eine Erniedrigung gezeigt. Generell wurden aus technischen Gründen für dieses Protein nur wenige Schweine ausgewertet, so dass eine Erhöhung dieser Zahl den Einfluss der intensivmedizinischen Behandlung abklären könnte. Im Endothel war auch der Wert für die Gruppe 5 deutlich erniedrigt, dies war aber bei Gruppe 55 nicht der Fall. Dies könnte auf einen leicht negativen Effekt der Rekonditionierung in Bezug auf ZO-1 im Endothel hinweisen. Auch dies sollte mit einer größeren Fallzahl nochmal abgeklärt werden. Auf die Untersuchungen im geschlossenen System wurde, wie bereits beschrieben, verzichtet.

In den Alveolarsepten beobachtete man auch eine mäßige Erniedrigung in Gruppe 5, was darauf hindeutet, dass die Rekonditionierung nach Aspiration einen leicht negativen Effekt auf ZO-1 in den Alveolarsepten haben könnte. In Gruppe 6 ist dagegen kaum eine Erniedrigung vorhanden. Dies könnte eventuell ein Hinweis auf einen positiven Einfluss der intensivmedizinischen Behandlungen auf der Ebene der Alveolarsepten sein. Auch die klinisch funktionellen Werte (PVR, Compliance und POK) sind in Gruppe 5 noch deutlich schlechter als in Gruppe 6, in der es zu einer merklichen Verbesserung kommt.

E-Cadherin

E-Cadherin ist ein Adhärenz-Verbindungsprotein. Es ist wichtig für die Zell-Zell-Adhäsion, hat im E-Cadherin/ β -Catenin Komplex eine Rolle in der Signalmodulation (Tian et al. 2011) und ist notwendig für die Bildung von Tight-Junctions sowohl in einschichtigem als auch in mehrschichtigem Epithel (Gumbiner et al. 1988, Tunggal et al. 2005).

Keiner der experimentellen Einflüsse dieses Projekts führte zu einer signifikanten Veränderung von E-Cadherin. In den Arbeiten anderer Gruppen konnte dagegen eine verringerte Expression von E-Cadherin im Atemwegsepithel durch Asthma (De Boer et al. 2008) oder Behandlung mit 1 % Zigarettenrauchextrakt festgestellt werden (Oldenburger et al. 2014). In anderen Arbeiten findet man ein Vorkommen von E-Cadherin auch im Endothel (Kaarteenaho et al. 2010, als Übersicht: Boitano et al. 2004). Da es sich in den vorgenannten Arbeiten um Lungengewebe von Menschen und Ratten handelt, wäre es möglich, dass E-Cadherin aufgrund eines speziesspezifischen Unterschiedes hier nicht im Endothel nachgewiesen werden konnte. Wie oben für Claudin-4 beschrieben, könnte der Unterschied aber auch in den verwendeten Antikörpern und Färbeprotokollen liegen.

β -Catenin

β -Catenin ist ebenfalls ein wichtiger Bestandteil von Adhärenz-Verbindungen und damit wichtig für die Zell-Zell-Adhäsion. Es hat aber ebenfalls eine Rolle bei der Signalmodulation (Tian et al. 2011)

Für β -Catenin zeigte sich im Atemwegsepithel keine signifikante Veränderung. Im Endothel führten alle experimentellen Einflüsse zu einer Herabregulation der Intensität an den Zellgrenzen mit zum Teil signifikantem Unterschied zur Kontrollgruppe 1. Besonders deutlich war die Herabregulation in den Gruppen 3 und 88. Eine Erklärung hierfür kann im Moment nicht gegeben werden. Nur in Gruppe 9 (mit Zugabe von ATG) fällt die Erniedrigung recht gering aus. Es ist möglich, dass das ATG im Endothel den negativen Effekt der experimentellen Einflüsse auf β -Catenin etwas verringert bzw. teilweise verhindern kann. Auch in den Alveolarsepten führen alle experimentellen Einflüsse zu einer Herabregulation der Intensitäten. Dies ist besonders deutlich in den Gruppen 3, 6, und 55. Eine Erklärung hierfür kann ebenfalls im Moment nicht gegeben werden. Auch die klinisch funktionellen und histologischen Daten können keine Erklärung für die Veränderungen bei β -Catenin geben.

Cx43

Cx43 ist ein Gap-Junction Protein, das für die Kommunikation zwischen Zellen wichtig ist. Es wird grundsätzlich in vielen Geweben exprimiert und wird beispielsweise während der Wundheilung essentiell herabreguliert, um Zellen am Wundrand kommunikativ zu vereinzeln (Brandner et al. 2004). In den Alveolarsepten konnten keine nennenswerten Veränderungen von Cx43 beobachtet werden. Im Endothel wurde in der Kontrollgruppe (Gruppe 1) keine Expression festgestellt. Interessanterweise wird es aber nach den experimentellen Einflüssen im offenen System mit Aspiration mit und ohne Rekonditionierung exprimiert. Dies deutet auf eine veränderte Kommunikation hin. Es könnte auch einen Hinweis darauf geben, dass das geschlossene System eventuell schonender ist. Es passt zu den Beobachtungen von O'Donnell et al. 2014, die bei ihren Versuchen mit Lungenendothelzell-Kulturen herausgefunden haben, dass die Expression von Cx43 u.a. bei beatmungsinduzierter Lungenverletzung ansteigt. Durch Zugabe von ATG (Gruppe 9) im offenen System scheint diese Aktivierung der Cx43 Expression nicht induziert zu werden/ kann wieder rückgängig gemacht werden. Im geschlossenen System findet man die Induktion bis auf Einzelfälle nicht. Die klinisch funktionellen Werte und histologischen Werte zeigen auch für die Gruppen 55 und 5 (weniger in Gruppe 6), dass eine Schädigung vorhanden ist, die sich in Gruppe 9 aber wieder deutlich der Gruppe 1 annähert. Bei Gruppe 3 deutet aber nur der PVR auf eine Veränderung hin. Es scheint somit so, als würde die Schädigung durch das offene System bzw. die Aspiration zu einer Aktivierung der Cx43 Expression führen, die in Gruppe 9 aber passend zu den guten klinisch funktionellen und histologischen Werten nicht vorhanden ist. Huang et al. 2003 haben ein Vorkommen von Cx43 auch im Atemwegsepithel festgestellt. Da es sich in dieser Arbeit um menschliche Atemwegzelllinien handelt, wäre es möglich, dass Cx43 aufgrund eines speziesspezifischen Unterschiedes hier nicht im Atemwegsepithel nachgewiesen werden konnte. Der Unterschied könnte aber auch in den verwendeten Antikörpern und Färbeprotokollen liegen.

Gesamtübersicht Vergleich der Gruppen mit Prae

Wenn man alle untersuchten Proteine in der Gesamtübersicht (siehe Tabelle 38 - Tabelle 40) betrachtet, fällt auf, dass im Endothel (Tabelle 38) bei den Aspirationsgruppen, in denen auch der LIS erhöht ist, einige Proteine in veränderter Intensität vorkommen. Die Tight-Junction Proteine Claudin-5 und Occludin sind erniedrigt, während Claudin-3 erhöht ist. Auch das Gap-Junction Protein Cx43 ist dort erhöht. Eine Ausnahme bei den Aspirationsgruppen bildet die Gruppe 9, in der es keine Veränderung von Claudin-5 und Cx43 zur Prae-Gruppe gibt.

In den Gruppen des geschlossenen Systems kommt es im Endothel kaum zu Veränderungen bei den Proteinen. Interessanterweise ist aber β -Catenin sowohl bei den Aspirationsgruppen (außer Gruppe 9) als auch bei den Gruppen des geschlossenen Systems erniedrigt.

Auch im Atemwegsepithel (Tabelle 39) ist Occludin in den Aspirationsgruppen erniedrigt, während Claudin-3 dort nur in Gruppe 55 erhöht ist und ansonsten erniedrigt ist.

In den Alveolarsepten (Tabelle 40) sieht man ähnlich wie im Endothel, dass dort, wo Claudin-5 und Occludin erniedrigt sind (in den Aspirationsgruppen, in den auch der LIS deutlich erhöht ist) Claudin-3 und eingeschränkt auch Cx43 eher erhöht sind. β -Catenin ist in den Aspirationsgruppen, mit Ausnahme von Gruppe 5 und 9 auch erniedrigt.

Im geschlossenen System (außer Gruppe 88) sind sowohl Claudin-3 als auch Claudin-5 erhöht.

Endothel	Cldn-3	Cldn-4	Cldn-5	Ocln	ZO-1	E-Cad	β -Cat	Cx43	Compl	POK	PVR	LIS
3	±	±	<	<	±	±	<<	>	±	>	>>	>
55	>>	±	<<	<	±	±	<	>>	<	<<	>	>>>
5	>	±	<<	<<	±	±	<	>>	<	<<	>>	>>
6	>	±	<<	<<	±	±	<	>>	>	>	>	>>
7	±	Nd	±	<	Nd	±	<	±	±	>	>>	>
8	±	Nd	±	±	Nd	±	<	±	±	>	>	>
88	±	Nd	<	±	Nd	±	<<	>	±	>	>	>
9	Nd	Nd	±	Nd	Nd	Nd	±	±	>	>	>	>

Tabelle 38: Gesamtübersicht Endothel Vergleich der Gruppen mit Prae (Gruppe 1) (Fett = Signifikant, ± = kaum Veränderung, < = leicht verringerte Intensität, << = mittel verringerte Intensität, <<< = stark verringerte Intensität, > = leicht erhöhte Intensität, >> = mittel erhöhte Intensität, >>> = stark erhöhte Intensität, Nd = nicht durchgeführt)

Atemwegs-epithel	Cldn-3	Cldn-4	Cldn-5	Ocln	ZO-1	E-Cad	β-Cat	Cx43	Compl	POK	PVR	LIS
3	<	>	±	<	±	±	<	±	±	>	>>	>
55	>	±	±	<	±	±	<	±	<	<<	>	>>>
5	<	±	±	<<	±	±	±	±	<	<<	>>	>>
6	<	±	>	<<	±	±	±	±	>	>	>	>>
7	<	Nd	±	±	Nd	±	<	±	±	>	>>	>
8	±	Nd	±	±	Nd	±	±	±	±	>	>	>
88	±	Nd	±	±	Nd	±	<	±	±	>	>	>
9	Nd	Nd	±	Nd	Nd	Nd	<	±	>	>	>	>

Tabelle 39: Gesamtübersicht Atemwegsepithel Vergleich der Gruppen mit Prae (Gruppe 1) (Fett = Signifikant, ± = kaum Veränderung, < = leicht verringerte Intensität, << = mittel verringerte Intensität, <<< = stark verringerte Intensität, > = leicht erhöhte Intensität, >> = mittel erhöhte Intensität, >>> = stark erhöhte Intensität, Nd = nicht durchgeführt)

Alveolar-septen	Cldn-3	Cldn-4	Cldn-5	Ocln	ZO-1	E-Cad	β-Cat	Cx43	Compl	POK	PVR	LIS
3	>	±	±	<	±	±	<<	±	±	>	>>	>
55	>	±	<<	<	±	±	<<	±	<	<<	>	>>>
5	>	±	<<	<<	±	±	±	<	<	>	>>	>>
6	>>	±	<	<<	±	±	<<	<	>	>	>	>>
7	>	Nd	>	±	Nd	±	±	±	±	>	>>	>
8	>	Nd	>	±	Nd	±	±	±	±	>	>	>
88	>	Nd	±	±	Nd	±	<	±	±	>	>	>
9	Nd	Nd	±	Nd	Nd	Nd	±	<	>	>	>	>

Tabelle 40: Gesamtübersicht Alveolarsepten Vergleich der Gruppen mit Prae (Gruppe 1) (Fett = Signifikant, ± = kaum Veränderung, < = leicht verringerte Intensität, << = mittel verringerte Intensität, <<< = stark verringerte Intensität, > = leicht erhöhte Intensität, >> = mittel erhöhte Intensität, >>> = stark erhöhte Intensität, Nd = nicht durchgeführt)

Zusammenfassung

Immunhistologischer Nachweis von Zellkontaktproteinen im Rekonditionierungsmodell der Schweinelunge

Jana Sandte

Lungen müssen leider häufig für eine Transplantation abgelehnt werden, da sie unter anderem Ödeme, Atelektasen und eingewanderte inflammatorische Zellen bzw. Pneumonien aufweisen (van Raemdonck et al. 2009).

Die in vitro Rekonditionierung von Lungen als eine Strategie das Missverhältnis zwischen dem Bedarf an Spenderlungen und den für eine Transplantation geeigneten Organen zu verbessern, wurde in einem Projekt zur Optimierung eines Reperfusionssystems bei Lungentransplantationen am Universitätskrankenhaus Eppendorf in Hamburg verfolgt. In diesem Projekt wurde ein ex vivo Rekonditionierungssystem mit einem Protokoll für die Rekonditionierung und einem möglichst optimalen Reperfusionskreislauf erarbeitet. Es wurde auch der Einfluss des Systemaufbaus und der Perfusionslösung sowie eine Lungenschädigung durch Aspiration untersucht (Wipper et al. 2007, 2008, 2009, 2010, 2011).

In der vorliegenden Arbeit sollte nun geklärt werden, inwiefern sich Tight-Junction-, Adhärenz-Verbindungs- und Gap-Junction Proteine durch den Einfluss der Rekonditionierung, der verschiedenen Systemkomponenten und der Schädigung der Lunge durch Aspiration sowie deren unterschiedlichen Behandlungen verändern und inwieweit man diese Veränderungen mit den klinischen und histologischen Parametern des Projektes korrelieren kann. Es gibt bereits Hinweise, dass Tight-Junction Proteine (als Übersicht: Cummins 2012), Adhärenz-Verbindungs-Proteine (De Boer et al. 2008) und Gap-Junction Proteine (Sariieddine et al. 2009) eine Rolle bei Lungenerkrankungen spielen.

Zur Klärung dieser Frage wurde eine immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchung der Versuchsgruppen des Projektes durchgeführt und die Intensität der Fluoreszenz im Atemwegsepithel, Endothel und den Alveolarsepten bewertet.

Als Tight-Junction Proteine wurden Claudin-3, Claudin-4 und Claudin-5, Occludin und ZO-1 untersucht. β -Catenin und E-Cadherin wurden als Vertreter der Adhärenz-Verbindungs-Proteine sowie Cx43 als Vertreter der Gap-Junction Proteine untersucht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass es besonders im Endothel und abgeschwächt auch in den Alveolarsepten in den Aspirationsgruppen des Projektes, in denen auch die klinisch funktionellen Werte und der LIS verändert sind, zu Änderungen in der Fluoreszenzintensität der untersuchten Proteine verglichen mit gesunder Lunge (Prae-Gruppe) kommt. Claudin-5 und Occludin sind dort erniedrigt, während Claudin-3 erhöht ist. Cx43 ist in diesen Gruppen auch erhöht. Interessanterweise kommt es in der Aspirationsgruppe, in der zusätzlich zur Rekonditionierung und den Intensivmedizinischen Maßnahmen noch Antithymozytenglobulin zugegeben wurde, übereinstimmend mit den guten klinischen und histologischen Werten, nicht zu diesen Veränderungen bei Claudin-5 und Cx43.

Auch im Atemwegsepithel fällt auf, dass Occludin in den untersuchten Aspirationsgruppen erniedrigt ist.

In den Versuchsgruppen des geschlossenen Systems kommt es kaum zu Veränderungen der Fluoreszenzintensität verglichen mit der Prae-Gruppe. Eine Ausnahme bildet β -Catenin, das im Endothel teilweise signifikant verringert ist. Allerdings ist β -Catenin in allen Gruppen des Projektes verringert.

Beim Vergleich des geschlossenen Systems mit dem offenen System (Gruppe 3, die als Kontrollgruppe der Aspirationsversuche genutzt wurde) fällt auf, dass das geschlossene System in Bezug auf einige Proteine dem Zustand der gesunden Lunge teilweise etwas näher kommt. Für Occludin zeigt sich dies in allen drei Lokalisationen (Endothel, Atemwegsepithel und Alveolarsepten) aber auch für Claudin-5 und Cx43 im Endothel.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die experimentellen Einflüsse des Projektes einen deutlichen Einfluss auf Tight-Junction-, Adhärenz-Verbindung und Gap-Junction-Proteine haben. Dies zeigt, dass diese Proteine an den Mechanismen, die den (Patho-)physiologischen Veränderungen zugrunde liegen, beteiligt sind.

Summary

Immunohistological verification of cell contact proteins in the pig lung reconditioning model

Jana Sandte

Lungs often have to be rejected from transplantation because they unfortunately include edema, atelectasis and immigrated inflammatory cells or pneumonia (van Raemdonck et al. 2009).

The in vitro reconditioning of lungs as a strategy to improve the mismatch between the need for donor lungs and the organs suitable for transplantation was pursued in a project to optimize a reperfusion model in lung transplants at the University Hospital Eppendorf in Hamburg. In this project, an ex vivo reconditioning system with a protocol for the reconditioning and an as optimal as possible reperfusion cycle was developed. The influence of the system structure and the perfusion solution as well as pulmonary damage by aspiration was also investigated (Wipper et al. 2007, 2008, 2009, 2010, 2011).

The aim of this research was to clarify the extent to which tight-junction, adherence junction and gap-junction proteins change due to the influence of reconditioning, the different system components and the damage of the lungs by aspiration and their different treatments. Additionally an investigation as to how clinical and histological parameters of the project and from this research correlate were conducted. There is already evidence that tight-junction proteins (reviewed by Cummins 2012), adherence binding proteins (De Boer et al. 2008), and gap-junction proteins (Sarieddine et al. 2009) play a role in lung disease.

To clarify this question, an immunofluorescence microscopic examination of the experimental groups of the project was carried out and the intensity of the fluorescence in the respiratory epithelium, endothelium and alveolar septa was evaluated.

As representatives of the tight-junction proteins Claudin-3, Claudin-4 and Claudin-5, Occludin and ZO-1 were selected. β -Catenin and E-Cadherin were studied as representatives of the adherence-binding proteins and Cx43 as representative of the gap-junction proteins.

The results of this study show that changes in the fluorescence intensity of the investigated proteins are observed, compared to healthy lung (prae-group); especially, in the endothelium

and attenuated also in the alveolar septa in the aspiration groups of the project, in which also the clinically functional values and the LIS are changed. Claudin-5 and Occludin are reduced there, while Claudin-3 is increased. Cx43 is also elevated in these groups. Interestingly, in the aspiration group, where antithymocyte globulin was added in addition to the reconditioning and the intensive care measures, there are no changes in Claudin-5 and Cx43 and these values are consistent with the good clinical and histological values.

It is also noticeable in the respiratory epithelium that occludin is decreased in the investigated aspiration groups.

In the experimental groups of the closed system, there are hardly any changes in the fluorescence intensity compared to the prae-group. An exception is β -Catenin, which is partially significantly reduced in the endothelium. However, β -Catenin is reduced in all groups of the project.

When comparing the closed system with the open system (group 3, which was used as a control group of the aspirational experiments), for some proteins it is noticeable that the closed system is somewhat closer to the condition of the healthy lung. For occludin this is evident in all three localizations (endothelium, respiratory epithelium and alveolar septa) but also for Claudin-5 and Cx43 in the endothelium.

In summary, it can be said that the experimental influences of this project have a clear influence on tight-junction, adherence and gap-junction proteins. This shows that these proteins are involved in the mechanisms that underlie the (patho-) physiological changes.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kanülierung der Pulmonalarterie für Perfadexkonservierung.....	- 12 -
Abbildung 2: Vorbereitung für Verbindung mit Rekonditionierungssystem.....	- 13 -
Abbildung 3: Offenes System mit (1) Leukozytenfilter, (2) Reservoir, (3) Deoxigenator und (4) Rollerpumpe.....	- 16 -
Abbildung 4: Geschlossenes System ohne Reservoir mit (1) Zulaufbeutel für Reservevolumen und (2) Zentrifugalpumpe.....	- 17 -
Abbildung 5: Plexiglasbox mit kanülierter und beatmeter Lunge zur Rekonditionierung (1) Zulaufkanüle, (2) Ablaufkanüle und (3) Tubus.....	- 19 -
Abbildung 6: Compliance	- 22 -
Abbildung 7: POK.....	- 23 -
Abbildung 8: PVR.....	- 23 -
Abbildung 9: LIS.....	- 24 -
Abbildung 10: Schematische Darstellung der Gliederung der Lungenlappen (Ghetie, 1958 aus Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich)	- 27 -
Abbildung 11: Schematische Darstellung der Gliederung des Bronchialbaums (Anatomie der Haussäugetiere 2. Auflage von König und Liebich)	- 27 -
Abbildung 12: Lunge eines Kalbs mit Beschriftung (Modifiziert nach: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere 4. Auflage von Liebich)	- 28 -
Abbildung 13: Immunlokalisation von Claudin-3 (grün) im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm.....	- 54 -
Abbildung 14: Immunlokalisation von Claudin-3 (grün) im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm	- 55 -

Abbildung 15: Immunlokalisierung von Claudin-3 (grün) in den Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm.....	55 -
Abbildung 16: Claudin-3 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen.....	56 -
Abbildung 17: Immunlokalisierung von Claudin-4 (grün) im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm.....	58 -
Abbildung 18: Immunlokalisierung von Claudin-4 (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm. Insert: Isotyp-gefärbte Negativkontrolle (ohne DAPI-Färbung).....	59 -
Abbildung 19: Claudin-4 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen.....	59 -
Abbildung 20: Immunlokalisierung von Claudin-5 (grün) in Alveolarsepten und Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm.....	61 -
Abbildung 21: Claudin-5 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen.....	62 -
Abbildung 22: Immunlokalisierung von Occludin (grün) in Alveolarsepten und im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm	64 -
Abbildung 23: Immunlokalisierung von Occludin (grün) im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm	65 -
Abbildung 24: Occludin Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen..	65 -
Abbildung 25: Immunlokalisierung von ZO-1 (grün) in Alveolarsepten, im Endothel und im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm	68 -
Abbildung 26: Immunlokalisierung von ZO-1 (grün) in Alveolarsepten und im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm.....	68 -
Abbildung 27: ZO-1 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen	69 -
Abbildung 28: Immunlokalisierung von E-Cadherin (grün) in Alveolarsepten und im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 µm	71 -

Abbildung 29: Immunlokalisierung von E-Cadherin (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm - 71 -

Abbildung 30: E-Cadherin Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen.- 72 -

Abbildung 31: Immunlokalisierung von β -Catenin (grün) im Atemwegsepithel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm- 74 -

Abbildung 32: Immunlokalisierung von β -Catenin (grün) im Endothel der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm - 75 -

Abbildung 33: Immunlokalisierung von β -Catenin (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm - 75 -

Abbildung 34: β -Catenin Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen- 76 -

Abbildung 35: Immunlokalisierung von Cx43 (grün) in Alveolarsepten der Prae-Gruppe (Gruppe 1). Blau: DAPI-gefärbte Zellkerne. Größenstandard: 50 μm - 78 -

Abbildung 36: Cx43 Intensitäten in den verschiedenen Lokalisationen.- 79 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Versuchsgruppenübersicht	- 14 -
Tabelle 2: Bewertungsschema Histologie für LIS.....	- 20 -
Tabelle 3: LIS – Bewertungsskala.....	- 20 -
Tabelle 4: Bewertungsschema PDI	- 22 -
Tabelle 5: Tabelle Claudin Atemwegsepithel	- 32 -
Tabelle 6: Tabelle Claudin Alveolarsepten	- 33 -
Tabelle 7: Tabelle Claudin Endothel.....	- 33 -
Tabelle 8: Tabelle Claudin-3 bei Erkrankung / Schädigung	- 34 -
Tabelle 9: Tabelle Claudin-4 bei Erkrankung / Schädigung	- 34 -
Tabelle 10: Tabelle Claudin-5 bei Erkrankung / Schädigung	- 34 -
Tabelle 11: Demaskierung (Tec- oder Citrat-Puffer)	- 47 -
Tabelle 12: Waschpuffer (TBST oder PBS).....	- 47 -
Tabelle 13: Verwendeter Block (DAKO-Block oder 5 % Magermilchblock mit Triton).....	- 48 -
Tabelle 14: Primäantikörperverdünnung mit PBS	- 49 -
Tabelle 15: Negativkontrollen mit PBS	- 49 -

Tabelle 16: Verwendete Sekundärantikörper - 50 -

Tabelle 17: Sekundärantikörperverdünnung mit PBS - 50 -

Tabelle 18: Intensität von Claudin-3 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen - 56 -

Tabelle 19: Intensität von Claudin-3 im Endothel in den verschiedenen Gruppen - 57 -

Tabelle 20: Intensität von Claudin-3 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen - 57 -

Tabelle 21: Intensität von Claudin-4 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen - 60 -

Tabelle 22: Intensität von Claudin-5 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen - 62 -

Tabelle 23: Intensität von Claudin-5 im Endothel in den verschiedenen Gruppen - 63 -

Tabelle 24: Intensität von Claudin-5 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen - 63 -

Tabelle 25: Intensität von Occludin im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen - 66 -

Tabelle 26: Intensität von Occludin im Endothel in den verschiedenen Gruppen - 66 -

Tabelle 27: Intensität von Occludin in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen - 66 -

Tabelle 28: Intensität von ZO-1 im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen - 69 -

Tabelle 29: Intensität von ZO-1 im Endothel in den verschiedenen Gruppen - 69 -

Tabelle 30: Intensität von ZO-1 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen - 70 -

Tabelle 31: Intensität von E-Cadherin im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen- 72 -

Tabelle 32: Intensität von E-Cadherin in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen- 73 -

Tabelle 33: Intensität von β -Catenin im Atemwegsepithel in den verschiedenen Gruppen.....- 76 -

Tabelle 34: Intensität von β -Catenin im Endothel in den verschiedenen Gruppen- 77 -

Tabelle 35: Intensität von β -Catenin in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen.....- 77 -

Tabelle 36: Intensität von Cx43 im Endothel in den verschiedenen Gruppen- 79 -

Tabelle 37: Intensität von Cx43 in den Alveolarsepten in den verschiedenen Gruppen.....- 80 -

Tabelle 38: Gesamtübersicht Endothel Vergleich der Gruppen mit Prae (Gruppe 1).....- 90 -

Tabelle 39: Gesamtübersicht Atemwegsepithel Vergleich der Gruppen mit Prae (Gruppe 1)- 91 -

Tabelle 40: Gesamtübersicht Alveolarsepten Vergleich der Gruppen mit Prae (Gruppe 1).....- 91 -

Tabelle 41: Claudin-3 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-3_Atemwegsepithel
Tukey-HSD- 121 -

Tabelle 42: Claudin-3 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-3_Endothel- 123 -

Tabelle 43: Claudin-3 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-3_Alveolarsepten
Tukey-HSD- 124 -

Tabelle 44: Claudin-4 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-4_Atemwegsepithel
Tukey-HSD- 126 -

Tabelle 45: Claudin-5 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-5_Atemwegsepithel Tukey-HSD - 127 -

Tabelle 46: Claudin-5 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-5_Endothel Tukey-HSD - 129 -

Tabelle 47: Claudin-5 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-5_Alveolarsepten Tukey-HSD - 131 -

Tabelle 48: ZO-1 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: ZO-1_Atemwegsepithel Tukey-HSD - 133 -

Tabelle 49: ZO-1 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: ZO-1_Endothel Tukey-HSD - 133 -

Tabelle 50: ZO-1 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: ZO-1_Alveolarsepten Tukey-HSD - 134 -

Tabelle 51: Occludin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Occludin_Atemwegsepithel Tukey-HSD - 135 -

Tabelle 52: Occludin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Occludin_Endothel Tukey-HSD - 136 -

Tabelle 53: Occludin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Occludin_Alveolarsepten Tukey-HSD - 138 -

Tabelle 54: E-Cadherin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: E-Cadherin_Atemwegsepithel Tukey-HSD - 140 -

Tabelle 55: E-Cadherin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: E-Cadherin_Alveolarsepten E-Cadherin_Alveolarsepten Tukey-HSD - 141 -

Tabelle 56: β -Catenin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: β -Catenin_Atemwegsepithel Tukey-HSD - 143 -

Tabelle 57: β -Catenin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: β -Catenin_Endothel β -Catenin_Endothel Tukey-HSD.....- 145 -

Tabelle 58: β -Catenin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: β -Catenin_Alveolaresepten β -Catenin_Alveolaresepten Tukey-HSD.....- 147 -

Tabelle 59: Cx43 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Cx43_Endothel Tukey-HSD ..- 149 -

Tabelle 60: Cx43 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Cx43_Alveolaresepten Tukey-HSD
.....- 151 -

Literaturverzeichnis

ABRAHAM V., CHOU ML., GEORGE P., POOLER P., ZAMAN A., SAVANI RC., KOVAL M.

Heterocellular gap junctional communication between alveolar epithelial cells
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 280(6): L1085-L1093; 2001

ALBERTS B., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P.

Molekularbiologie der Zelle
ISBN: 978-3-527-32384-5 5. Auflage 2011

AMASHEH S., SCHMIDT T., MAHN M., FLORIAN P., MANKERTZ J., TAVALALI S., GITTER AH., SCHULZKE JD., FROMM M.

Contribution of claudin-5 to barrier properties in tight junctions of epithelial cells
Cell Tissue Res 321(1): 89-96; 2005

ANDERSON JM., VAN ITALLIE CM.

Physiology and function of the tight junction
Cold Spring Harb Perspect Biol 1: a002584; 2009

ANGELOW S., AHLSTROM R., YU AS.

Biology of claudins
Am J Physiol Renal Physiol 295: F867-F876; 2008

ASHINO Y., YING X., DOBBS LG., BHATTACHARYA J.

[Ca²⁺]_i oscillations regulate type 2 cell exocytosis in the pulmonary alveolus
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 279: L5-L13; 2000

BENNETT LE., KECK BM., DAILY OP., NOVICK RJ., HOSENPUD JD.

Worldwide thoracic organ transplantation: a report from the UNOS/ ISHLT international registry for thoracic organ transplantation
Clin Transpl 2000: 31-44; 2000

BENTZEL CJ., PALANT CE., FROMM M.

Physiological and pathological factors affecting the tight junction
In Tight Junctions (ed. Cerejido M.), CRC Press Inc. Boca Raton, FL.: 151-173; 1991

BIRUKOV KG., ZEBDA N., BIRUKOVA AA.

Barrier enhancing signals in pulmonary edema.

Compr Physiol: 429-484; 2013

BOITANO S., SAFDAR Z., WELSH DG., BHATTACHARYA J., KOVAL M.

Cell-cell interactions in regulating lung function

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 287: L455-L459; 2004

BRANDNER JM., HOUDEK P., HÜSING B., KAISER C., MOLL I.

Connexins 26, 30 and 43: Differences among spontaneous, chronic and accelerated human wound healing

J Invest Dermatol 122: 1310-1320; 2004

CARAYOL N., CAMPBELL A., VACHIER I., MAINPRICE B., BOUSQUET J., GODARD P., CHANEZ P.

Modulation of cadherin and catenins expression by tumor necrosis factor-alpha and dexamethasone in human bronchial epithelial cells.

Am J Respir Cell Mol Biol 26(3): 341-347; 2002

CAVANAUGH KJ. JR., OSWARI J., MARGULIES SS.

Role of stretch on tight junction structure in alveolar epithelial cells

Am J Respir Cell Mol Biol 25(5): 584-591; 2001

CEREIJIDO M., VALDES J., SHOSHANI L., CONTRERAS RG.

Role of tight junctions in establishing and maintaining cell polarity

Annu Rev Physiol 60: 161-77; 1998

CEREIJIDO M., ANDERSON JM.

Introduction: Evolution of ideas on the tight junction

In Tight junctions (ed. Cereijido M., Anderson JM.), CRC Press, Boca Raton, FL.: 1-18; 2001

CHIBA H., OSANAI M., MURATA M., KOJIMA T., SAWADA N.

Transmembrane proteins of tight junctions

Biochimica et Biophysica Acta 1778: 588-600; 2008

COYNE CB., GAMBLING TM., BOUCHER RC., CARSON JL., JOHNSON LG.

Role of claudin interactions in airway tight junctional permeability

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 285: L1166-L1178; 2003

COYNE CB., VANHOOK MK., GAMBLING TM., CARSON JL., BOUCHER RC., JOHNSON LG.

Regulation of airway tight junctions by proinflammatory cytokines
Mol Biol Cell 13: 3218-34; 2002

CRANDALL ED., MATTHAY MA.

Alveolar epithelial transport: basic science to clinical medicine
Am J Respir Crit Care Med 163: 1021-1029; 2001

CUMMINS PM.

Occludin: one protein, many forms
Mol Cell Biol 32(2): 242-50; 2012

DE BOER WI., SHARMA HS., BAELEMANS SM., HOOGSTEDEN HC., LAMBRECHT BN., BRAUNSTAHL GJ.

Altered expression of epithelial junctional proteins in atopic asthma: possible role in inflammation
Can J Physiol Pharmacol 86(3): 105-12; 2008

DEMEO DL., GINNS LC.

Lung transplantation at the turn of the century
Annu Rev Med 52: 185-201; 2001

DE PERROT M., WEDER W., PATTERSON GA., KESHAVJEE S.

Strategies to increase limited donor resources
Eur Respir J 23: 477-482; 2004

EBNET K.

Organization of multiprotein complexes at cell-cell junctions
Histochem Cell Biol 130: 1-20; 2008

ELZARRAD MK., HAROON A., WILLECKE K., DOBROWSKI R., GILLESPIE MN., AL-MEHDI AB.

Connexin-43 upregulation in micrometastases and tumor vasculature and its role in tumor cell attachment to pulmonary endothelium
BMC Med 6:20 doi:10.1186/1741-7015-6-20; 2008

EVANS SM., BLYTH DI., WONG T., SANJAR S., WEST MR.

Decreased distribution of lung epithelial junction proteins after intratracheal antigen or lipopolysaccharide challenge: correlation with neutrophil influx and levels of BALF sE-cadherin

Am J Respir Cell Mol Biol 27(4): 446-454; 2002

FANNING AS., JAMESON BJ., JESAITIS LA., ANDERSON JM.

The tight junction protein ZO-1 establishes a link between the transmembrane protein occludin and the actin cytoskeleton.

J Biol Chem 273(45): 29745-29753; 1998

FARQUHAR MG., PALADE GE.

Junctional complexes in various epithelia.

J Cell Biol 17: 375-412; 1963

FERNANDEZ AL., KOVAL M., FAN X., GUIDOT DM.

Chronic alcohol ingestion alters claudin expression in the alveolar epithelium of rats.

Alcohol 41(5): 371-379; 2007

FERNANDEZ-COBO M., GINGALEWSKI C., DE MAIO A.

Expression of the connexin 43 gene is increased in the kidneys and the lungs of rats injected with bacterial lipopolysaccharide

Shock 10(2): 97-102; 1998

FURUSE M., FURUSE K., SASAKI H., TSUKITA S.

Conversion of zonulae occludentes from tight to leaky strand type by introducing claudin-2 into Madin-Darby canine kidney I cells.

J Cell Biol 153(2): 263-272; 2001

FURUSE M., FUJITA K., HIIRAGI T., FUJIMOTO K., TSUKITA S.

Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin.

J Cell Biol 141: 1539-1550; 1998

FURUSE M., HATA M., FURUSE K., YOSHIDA Y., HARATAKE A., SUGITANI Y.,
NODA T., KUBO A., TSUKITA S.

Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from
claudin-1-deficient mice.

J Cell Biol 156(6): 1099-1111; 2002

FURUSE M., HIRASE T., ITOH M., NAGAFUCHI A., YONEMURA S., TSUKITA S.,
TSUKITA S.

Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions.

J Cell Biol 123(6 Pt 2): 1777-1788; 1993

GARG K., ZAMONA MR., TUDER R., ARMSTRONG JD., LYNCH DA.

Lung transplantation: Indications, donor and recipient selection and imaging of complications

Scientific Exhibit Volume 16 No. 2: 355-367; 1996

GODFREY RW.

Human airway epithelial tight junctions

Microsc Res Tech 38: 488-99; 1997

GONZALEZ-MARISCAL L., BETANZOS A., NAVA P., JARAMILLO BE.

Tight junction proteins

Prog Biophys Mol Biol 81(1): 1-44; 2003

GONZALES-MARISCAL L., TAPIA R., CHAMORRO D.

Crosstalk of tight junction components with signaling pathways

Biochim Biophys Acta 1778: 729-756; 2008

GORIN AB., STEWART PA.

Differential permeability of endothelial and epithelial barriers to albumin flux

J Appl Physiol 47: 1315-1324; 1979

GUMBINER B.

Cadherins: a family of Ca²⁺-dependent adhesion molecules.

Trends Biochem Sci 13(3): 75-76; 1988

GUMBINER BM.

Breaking through the tight junction barrier

J Cell Biol 123: 1631-1633; 1993

HARDY JD., WEBB WR., DALTON ML. JR., WALKER GR. JR.

Lung Homotransplantation in man

JAMA 186: 1065-1074; 1963

HIRASE T., KAWASHIMA S., WONG EY., UHEYAMA T., RIKITAKE Y., TSUKITA S.,
YOKOYAMA M., STADDON JM.

Regulation of tight junction permeability and occludin phosphorylation by Rho-p160ROCK-
dependent and -independent mechanisms.

J Biol Chem 276(13): 10423-10431; 2001

HUANG S., DUDEZ T., SCERRI I., THOMAS MA., GIEPMANS BNG., SUTER S.,
CHANSON M.

Defective Activation of c-Src in Cystic Fibrosis Airway Epithelial Cells Results in Loss of
Tumor Necrosis Factor- α -induced Gap Junction Regulation.

The Journal of Biological Chemistry 278: 8326-32; 2003

HWANG I., AN BS., YANG H., KANG HS., JUNG EM., JEUNG EB.

Tissue-specific expression of occludin, zona occludens-1, and junction adhesion molecule A
in the duodenum, ileum, colon, kidney, liver, lung, brain, and skeletal muscle of C57BL mice.

J Physiol Pharmacol 64(1): 11-18; 2013

INAI T., KOBAYASHI J., SHIBATA Y.

Claudin-1 contributes to the epithelial barrier function in MDCK cells

Eur J Cell Biol 78(12): 849-55; 1999

IVANOV AI., PARKOS CA., NUSRAT A.

Cytoskeletal regulation of epithelial barrier function during inflammation

Am J Pathol 177: 512-524; 2010

JANG AS., CONCEL VJ., BEIN K., BRANT KA., LIU S., POPE-VARSALONA H.,
DOPICO RA. JR., DI YPP., KNOELL DL., BARCHOWSKY A., LEIKAUF GD.

Endothelial dysfunction and claudin 5 regulation during acrolein-induced lung injury

Am J Respir Cell Mol Biol 44: 483-490; 2011

JOHNSON LN., KOVAL M.

Cross-talk between pulmonary injury, oxidant stress and gap junctional communication

Antioxidants and Redox Signaling doi: 10.1089/ars.2008.2183: 355-367; 2009

JUNQUEIRA LCU., CARNEIRO J., GRATZL M. (HRSG)

Histologie 6. Auflage, Heidelberg; 2005

KAARTEENAHO R., LAPPI-BLANCO E., LEHTONEN S.

Epithelial N-cadherin and nuclear β -catenin are up-regulated during early development of human lung.

BMC Dev Biol 10:113 doi: 10.1186/1471-213X-10-113; 2010

KAARTEENAHO-WIIK R., SOINI Y.

Claudin- 1, 2, 3, 4, 5 and -7 in usual interstitial pneumonia and sarcoidosis

Journal of Histochemistry & Cytochemistry Volume 57(3): 187-195; 2009

KASPER M., TRAUB O., REIMANN T., BJERMER L., GROSSMANN H., MULLER M., WENZEL KW.

Upregulation of gap junction protein connexin 43 in alveolar epithelial cells of rats with radiation-induced pulmonary fibrosis

Histochem Cell Biol 106(4): 419-424; 1996

KNIPP GT., HO NF., BARSUHN CL., BORCHARDT RT.

Paracellular diffusion in Caco-2 cell monolayers: effect of perturbation on the transport of hydrophilic compounds that vary in charge and size.

J Pharm Sci 86: 1105-1110; 1997

KÖNIG HE., LIEBICH HG.

Anatomie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 2. Auflage, Stuttgart; 2002

KOVAL M.

Sharing signals: connecting lung epithelial cells with gap junction channels

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 283: L875-L893; 2002

KOVAL M.

Tight junctions, but not too tight: fine control of lung permeability by claudins

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 297: L217-L218; 2009

LA FEMINA MJ., ROKKAM D., CHANDRASENA A., PAN J., BAJAJ A., JOHNSON M., FRANK JA.

Keratinocyte growth factor enhances barrier function without altering claudin expression in primary alveolar epithelial cells

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 299: L724-L734; 2010

LIEBICH HG.

Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 4. Auflage, Stuttgart; 2004

LIU M., GU C., WANG Y.

Upregulation of the tight junction protein occludin: effects on ventilation-induced lung injury and mechanisms of action.

BMC Pulm Med 14:94 doi: 10.1186/1471-2466-14-94; 2014

LYNCH JP. III., SAGGAR R., WEIGHTS S., ROSS DJ., BELPERIO JA.

Overview of lung transplantation and criteria for selection of candidates

Semin Respir Crit Care Med 27: 441-469; 2006

MADARA JL.

Tight junction dynamics: is paracellular permeability regulated?

Cell 53: 497-498; 1988

MATTER K., BALDA MS.

Holey barrier: claudins and the regulation of brain endothelial permeability

The Journal of Cell Biology Vol. 161 No. 3: 459-460; 2003

MCCARTHY KM., FRANCIS SA., MCCORMACH JM., LAI J., ROGERS RA., SKARE IB., LYNCH RD., SCHNEEBERGER EE.

Inducible expression of claudin-1-myc but not occludin-VSV-G results in aberrant tight junction strand formation in MDCK cells

J Cell Sci 113: 3387-3398; 2000

MCCARTHY KM., SKARE IB., STANKEWICH MC., FURUSE M., TSUKITA S., ROGERS RA., LYNCH RD., SCHNEEBERGER EE.

Occludin is a functional component of the tight junction

Journal of Cell Science 109: 2287-2298; 1996

MCNEIL E., CAPALDO CT., MACARA IG.

Zonula occludens-1 function in the assembly of tight junctions in madin-darby canine kidney epithelial cells

Mol Biol Cell 17: 1922-1932; 2006

MENG G., ZHAO J., WANG HM., DING RG., ZHANG XC., HVANG CQ., RUAN JX.

Injury of cell tight junctions and changes of actin level in acute lung injury caused by the perfluoroisobutylene exposure and the role of myosin light chain kinase

J Occup Health 53: 250-257; 2011

MILATZ S., KRUG SM., ROSENTHAL R., GÜNZEL D., MÜLLER D., SCHULZKE JD., AMASHEH S., FROMM M.

Claudin-3 acts as a sealing component of the tight junction for ions of either charge and uncharged solutes

Biochim Biophys Acta 1798(11): 2048-2057; 2010

MITCHELL LA., OVERGAARD CE., WARD C., MARGULIES SS., KOVAL M.

Differential effects of claudin-3 and Claudin-4 on alveolar epithelial barrier function

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 301(1): L40-9; 2011

MORITA K., SASAKI H., FURUSE M., TSUKITA S.

Endothelial claudin: claudin-5/ TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells

J Cell Biol 147: 185-194; 1999

MORITA K., FURUSE M., FUJIMOTO K., TSUKITA S.

Claudin multigene family encoding four transmembrane domain protein components of tight junction strands

Proc Natl Acad Sci USA Vol. 96: 511-516; 1999

NI S., XU L., HUANG J., FENG J., ZHU H., WANG G., WANG X.

Increased ZO-1 expression predicts valuable prognosis in non-small cell lung cancer.

Int J Clin Exp Pathol 6(12): 2887-2895; 2013

NITTA T., HATA M., GOTOH S., SEO Y., SASAKI H., HASHIMOTO N., FURUSE M., TSUKITA S.

Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice

The Journal of Cell Biology Vol. 161 No. 3: 653-660; 2003

O'DONNELL JJ. III., BIRUKOVA AA., BEYER EC., BIRUKOV KG.

Gap junction protein connexin43 exacerbates lung vascular permeability.

PLoS One 9(6):e100931 doi: 10.1371/journal.pone.0100931; 2014

OHTA H., CHIBA S., EBINA M., FURUSE M., NUKIWA T.

Altered expression of tight junction molecules in alveolar septa in lung injury and fibrosis

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 302(2): L193-205; 2012

OLDENBURGER A., POPPINGA WJ., KOS F., DE BRUIN HG., RIJKS WF., HEIJINK IH., TIMENS W., MEURS H., MAARSINGH H., SCHMIDT M.

A-kinase anchoring proteins contribute to loss of E-cadherin and bronchial epithelial barrier by cigarette smoke.

Am J Physiol Cell Physiol 306(6): C585-C597; 2014

ORENS JB., GARRITY ER. JR.

General overview of lung transplantation and review of organ allocation

Proc Am Thorac Soc Vol. 6: 13-19; 2009

OVERGAARD CE., DAUGHERTY BL., MITCHELL LA., KOVAL. M.

Claudins: control of barrier function and regulation in response to oxidant stress

Antioxidants and Redox Signaling Vol. 15 No. 5: 1179-1193; 2011

PASCHOUD S., BONGIOVANNI M., PACHE JC., CITI S.

Claudin-1- and Claudin-5 expression patterns differentiate lung squamous cell carcinomas from adenocarcinomas

Mod Pathol 20: 947-954; 2007

RALEIGH DR., MARCHIANDO AM., ZHANG Y., SHEN L., SASAKI H., WANG Y., LONG M., TURNER JR.

Tight junction-associated MARVEL proteins marveld3, tricellulin, and occludin have distinct but overlapping functions.

Mol Biol Cell 21(7): 1200-1213; 2010

REITZ BA., WALLWORK JL., HUNT SA., PENNOCK JL., BILLINGHAM ME., OYER PE., STINSON EB., SHUMWAY NE.

Heart-lung transplantation: successful therapy for patients with pulmonary vascular disease

N Engl J Med 306(10): 557-564; 1982

RUBENFELD GD., CALDWELL E., PEABODY E., WEAVER J., MARTIN DP., NEFF M., STERN EJ., HUDSON LD.

Incidence and outcomes of acute lung injury

N Engl J Med 353(16): 1685-1693; 2005

ROKKAM D., LAFEMINA MJ., LEE JW., MATTHAY MA., FRANK JA.

Claudin 4 levels are associated with intact alveolar fluid clearance in human lungs

Am J Pathol 179(3): 1081-1087; 2011

ROTTA AT., GUNNARSSON B., HERNAN LJ., FUHRMAN BP, STEINHORN DM.

Partial liquid ventilation influences pulmonary histopathology in an animal model of acute lung injury.

J Crit Care 14(2): 84-92; 1999

SAITOU M., FURUSE M., SASAKI H., SCHULZKE JD., FROMM M., TAKANO H., NADA T., TSUKITA S.

Complex phenotype of mice lacking occluding, a component of tight junction strands

Mol Biol Cell 11(12): 4131-4142; 2000

SAJJAN U., WANG Q., ZHAO Y., GRUNERT DC., HERSHENSON MB.

Rhinovirus disrupts the barrier function of polarized airway epithelial cells

Am J Respir Crit Care Med Vol. 178: 1271-1281; 2008

SARIEDDINE MZ., SCHECKENBACH KE., FOGLIA B., MAASS K., GARCIA I., KWAK BR., CHANSON M.

Connexin 43 modulates neutrophil recruitment to the lung

J Cell Mol Med 13 (11-12): 4560-4570; 2009

SCHNEEBERGER EE., LYNCH RD.

The tight junction: a multifunctional complex

Am J Physiol Cell Physiol 286: C1213-C1228; 2004

SCHULZKE JD., FROMM M.

Tight junctions: molecular structure meets function

Ann NY Acad Sci 1165: 1-6; 2009

SMYTHE WR., WILLIAMS JP., WHEELOCK MJ., JOHNSON KR., KAISER LR.,
ALBELDA SM.

Cadherin and catenin expression in normal human bronchial epithelium and non-small cell
lung cancer.

Lung Cancer 24(3): 157-168; 1999

SOINI Y.

Claudins in lung diseases

Soini Respiratory Research 12: 70; 2011

STAEHELIN LA.

Further observations on the fine structure of freeze-cleaved tight junctions

Journal of Cell Science 13: 763-786; 1973

STEVENSON BR., SILICIANO JD., MOOSEKER MS., GOODENOUGH DA.

Identification of ZO-1: a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction
(zonula occludens) in a variety of epithelia

J Cell Biol 103: 755-766; 1986

TAKEICHI M., ABE K.

Synaptic contact dynamics controlled by cadherin and catenins

Trends Cell Biol 15: 216-221; 2005

TIAN X., LIU Z., NIU B., ZHANG J., TAN TK., LEE SR., ZHAO Y., HARRIS DCH.,
ZHENG G.

E-cadherin/ β -catenin complex and the epithelial barrier

Journal of Biomedicine and Biotechnology Vol. 2011, Article ID 567305, 6 pages
doi:10.1155/2011/567305; 2011

TORONTO LUNG TRANSPLANT GROUP

Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis

N Engl J Med 314(18): 1140-1145; 1986

TSUKITA S., FURUSE M.

Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores

J Cell Biol 149: 13-16; 2000

TSUKITA S., YAMAZAKI Y., KATSUNO T., TAMURA A., TSUKITA S.

Tight junction based epithelial microenvironment and cell proliferation

Oncogene 27(55): 6930-6938; 2008

TUNGGAL JA., HELFRICH I., SCHMITZ A., SCHWARZ H., GÜNZEL D., FROMM M.,
KEMLER R., KRIEG T., NIESSEN CM.

E-cadherin is essential for in vivo epidermal barrier function by regulating tight junctions

EMBO J 24(6): 1146-1156; 2005

TSUKITA S., YAMAZAKI Y., KATSUNO T., TAMURA A., TSUKITA S.

Tight junction based epithelial microenvironment and cell proliferation

Oncogene 27(55): 6930-6938; 2008

UMEDA K., MATSUI T., NAKAYAMA M., FURUSE K., SASAKI H., FURUSE M.,
TSUKITA S.

Establishment and characterization of cultured epithelial cells lacking expression of ZO-1

J Biol Chem 279: 44785-44794; 2004

UMEDA K., IKENOUCI J., KATAHIRA-TAYAMA S., FURUSE K., SASAKI H.,
NAKAYAMA M., MATSUI T., TSUKITA S., FURUSE M., TSUKITA S.

ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight junction
strand formation

Cell 126: 741-754; 2006

VAN ITALLIE C., ANDERSON JM.

Claudins and epithelial paracellular transport.

Annu Rev Physiol 68: 403-429; 2006

VAN ITALLIE CM., FANNING AS., BRIDGES A., ANDERSON JM.

ZO-1 stabilizes the tight junction solute barrier through coupling to the perijunctional
cytoskeleton.

Mol Biol Cell 20(17): 3930-3940; 2009

VAN ITALLIE C., RAHNER C., ANDERSON JM.

Regulated expression of claudin-4 decreases paracellular conductance through a selective
decrease in sodium permeability

J Clin Invest 107: 1319-1327; 2001

VAN RAEMDONCK D., NEYRINCK A., VERLEDEN GM., DUPONT L., COOSEMANS W., DECALUWE H., DECKER G., DE LEYN P., NAFTEUX P., LERUT T.

Lung donor selection and management

Proc Am Thorac Soc Vol. 6: 28-38; 2009

WANG F., DAUGHERTY B., KEISE LL., WEI Z., FOLEY JP., SAVANI RC., KOVAL M.

Heterogeneity of claudin expression by alveolar epithelial cells

Am J Respir Cell Mol Biol Vol. 29: 62-70; 2003

WARE LB., MATTHAY MA.

Maximal alveolar epithelial fluid clearance in clinical acute lung injury: an excellent predictor of survival and the duration of mechanical ventilation

Am J Respir Crit Care Med 159: A694; 1999

WARE LB., MATTHAY MA.

The acute respiratory distress syndrome

N Engl J Med 342: 1334-1349; 2000

WATSON CJ., ROWLAND M., WARHURST G.

Functional modeling of tight junctions in intestinal cell monolayers using polyethylene glycol oligomers

Am J Physiol Cell Physiol 281: C388-C397; 2001

WEN H., WATRY DD., MARCONDES MC., FOX HS.

Selective decrease in paracellular conductance of tight junctions: role of the first extracellular domain of claudin-5

Mol Cell Biol 24(19): 8408-8417; 2004

WIPPER S., JANNA L., DUPREE A., PAHRMANN C., REICHENSPURNER H., WAGNER FM.

Ex-Vivo Repair of Donor Pig-Lungs Damaged by Aspiration

The Journal of Heart and Lung Transplantation 28(2): 237; 2009

WIPPER S., LÜKE A., SANDTE J., SCHIRMER J., REICHENSPURNER H., WAGNER FM.

Donor Accidental Aspiration Injury – Can We Correct It by Ex-Vivo-Lung-Perfusion (EVLV)?

The Journal of Heart and Lung Transplantation 30(4): 39; 2011

WIPPER S., MARTENS B., DUPREE A., SCHIRMER J., PAHRMANN C., REICHENSPURNER H., WAGNER FM.

Development and Evaluation of an In-Vitro Reperfusion Circuit for Reconditioning of Predamaged Donor-Lungs

The Journal of Heart and Lung Transplantation 27(2): 201; 2008

WIPPER S., RITTBERG Y., DUPREE A., YOUTBERT-HUBNER E., REITER B., KOOPS A., REICHENSPURNER H., WAGNER FM.

Ex-Vivo Repair of Donor Lungs- Is Cell-Free Solution Superior to Blood Perfusion?

The Journal of Heart and Lung Transplantation 29(2): 96; 2010

WIPPER S., RITTBERG Y., LINDNER J., JOUBERT-HUBNER E., SCHIRMER J., REICHENSPURNER H., WAGNER FM.

Closed or Open Circuit during Ex-Vivo Lung Perfusion for Reconditioning of Damaged Donor-Lungs-Which Shall We Use?

The Journal of Heart and Lung Transplantation 29(2): 79; 2010

WIPPER S., SCHIRMER J., MARTENS B., LEBATSCHI A., REICHENSPURNER H., WAGNER FM.

A new concept of reconditioning predamaged donor lungs in an ex-vivo reperfusion pig model

The Journal of Heart and Lung Transplantation 26(2): 111; 2007

WITTCHEN ES., HASKINS J., STEVENSON BR.

Protein interactions at the tight junction. Actin has multiple binding partners, and ZO-1 forms independent complexes with ZO-2 and ZO-3.

J Biol Chem 274(49): 35179-35185; 1999

WOO MS.

Overview of lung transplantation.

Clin Rev Allergy Immunol: 35(3): 154-163; 2008

WOODS DA., BRYANT PJ.

ZO-1, DigA and PSD95/SAP90: Homologous proteins in tight, septate and synaptic cell junctions

Mech Dev 44: 85-89; 1993

WRAY C., MAO Y., PAN J., CHANDRASENA A., PIASTA F., FRANK JA.
Claudin 4 augments alveolar epithelial barrier function and is induced in acute lung injury
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 297: L219-L227; 2009

XIAO C., PUDDICOMBE SM., FIELD S., HAYWOOD J., BROUGHTON-HEAD V.,
PUXEDDU I., HAITCHI HM., VERNON-WILSON E., SAMMUT D., BEDKE N.,
CREMIN C., SONES J., DJUKANOVIC R., HOWARTH PH., COLLINS JE., HOLGATE
ST., MONK P., DAVIES DE.
Defective epithelial barrier function in asthma
J Allergy Clin Immunol Vol. 128, No. 3: 549-56; 2011

XU W., KIMELMAN D.
Mechanistic insights from structural studies of β -catenin and its binding partners
Journal of Cell Science 120: 3337-3344; 2007

YEAMAN C., GRINDSTAFF KK., NELSON WJ.
Mechanism of recruiting Sec6/8 (exocyst) complex to the apical junctional complex during
polarization of epithelial cells
J Cell Sci 117: 559-570; 2004

YEO NK., JANG YJ.
Rhinovirus infection-induced alteration of tight junction and adherens junction components in
human nasal epithelial cells
Laryngoscope 120(2): 346-352; 2010

YU AS., MCCARTHY KM., FRANCIS SA., MCCORMACK JM., LAI J., ROGERS RA.,
LYNCH RD., SCHNEEBERGER EE.
Knockdown of occluding expression leads to diverse phenotypic alterations in epithelial cells
Am J Physiol Cell Physiol 288(6): C1231-C1241; 2005

ZHAO T., LIU M., GU C., WANG X., WANG Y.
Activation of c-Src tyrosine kinase mediated the degradation of occludin in ventilator-induced
lung injury
Respir Res 15:158; 2014

ZEMANS RL., BRIONES N., CAMPBELL M., MCCLENDON J., YOUNG SK., SUZUKI T., YANG IV., LANGHE SD., REYNOLDS SD., MASON RJ., KAHN M., HENSON PM., COLGAN SP., DOWNEY GP.

Neutrophil transmigration triggers repair of the lung epithelium via β -catenin signaling
PNAS Vol. 108 No. 38: 15990-15995; 2011

Anhang Ergebnisse

Claudin-3

Claudin-3 Atemwegsepithel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,415	0,1568	0,155	-0,904	0,073
	55	-0,558	0,1649	0,024	-1,072	-0,044
	5	-0,195	0,1377	0,848	-0,624	0,234
	6	-0,130	0,1297	0,973	-0,534	0,275
	7	-0,092	0,1346	0,997	-0,511	0,328
	8	-0,268	0,1412	0,555	-0,708	0,172
	88	-0,350	0,1346	0,172	-0,770	0,070
55	1	0,143	0,1835	0,994	-0,429	0,715
	3	0,558	0,1649	0,024	0,044	1,072
	5	0,364	0,1674	0,380	-0,158	0,885
	6	0,429	0,1609	0,150	-0,073	0,930
	7	0,467	0,1649	0,103	-0,047	0,981
	8	0,290	0,1703	0,685	-0,241	0,821
	88	0,208	0,1649	0,909	-0,306	0,722
5	1	-0,221	0,1594	0,861	-0,718	0,276
	3	0,195	0,1377	0,848	-0,234	0,624
	55	-0,364	0,1674	0,380	-0,885	0,158
	6	0,065	0,1329	1,000	-0,349	0,479
	7	0,103	0,1377	0,995	-0,326	0,532
	8	-0,074	0,1441	1,000	-0,523	0,375
	88	-0,155	0,1377	0,949	-0,584	0,274
6	1	-0,286	0,1527	0,574	-0,762	0,190
	3	0,130	0,1297	0,973	-0,275	0,534
	55	-0,429	0,1609	0,150	-0,930	0,073
	5	-0,065	0,1329	1,000	-0,479	0,349
	7	0,038	0,1297	1,000	-0,366	0,442
	8	-0,139	0,1365	0,971	-0,564	0,287
	88	-0,220	0,1297	0,689	-0,625	0,184
7	1	-0,324	0,1568	0,447	-0,813	0,165
	3	0,092	0,1346	0,997	-0,328	0,511
	55	-0,467	0,1649	0,103	-0,981	0,047
	5	-0,103	0,1377	0,995	-0,532	0,326

	6	-0,038	0,1297	1,000	-0,442	0,366
	8	-0,177	0,1412	0,913	-0,617	0,263
	88	-0,258	0,1346	0,543	-0,678	0,161
8	1	-0,147	0,1625	0,985	-0,654	0,359
	3	0,268	0,1412	0,555	-0,172	0,708
	55	-0,290	0,1703	0,685	-0,821	0,241
	5	0,074	0,1441	1,000	-0,375	0,523
	6	0,139	0,1365	0,971	-0,287	0,564
	7	0,177	0,1412	0,913	-0,263	0,617
	88	-0,082	0,1412	0,999	-0,522	0,358
	88	1	-0,065	0,1568	1,000	-0,554
3		0,350	0,1346	0,172	-0,070	0,770
55		-0,208	0,1649	0,909	-0,722	0,306
5		0,155	0,1377	0,949	-0,274	0,584
6		0,220	0,1297	0,689	-0,184	0,625
7		0,258	0,1346	0,543	-0,161	0,678
8		0,082	0,1412	0,999	-0,358	0,522
1 (Prae)		3	0,415	0,1568	0,155	-0,073
	55	-0,143	0,1835	0,994	-0,715	0,429
	5	0,221	0,1594	0,861	-0,276	0,718
	6	0,286	0,1527	0,574	-0,190	0,762
	7	0,324	0,1568	0,447	-0,165	0,813
	8	0,147	0,1625	0,985	-0,359	0,654
	88	0,065	0,1568	1,000	-0,423	0,554

Tabelle 41: Claudin-3 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-3_Atemwegsepithel Tukey-HSD

Claudin-3 Endothel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,023	0,1881	1,000	-0,564	0,609
	55	-0,942	0,1978	0,000	-1,558	-0,325
	5	-0,464	0,1651	0,107	-0,979	0,050
	6	-0,170	0,1556	0,956	-0,655	0,315
	7	-0,017	0,1615	1,000	-0,520	0,487
	8	-0,062	0,1694	1,000	-0,590	0,466
	88	-0,142	0,1615	0,987	-0,645	0,362
55	1	0,964	0,2201	0,001	0,278	1,650
	3	0,942	0,1978	0,000	0,325	1,558
	5	0,477	0,2008	0,267	-0,148	1,103
	6	0,771	0,1930	0,004	0,170	1,373
	7	0,925	0,1978	0,000	0,309	1,541
	8	0,880	0,2043	0,001	0,243	1,517
	88	0,800	0,1978	0,003	0,184	1,416
5	1	0,487	0,1913	0,192	-0,109	1,083
	3	0,464	0,1651	0,107	-0,050	0,979
	55	-0,477	0,2008	0,267	-1,103	0,148
	6	0,294	0,1594	0,592	-0,203	0,791
	7	0,448	0,1651	0,135	-0,067	0,962
	8	0,403	0,1728	0,291	-0,136	0,941
	88	0,323	0,1651	0,519	-0,192	0,837
6	1	0,193	0,1831	0,964	-0,378	0,764
	3	0,170	0,1556	0,956	-0,315	0,655
	55	-0,771	0,1930	0,004	-1,373	-0,170
	5	-0,294	0,1594	0,592	-0,791	0,203
	7	0,154	0,1556	0,975	-0,331	0,639
	8	0,109	0,1638	0,998	-0,402	0,619
	88	0,029	0,1556	1,000	-0,456	0,514
7	1	0,039	0,1881	1,000	-0,547	0,626
	3	0,017	0,1615	1,000	-0,487	0,520
	55	-0,925	0,1978	0,000	-1,541	-0,309
	5	-0,448	0,1651	0,135	-0,962	0,067
	6	-0,154	0,1556	0,975	-0,639	0,331
	8	-0,045	0,1694	1,000	-0,573	0,483
	88	-0,125	0,1615	0,994	-0,628	0,378
8	1	0,084	0,1949	1,000	-0,523	0,692
	3	0,062	0,1694	1,000	-0,466	0,590

	55	-0,880	0,2043	0,001	-1,517	-0,243
	5	-0,403	0,1728	0,291	-0,941	0,136
	6	-0,109	0,1638	0,998	-0,619	0,402
	7	0,045	0,1694	1,000	-0,483	0,573
	88	-0,080	0,1694	1,000	-0,608	0,448
88	1	0,164	0,1881	0,988	-0,422	0,751
	3	0,142	0,1615	0,987	-0,362	0,645
	55	-0,800	0,1978	0,003	-1,416	-0,184
	5	-0,323	0,1651	0,519	-0,837	0,192
	6	-0,029	0,1556	1,000	-0,514	0,456
	7	0,125	0,1615	0,994	-0,378	0,628
	8	0,080	0,1694	1,000	-0,448	0,608
1 (Prae)	3	-0,023	0,1881	1,000	-0,609	0,564
	55	-0,964	0,2201	0,001	-1,650	-0,278
	5	-0,487	0,1913	0,192	-1,083	0,109
	6	-0,193	0,1831	0,964	-0,764	0,378
	7	-0,039	0,1881	1,000	-0,626	0,547
	8	-0,084	0,1949	1,000	-0,692	0,523
	88	-0,164	0,1881	0,988	-0,751	0,422

Tabelle 42: Claudin-3 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-3_Endothel

Claudin-3 Alveolarsepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,201	0,1736	0,941	-0,340	0,742
	55	-0,175	0,1825	0,979	-0,744	0,394
	5	-0,114	0,1523	0,995	-0,589	0,360
	6	-0,377	0,1436	0,162	-0,825	0,070
	7	-0,033	0,1490	1,000	-0,498	0,431
	8	-0,052	0,1563	1,000	-0,539	0,435
	88	-0,250	0,1490	0,701	-0,714	0,214
55	1	0,376	0,2030	0,587	-0,257	1,009
	3	0,175	0,1825	0,979	-0,394	0,744
	5	0,061	0,1852	1,000	-0,517	0,638
	6	-0,202	0,1781	0,947	-0,757	0,353
	7	0,142	0,1825	0,994	-0,427	0,710
	8	0,123	0,1884	0,998	-0,464	0,711
	88	-0,075	0,1825	1,000	-0,644	0,494
5	1	0,316	0,1764	0,630	-0,234	0,866
	3	0,114	0,1523	0,995	-0,360	0,589

	55	-0,061	0,1852	1,000	-0,638	0,517
	6	-0,263	0,1470	0,630	-0,721	0,195
	7	0,081	0,1523	0,999	-0,394	0,556
	8	0,063	0,1594	1,000	-0,434	0,560
	88	-0,136	0,1523	0,986	-0,610	0,339
6	1	0,579	0,1689	0,021	0,052	1,105
	3	0,377	0,1436	0,162	-0,070	0,825
	55	0,202	0,1781	0,947	-0,353	0,757
	5	0,263	0,1470	0,630	-0,195	0,721
	7	0,344	0,1436	0,258	-0,103	0,792
	8	0,326	0,1511	0,390	-0,145	0,797
	88	0,127	0,1436	0,986	-0,320	0,575
7	1	0,235	0,1736	0,876	-0,306	0,775
	3	0,033	0,1490	1,000	-0,431	0,498
	55	-0,142	0,1825	0,994	-0,710	0,427
	5	-0,081	0,1523	0,999	-0,556	0,394
	6	-0,344	0,1436	0,258	-0,792	0,103
	8	-0,018	0,1563	1,000	-0,505	0,469
	88	-0,217	0,1490	0,829	-0,681	0,248
8	1	0,253	0,1798	0,852	-0,308	0,813
	3	0,052	0,1563	1,000	-0,435	0,539
	55	-0,123	0,1884	0,998	-0,711	0,464
	5	-0,063	0,1594	1,000	-0,560	0,434
	6	-0,326	0,1511	0,390	-0,797	0,145
	7	0,018	0,1563	1,000	-0,469	0,505
	88	-0,198	0,1563	0,907	-0,685	0,289
88	1	0,451	0,1736	0,172	-0,090	0,992
	3	0,250	0,1490	0,701	-0,214	0,714
	55	0,075	0,1825	1,000	-0,494	0,644
	5	0,136	0,1523	0,986	-0,339	0,610
	6	-0,127	0,1436	0,986	-0,575	0,320
	7	0,217	0,1490	0,829	-0,248	0,681
	8	0,198	0,1563	0,907	-0,289	0,685
1 (Prae)	3	-0,201	0,1736	0,941	-0,742	0,340
	55	-0,376	0,2030	0,587	-1,009	0,257
	5	-0,316	0,1764	0,630	-0,866	0,234
	6	-0,579	0,1689	0,021	-1,105	-0,052
	7	-0,235	0,1736	0,876	-0,775	0,306
	8	-0,253	0,1798	0,852	-0,813	0,308
	88	-0,451	0,1736	0,172	-0,992	0,090

Tabelle 43: Claudin-3 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-3_Alveolarepten Tukey-HSD

Claudin-4

Claudin-4 Atemwegsepithel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,388	0,2547	0,554	-0,339	1,116
	55	0,417	0,2547	0,484	-0,311	1,144
	5	0,442	0,2289	0,319	-0,212	1,095
	6	0,517	0,2260	0,171	-0,129	1,162
55	1	-0,029	0,2447	1,000	-0,728	0,670
	3	-0,417	0,2547	0,484	-1,144	0,311
	5	0,025	0,2178	1,000	-0,597	0,647
	6	0,100	0,2146	0,990	-0,513	0,713
5	1	-0,054	0,2178	0,999	-0,675	0,568
	3	-0,442	0,2289	0,319	-1,095	0,212
	55	-0,025	0,2178	1,000	-0,647	0,597
	6	0,075	0,1833	0,994	-0,448	0,598
6	1	-0,129	0,2146	0,974	-0,742	0,484
	3	-0,517	0,2260	0,171	-1,162	0,129
	55	-0,100	0,2146	0,990	-0,713	0,513
	5	-0,075	0,1833	0,994	-0,598	0,448
1 (Prae)	3	-0,388	0,2547	0,554	-1,116	0,339
	55	0,029	0,2447	1,000	-0,670	0,728
	5	0,054	0,2178	0,999	-0,568	0,675
	6	0,129	0,2146	0,974	-0,484	0,742

Tabelle 44: Claudin-4 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-4_Atemwegsepithel Tukey-HSD

Claudin-4 Endothel

N/A

Claudin-4 Alveolarsepten

N/A

Claudin-5**Claudin-5 Atemwegsepithel**

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	55	0,000	0,1089	1,000	-0,347	0,347
	5	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	6	-0,250	0,0889	0,129	-0,534	0,034
	7	0,000	0,0889	1,000	-0,284	0,284
	8	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	9	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	88	0,000	0,0889	1,000	-0,284	0,284
55	1	0,000	0,1212	1,000	-0,387	0,387
	3	0,000	0,1089	1,000	-0,347	0,347
	5	0,000	0,1125	1,000	-0,359	0,359
	6	-0,250	0,1089	0,358	-0,597	0,097
	7	0,000	0,1089	1,000	-0,347	0,347
	8	0,000	0,1125	1,000	-0,359	0,359
	9	0,000	0,1212	1,000	-0,387	0,387
	88	0,000	0,1089	1,000	-0,347	0,347
5	1	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	3	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	55	0,000	0,1125	1,000	-0,359	0,359
	6	-0,250	0,0933	0,172	-0,548	0,048
	7	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	8	0,000	0,0974	1,000	-0,311	0,311
	9	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	88	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
6	1	0,250	0,1036	0,292	-0,080	0,580
	3	0,250	0,0889	0,129	-0,034	0,534
	55	0,250	0,1089	0,358	-0,097	0,597
	5	0,250	0,0933	0,172	-0,048	0,548
	7	0,250	0,0889	0,129	-0,034	0,534
	8	0,250	0,0933	0,172	-0,048	0,548
	9	0,250	0,1036	0,292	-0,080	0,580
	88	0,250	0,0889	0,129	-0,034	0,534
7	1	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	3	0,000	0,0889	1,000	-0,284	0,284
	55	0,000	0,1089	1,000	-0,347	0,347

	5	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	6	-0,250	0,0889	0,129	-0,534	0,034
	8	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	9	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	88	0,000	0,0889	1,000	-0,284	0,284
8	1	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	3	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	55	0,000	0,1125	1,000	-0,359	0,359
	5	0,000	0,0974	1,000	-0,311	0,311
	6	-0,250	0,0933	0,172	-0,548	0,048
	7	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	9	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	88	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
9	1	0,000	0,1165	1,000	-0,371	0,371
	3	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	55	0,000	0,1212	1,000	-0,387	0,387
	5	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	6	-0,250	0,1036	0,292	-0,580	0,080
	7	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	8	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	88	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
88	1	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	3	0,000	0,0889	1,000	-0,284	0,284
	55	0,000	0,1089	1,000	-0,347	0,347
	5	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	6	-0,250	0,0889	0,129	-0,534	0,034
	7	0,000	0,0889	1,000	-0,284	0,284
	8	0,000	0,0933	1,000	-0,298	0,298
	9	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
1 (Prae)	3	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	55	0,000	0,1212	1,000	-0,387	0,387
	5	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	6	-0,250	0,1036	0,292	-0,580	0,080
	7	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330
	8	0,000	0,1074	1,000	-0,342	0,342
	9	0,000	0,1165	1,000	-0,371	0,371
	88	0,000	0,1036	1,000	-0,330	0,330

Tabelle 45: Claudin-5 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-5_Atemwegsepithel Tukey-HSD

Claudin-5 Endothel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,711	0,2537	0,132	-1,520	0,099
	55	0,192	0,2667	0,998	-0,659	1,042
	5	0,645	0,2284	0,125	-0,084	1,374
	6	0,492	0,2178	0,380	-0,203	1,186
	7	-0,717	0,2178	0,038	-1,411	-0,022
	8	-0,655	0,2284	0,113	-1,384	0,074
	9	-0,454	0,2537	0,690	-1,263	0,356
	88	-0,100	0,2178	1,000	-0,795	0,595
55	1	-0,902	0,2968	0,074	-1,849	0,044
	3	-0,192	0,2667	0,998	-1,042	0,659
	5	0,453	0,2755	0,777	-0,425	1,332
	6	0,300	0,2667	0,969	-0,551	1,151
	7	-0,908	0,2667	0,027	-1,759	-0,058
	8	-0,847	0,2755	0,068	-1,725	0,032
	9	-0,645	0,2968	0,432	-1,592	0,301
	88	-0,292	0,2667	0,974	-1,142	0,559
5	1	-1,356	0,2629	0,000	-2,194	-0,517
	3	-0,645	0,2284	0,125	-1,374	0,084
	55	-0,453	0,2755	0,777	-1,332	0,425
	6	-0,153	0,2284	0,999	-0,882	0,575
	7	-1,362	0,2284	0,000	-2,090	-0,633
	8	-1,300	0,2386	0,000	-2,061	-0,539
	9	-1,099	0,2629	0,002	-1,937	-0,260
	88	-0,745	0,2284	0,041	-1,474	-0,016
6	1	-1,202	0,2537	0,000	-2,012	-0,393
	3	-0,492	0,2178	0,380	-1,186	0,203
	55	-0,300	0,2667	0,969	-1,151	0,551
	5	0,153	0,2284	0,999	-0,575	0,882
	7	-1,208	0,2178	0,000	-1,903	-0,514
	8	-1,147	0,2284	0,000	-1,875	-0,418
	9	-0,945	0,2537	0,010	-1,754	-0,136
	88	-0,592	0,2178	0,159	-1,286	0,103
7	1	0,006	0,2537	1,000	-0,803	0,815
	3	0,717	0,2178	0,038	0,022	1,411
	55	0,908	0,2667	0,027	0,058	1,759
	5	1,362	0,2284	0,000	0,633	2,090
	6	1,208	0,2178	0,000	0,514	1,903

	8	0,062	0,2284	1,000	-0,667	0,790
	9	0,263	0,2537	0,981	-0,546	1,072
	88	0,617	0,2178	0,123	-0,078	1,311
8	1	-0,056	0,2629	1,000	-0,894	0,783
	3	0,655	0,2284	0,113	-0,074	1,384
	55	0,847	0,2755	0,068	-0,032	1,725
	5	1,300	0,2386	0,000	0,539	2,061
	6	1,147	0,2284	0,000	0,418	1,875
	7	-0,062	0,2284	1,000	-0,790	0,667
	9	0,201	0,2629	0,997	-0,637	1,040
	88	0,555	0,2284	0,283	-0,174	1,284
	9	1	-0,257	0,2852	0,992	-1,167
3		0,454	0,2537	0,690	-0,356	1,263
55		0,645	0,2968	0,432	-0,301	1,592
5		1,099	0,2629	0,002	0,260	1,937
6		0,945	0,2537	0,010	0,136	1,754
7		-0,263	0,2537	0,981	-1,072	0,546
8		-0,201	0,2629	0,997	-1,040	0,637
88		0,354	0,2537	0,897	-0,456	1,163
88		1	-0,611	0,2537	0,295	-1,420
	3	0,100	0,2178	1,000	-0,595	0,795
	5	0,745	0,2284	0,041	0,016	1,474
	6	0,592	0,2178	0,159	-0,103	1,286
	7	-0,617	0,2178	0,123	-1,311	0,078
	8	-0,555	0,2284	0,283	-1,284	0,174
	9	-0,354	0,2537	0,897	-1,163	0,456
	55	0,292	0,2667	0,974	-0,559	1,142
	1 (Prae)	3	0,711	0,2537	0,132	-0,099
55		0,902	0,2968	0,074	-0,044	1,849
5		1,356	0,2629	0,000	0,517	2,194
6		1,202	0,2537	0,000	0,393	2,012
7		-0,006	0,2537	1,000	-0,815	0,803
8		0,056	0,2629	1,000	-0,783	0,894
9		0,257	0,2852	0,992	-0,652	1,167
88		0,611	0,2537	0,295	-0,199	1,420

Tabelle 46: Claudin-5 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-5_Endothel
Tukey-HSD

Claudin-5 Alveolarsepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,035	0,2595	1,000	-0,862	0,793
	55	0,692	0,2728	0,232	-0,178	1,562
	5	0,688	0,2336	0,093	-0,057	1,433
	6	0,333	0,2228	0,854	-0,377	1,044
	7	-0,567	0,2228	0,228	-1,277	0,144
	8	-0,552	0,2336	0,320	-1,297	0,193
	9	0,037	0,2595	1,000	-0,791	0,865
	88	0,042	0,2228	1,000	-0,669	0,752
55	1	-0,726	0,3036	0,303	-1,694	0,242
	3	-0,692	0,2728	0,232	-1,562	0,178
	5	-0,003	0,2818	1,000	-0,902	0,895
	6	-0,358	0,2728	0,924	-1,228	0,512
	7	-1,258	0,2728	0,000	-2,128	-0,388
	8	-1,243	0,2818	0,001	-2,142	-0,345
	9	-0,655	0,3036	0,444	-1,623	0,313
	88	-0,650	0,2728	0,308	-1,520	0,220
5	1	-0,723	0,2689	0,169	-1,580	0,135
	3	-0,688	0,2336	0,093	-1,433	0,057
	55	0,003	0,2818	1,000	-0,895	0,902
	6	-0,355	0,2336	0,843	-1,100	0,390
	7	-1,255	0,2336	0,000	-2,000	-0,510
	8	-1,240	0,2440	0,000	-2,018	-0,462
	9	-0,651	0,2689	0,287	-1,509	0,206
	88	-0,647	0,2336	0,142	-1,392	0,098
6	1	-0,368	0,2595	0,888	-1,196	0,460
	3	-0,333	0,2228	0,854	-1,044	0,377
	55	0,358	0,2728	0,924	-0,512	1,228
	5	0,355	0,2336	0,843	-0,390	1,100
	7	-0,900	0,2228	0,004	-1,610	-0,190
	8	-0,885	0,2336	0,009	-1,630	-0,140
	9	-0,296	0,2595	0,966	-1,124	0,531
	88	-0,292	0,2228	0,926	-1,002	0,419
7	1	0,532	0,2595	0,514	-0,296	1,360
	3	0,567	0,2228	0,228	-0,144	1,277
	55	1,258	0,2728	0,000	0,388	2,128
	5	1,255	0,2336	0,000	0,510	2,000
	6	0,900	0,2228	0,004	0,190	1,610

	8	0,015	0,2336	1,000	-0,730	0,760
	9	0,604	0,2595	0,340	-0,224	1,431
	88	0,608	0,2228	0,154	-0,102	1,319
8	1	0,517	0,2689	0,600	-0,340	1,375
	3	0,552	0,2336	0,320	-0,193	1,297
	55	1,243	0,2818	0,001	0,345	2,142
	5	1,240	0,2440	0,000	0,462	2,018
	6	0,885	0,2336	0,009	0,140	1,630
	7	-0,015	0,2336	1,000	-0,760	0,730
	9	0,589	0,2689	0,423	-0,269	1,446
	88	0,593	0,2336	0,230	-0,152	1,338
	9	1	-0,071	0,2917	1,000	-1,002
3		-0,037	0,2595	1,000	-0,865	0,791
55		0,655	0,3036	0,444	-0,313	1,623
5		0,651	0,2689	0,287	-0,206	1,509
6		0,296	0,2595	0,966	-0,531	1,124
7		-0,604	0,2595	0,340	-1,431	0,224
8		-0,589	0,2689	0,423	-1,446	0,269
88		0,005	0,2595	1,000	-0,823	0,832
88		1	-0,076	0,2595	1,000	-0,904
	3	-0,042	0,2228	1,000	-0,752	0,669
	55	0,650	0,2728	0,308	-0,220	1,520
	5	0,647	0,2336	0,142	-0,098	1,392
	6	0,292	0,2228	0,926	-0,419	1,002
	7	-0,608	0,2228	0,154	-1,319	0,102
	8	-0,593	0,2336	0,230	-1,338	0,152
	9	-0,005	0,2595	1,000	-0,832	0,823
	1 (Prae)	3	0,035	0,2595	1,000	-0,793
55		0,726	0,3036	0,303	-0,242	1,694
5		0,723	0,2689	0,169	-0,135	1,580
6		0,368	0,2595	0,888	-0,460	1,196
7		-0,532	0,2595	0,514	-1,360	0,296
8		-0,517	0,2689	0,600	-1,375	0,340
9		0,071	0,2917	1,000	-0,859	1,002
88		0,076	0,2595	1,000	-0,751	0,904

Tabelle 47: Claudin-5 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Claudin-5_Alveolarepten Tukey-HSD

ZO-1**ZO-1 Atemwegsepithel**

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,036	0,2832	1,000	-0,805	0,876
	55	-0,125	0,3195	0,995	-1,073	0,823
	5	0,000	0,3195	1,000	-0,948	0,948
	6	0,375	0,2767	0,661	-0,446	1,196
55	1	0,161	0,2832	0,978	-0,680	1,001
	3	0,125	0,3195	0,995	-0,823	1,073
	5	0,125	0,3195	0,995	-0,823	1,073
	6	0,500	0,2767	0,395	-0,321	1,321
5	1	0,036	0,2832	1,000	-0,805	0,876
	3	0,000	0,3195	1,000	-0,948	0,948
	55	-0,125	0,3195	0,995	-1,073	0,823
	6	0,375	0,2767	0,661	-0,446	1,196
6	1	-0,339	0,2338	0,603	-1,033	0,355
	3	-0,375	0,2767	0,661	-1,196	0,446
	55	-0,500	0,2767	0,395	-1,321	0,321
	5	-0,375	0,2767	0,661	-1,196	0,446
1 (Prae)	3	-0,036	0,2832	1,000	-0,876	0,805
	55	-0,161	0,2832	0,978	-1,001	0,680
	5	-0,036	0,2832	1,000	-0,876	0,805
	6	0,339	0,2338	0,603	-0,355	1,033

Tabelle 48: ZO-1 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: ZO-1_Atemwegsepithel
Tukey-HSD

ZO-1 Endothel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,268	0,3123	0,909	-1,194	0,659
	55	-0,125	0,3523	0,996	-1,170	0,920
	5	0,250	0,3523	0,952	-0,795	1,295
	6	0,163	0,3051	0,983	-0,743	1,068

55	1	-0,143	0,3123	0,990	-1,069	0,784
	3	0,125	0,3523	0,996	-0,920	1,170
	5	0,375	0,3523	0,822	-0,670	1,420
	6	0,288	0,3051	0,877	-0,618	1,193
5	1	-0,518	0,3123	0,478	-1,444	0,409
	3	-0,250	0,3523	0,952	-1,295	0,795
	55	-0,375	0,3523	0,822	-1,420	0,670
	6	-0,088	0,3051	0,998	-0,993	0,818
6	1	-0,430	0,2579	0,472	-1,195	0,335
	3	-0,163	0,3051	0,983	-1,068	0,743
	55	-0,288	0,3051	0,877	-1,193	0,618
	5	0,088	0,3051	0,998	-0,818	0,993
1 (Prae)	3	0,268	0,3123	0,909	-0,659	1,194
	55	0,143	0,3123	0,990	-0,784	1,069
	5	0,518	0,3123	0,478	-0,409	1,444
	6	0,430	0,2579	0,472	-0,335	1,195

Tabelle 49: ZO-1 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: ZO-1_Endothel Tukey-HSD

ZO-1 Alveolarepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,411	0,3219	0,708	-0,544	1,366
	55	0,125	0,3632	0,997	-0,953	1,203
	5	0,750	0,3632	0,270	-0,328	1,828
	6	0,625	0,3145	0,305	-0,308	1,558
55	1	0,286	0,3219	0,898	-0,669	1,241
	3	-0,125	0,3632	0,997	-1,203	0,953
	5	0,625	0,3632	0,442	-0,453	1,703
	6	0,500	0,3145	0,519	-0,433	1,433
5	1	-0,339	0,3219	0,827	-1,294	0,616
	3	-0,750	0,3632	0,270	-1,828	0,328
	55	-0,625	0,3632	0,442	-1,703	0,453
	6	-0,125	0,3145	0,994	-1,058	0,808
6	1	-0,214	0,2658	0,926	-1,003	0,574
	3	-0,625	0,3145	0,305	-1,558	0,308
	55	-0,500	0,3145	0,519	-1,433	0,433
	5	0,125	0,3145	0,994	-0,808	1,058
1	3	-0,411	0,3219	0,708	-1,366	0,544

(Prae)	55	-0,286	0,3219	0,898	-1,241	0,669
	5	0,339	0,3219	0,827	-0,616	1,294
	6	0,214	0,2658	0,926	-0,574	1,003

Tabelle 50: ZO-1 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: ZO-1_Alveolarsepten
Tukey-HSD

Occludin

Occludin Atemwegsepithel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,471	0,1669	0,104	-0,991	0,049
	55	-0,100	0,1503	0,998	-0,568	0,368
	5	0,345	0,1465	0,277	-0,111	0,802
	6	0,383	0,1433	0,146	-0,063	0,830
	7	-0,192	0,1433	0,882	-0,638	0,255
	8	-0,350	0,1503	0,292	-0,818	0,118
	88	-0,383	0,1433	0,146	-0,830	0,063
55	1	-0,371	0,1730	0,395	-0,910	0,167
	3	0,100	0,1503	0,998	-0,368	0,568
	5	0,445	0,1534	0,086	-0,032	0,923
	6	0,483	0,1503	0,038	0,015	0,951
	7	-0,092	0,1503	0,999	-0,560	0,376
	8	-0,250	0,1570	0,753	-0,739	0,239
	88	-0,283	0,1503	0,565	-0,751	0,185
5	1	-0,817	0,1697	0,000	-1,345	-0,288
	3	-0,345	0,1465	0,277	-0,802	0,111
	55	-0,445	0,1534	0,086	-0,923	0,032
	6	0,038	0,1465	1,000	-0,418	0,494
	7	-0,537	0,1465	0,010	-0,993	-0,081
	8	-0,695	0,1534	0,001	-1,173	-0,218
	88	-0,729	0,1465	0,000	-1,185	-0,272
6	1	-0,855	0,1669	0,000	-1,375	-0,335
	3	-0,383	0,1433	0,146	-0,830	0,063
	55	-0,483	0,1503	0,038	-0,951	-0,015
	5	-0,038	0,1465	1,000	-0,494	0,418
	7	-0,575	0,1433	0,003	-1,021	-0,129
	8	-0,733	0,1503	0,000	-1,201	-0,265
	88	-0,767	0,1433	0,000	-1,213	-0,320

7	1	-0,280	0,1669	0,702	-0,800	0,240
	3	0,192	0,1433	0,882	-0,255	0,638
	55	0,092	0,1503	0,999	-0,376	0,560
	5	0,537	0,1465	0,010	0,081	0,993
	6	0,575	0,1433	0,003	0,129	1,021
	8	-0,158	0,1503	0,964	-0,626	0,310
	88	-0,192	0,1433	0,882	-0,638	0,255
8	1	-0,121	0,1730	0,997	-0,660	0,417
	3	0,350	0,1503	0,292	-0,118	0,818
	55	0,250	0,1570	0,753	-0,239	0,739
	5	0,695	0,1534	0,001	0,218	1,173
	6	0,733	0,1503	0,000	0,265	1,201
	7	0,158	0,1503	0,964	-0,310	0,626
	88	-0,033	0,1503	1,000	-0,501	0,435
88	1	-0,088	0,1669	0,999	-0,608	0,432
	3	0,383	0,1433	0,146	-0,063	0,830
	55	0,283	0,1503	0,565	-0,185	0,751
	5	0,729	0,1465	0,000	0,272	1,185
	6	0,767	0,1433	0,000	0,320	1,213
	7	0,192	0,1433	0,882	-0,255	0,638
	8	0,033	0,1503	1,000	-0,435	0,501
1 (Prae)	3	0,471	0,1669	0,104	-0,049	0,991
	55	0,371	0,1730	0,395	-0,167	0,910
	5	0,817	0,1697	0,000	0,288	1,345
	6	0,855	0,1669	0,000	0,335	1,375
	7	0,280	0,1669	0,702	-0,240	0,800
	8	0,121	0,1730	0,997	-0,417	0,660
	88	0,088	0,1669	0,999	-0,432	0,608

Tabelle 51: Occludin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable:
Occludin_Atemwegsepithel Tukey-HSD

Occludin Endothel

(I)Gruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall		
				Untergrenze	Obergrenze	
3	1	-0,649	0,1725	0,007	-1,186	-0,112
	55	-0,042	0,1553	1,000	-0,525	0,442
	5	0,527	0,1514	0,018	0,055	0,998
	6	0,358	0,1481	0,246	-0,103	0,819
	7	-0,158	0,1481	0,961	-0,619	0,303
	8	-0,342	0,1553	0,363	-0,825	0,142

Anhang Ergebnisse

	88	-0,542	0,1481	0,010	-1,003	-0,081
55	1	-0,607	0,1787	0,023	-1,164	-0,050
	3	0,042	0,1553	1,000	-0,442	0,525
	5	0,568	0,1585	0,013	0,075	1,062
	6	0,400	0,1553	0,181	-0,084	0,884
	7	-0,117	0,1553	0,995	-0,600	0,367
	8	-0,300	0,1622	0,589	-0,805	0,205
	88	-0,500	0,1553	0,038	-0,984	-0,016
5	1	-1,175	0,1753	0,000	-1,721	-0,629
	3	-0,527	0,1514	0,018	-0,998	-0,055
	55	-0,568	0,1585	0,013	-1,062	-0,075
	6	-0,168	0,1514	0,953	-0,640	0,303
	7	-0,685	0,1514	0,001	-1,156	-0,213
	8	-0,868	0,1585	0,000	-1,362	-0,375
	88	-1,068	0,1514	0,000	-1,540	-0,597
6	1	-1,007	0,1725	0,000	-1,544	-0,470
	3	-0,358	0,1481	0,246	-0,819	0,103
	55	-0,400	0,1553	0,181	-0,884	0,084
	5	0,168	0,1514	0,953	-0,303	0,640
	7	-0,517	0,1481	0,017	-0,978	-0,056
	8	-0,700	0,1553	0,001	-1,184	-0,216
	88	-0,900	0,1481	0,000	-1,361	-0,439
7	1	-0,490	0,1725	0,099	-1,028	0,047
	3	0,158	0,1481	0,961	-0,303	0,619
	55	0,117	0,1553	0,995	-0,367	0,600
	5	0,685	0,1514	0,001	0,213	1,156
	6	0,517	0,1481	0,017	0,056	0,978
	8	-0,183	0,1553	0,935	-0,667	0,300
	88	-0,383	0,1481	0,176	-0,844	0,078
8	1	-0,307	0,1787	0,675	-0,864	0,250
	3	0,342	0,1553	0,363	-0,142	0,825
	55	0,300	0,1622	0,589	-0,205	0,805
	5	0,868	0,1585	0,000	0,375	1,362
	6	0,700	0,1553	0,001	0,216	1,184
	7	0,183	0,1553	0,935	-0,300	0,667
	88	-0,200	0,1553	0,901	-0,684	0,284
88	1	-0,107	0,1725	0,998	-0,644	0,430
	3	0,542	0,1481	0,010	0,081	1,003
	55	0,500	0,1553	0,038	0,016	0,984
	5	1,068	0,1514	0,000	0,597	1,540
	6	0,900	0,1481	0,000	0,439	1,361
	7	0,383	0,1481	0,176	-0,078	0,844
	8	0,200	0,1553	0,901	-0,284	0,684

1 (Prae)	3	0,649	0,1725	0,007	0,112	1,186
	55	0,607	0,1787	0,023	0,050	1,164
	5	1,175	0,1753	0,000	0,629	1,721
	6	1,007	0,1725	0,000	0,470	1,544
	7	0,490	0,1725	0,099	-0,047	1,028
	8	0,307	0,1787	0,675	-0,250	0,864
	88	0,107	0,1725	0,998	-0,430	0,644

Tabelle 52: Occludin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Occludin_Endothel
Tukey-HSD

Occludin Alveolarsepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,502	0,1673	0,067	-1,023	0,019
	55	-0,067	0,1506	1,000	-0,536	0,402
	5	0,447	0,1468	0,060	-0,010	0,904
	6	0,367	0,1436	0,189	-0,081	0,814
	7	-0,192	0,1436	0,883	-0,639	0,256
	8	-0,267	0,1506	0,641	-0,736	0,202
	88	-0,167	0,1436	0,940	-0,614	0,281
55	1	-0,436	0,1733	0,205	-0,976	0,104
	3	0,067	0,1506	1,000	-0,402	0,536
	5	0,514	0,1537	0,027	0,035	0,992
	6	0,433	0,1506	0,091	-0,036	0,902
	7	-0,125	0,1506	0,991	-0,594	0,344
	8	-0,200	0,1573	0,907	-0,690	0,290
	88	-0,100	0,1506	0,998	-0,569	0,369
5	1	-0,949	0,1701	0,000	-1,479	-0,420
	3	-0,447	0,1468	0,060	-0,904	0,010
	55	-0,514	0,1537	0,027	-0,992	-0,035
	6	-0,080	0,1468	0,999	-0,538	0,377
	7	-0,639	0,1468	0,001	-1,096	-0,181
	8	-0,714	0,1537	0,000	-1,192	-0,235
	88	-0,614	0,1468	0,002	-1,071	-0,156
6	1	-0,869	0,1673	0,000	-1,390	-0,348
	3	-0,367	0,1436	0,189	-0,814	0,081
	55	-0,433	0,1506	0,091	-0,902	0,036
	5	0,080	0,1468	0,999	-0,377	0,538
	7	-0,558	0,1436	0,005	-1,006	-0,111
	8	-0,633	0,1506	0,002	-1,102	-0,164

	88	-0,533	0,1436	0,009	-0,981	-0,086
7	1	-0,311	0,1673	0,584	-0,832	0,210
	3	0,192	0,1436	0,883	-0,256	0,639
	55	0,125	0,1506	0,991	-0,344	0,594
	5	0,639	0,1468	0,001	0,181	1,096
	6	0,558	0,1436	0,005	0,111	1,006
	8	-0,075	0,1506	1,000	-0,544	0,394
	88	0,025	0,1436	1,000	-0,422	0,472
8	1	-0,236	0,1733	0,872	-0,776	0,304
	3	0,267	0,1506	0,641	-0,202	0,736
	55	0,200	0,1573	0,907	-0,290	0,690
	5	0,714	0,1537	0,000	0,235	1,192
	6	0,633	0,1506	0,002	0,164	1,102
	7	0,075	0,1506	1,000	-0,394	0,544
	88	0,100	0,1506	0,998	-0,369	0,569
88	1	-0,336	0,1673	0,484	-0,857	0,185
	3	0,167	0,1436	0,940	-0,281	0,614
	55	0,100	0,1506	0,998	-0,369	0,569
	5	0,614	0,1468	0,002	0,156	1,071
	6	0,533	0,1436	0,009	0,086	0,981
	7	-0,025	0,1436	1,000	-0,472	0,422
	8	-0,100	0,1506	0,998	-0,569	0,369
1 (Prae)	3	0,502	0,1673	0,067	-0,019	1,023
	55	0,436	0,1733	0,205	-0,104	0,976
	5	0,949	0,1701	0,000	0,420	1,479
	6	0,869	0,1673	0,000	0,348	1,390
	7	0,311	0,1673	0,584	-0,210	0,832
	8	0,236	0,1733	0,872	-0,304	0,776
	88	0,336	0,1673	0,484	-0,185	0,857

Tabelle 53: Occludin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable:
Occludin_Alveolarepten Tukey-HSD

*E-Cadherin***E-Cadherin Atemwegsepithel**

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,394	0,2137	0,593	-0,272	1,060
	55	0,333	0,2051	0,734	-0,306	0,972
	5	0,233	0,1835	0,906	-0,338	0,805
	6	0,147	0,1799	0,992	-0,414	0,707
	7	0,242	0,1835	0,890	-0,330	0,813
	8	-0,002	0,1924	1,000	-0,601	0,598
	88	0,067	0,1835	1,000	-0,505	0,638
55	1	0,061	0,2326	1,000	-0,664	0,785
	3	-0,333	0,2051	0,734	-0,972	0,306
	5	-0,100	0,2051	1,000	-0,739	0,539
	6	-0,187	0,2019	0,983	-0,815	0,442
	7	-0,092	0,2051	1,000	-0,731	0,547
	8	-0,335	0,2132	0,765	-0,999	0,329
	88	-0,267	0,2051	0,896	-0,906	0,372
5	1	0,161	0,2137	0,995	-0,505	0,826
	3	-0,233	0,1835	0,906	-0,805	0,338
	55	0,100	0,2051	1,000	-0,539	0,739
	6	-0,087	0,1799	1,000	-0,647	0,474
	7	0,008	0,1835	1,000	-0,563	0,580
	8	-0,235	0,1924	0,923	-0,834	0,364
	88	-0,167	0,1835	0,984	-0,738	0,405
6	1	0,247	0,2107	0,937	-0,409	0,903
	3	-0,147	0,1799	0,992	-0,707	0,414
	55	0,187	0,2019	0,983	-0,442	0,815
	5	0,087	0,1799	1,000	-0,474	0,647
	7	0,095	0,1799	0,999	-0,465	0,655
	8	-0,148	0,1890	0,993	-0,737	0,440
	88	-0,080	0,1799	1,000	-0,640	0,480
7	1	0,152	0,2137	0,996	-0,513	0,818
	3	-0,242	0,1835	0,890	-0,813	0,330
	55	0,092	0,2051	1,000	-0,547	0,731
	5	-0,008	0,1835	1,000	-0,580	0,563
	6	-0,095	0,1799	0,999	-0,655	0,465
	8	-0,243	0,1924	0,909	-0,843	0,356
	88	-0,175	0,1835	0,979	-0,746	0,396

8	1	0,396	0,2215	0,631	-0,294	1,085
	3	0,002	0,1924	1,000	-0,598	0,601
	55	0,335	0,2132	0,765	-0,329	0,999
	5	0,235	0,1924	0,923	-0,364	0,834
	6	0,148	0,1890	0,993	-0,440	0,737
	7	0,243	0,1924	0,909	-0,356	0,843
	88	0,068	0,1924	1,000	-0,531	0,668
88	1	0,327	0,2137	0,788	-0,338	0,993
	3	-0,067	0,1835	1,000	-0,638	0,505
	55	0,267	0,2051	0,896	-0,372	0,906
	5	0,167	0,1835	0,984	-0,405	0,738
	6	0,080	0,1799	1,000	-0,480	0,640
	7	0,175	0,1835	0,979	-0,396	0,746
	8	-0,068	0,1924	1,000	-0,668	0,531
1 (Prae)	3	-0,394	0,2137	0,593	-1,060	0,272
	55	-0,061	0,2326	1,000	-0,785	0,664
	5	-0,161	0,2137	0,995	-0,826	0,505
	6	-0,247	0,2107	,937	-0,903	0,409
	7	-0,152	0,2137	,996	-0,818	0,513
	8	-0,396	0,2215	0,631	-1,085	0,294
	88	-0,327	0,2137	0,788	-0,993	0,338

Tabelle 54: E-Cadherin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: E-Cadherin_Atemwegsepithel Tukey-HSD

E-Cadherin Endothel

N/A

E-Cadherin Alveolarsepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,040	0,2737	1,000	-0,893	0,812
	55	0,167	0,2627	0,998	-0,652	0,985
	5	0,067	0,2350	1,000	-0,665	0,798
	6	-0,391	0,2304	0,689	-1,109	0,327
	7	-0,067	0,2350	1,000	-0,798	0,665
	8	-0,203	0,2464	0,991	-0,971	0,564
	88	-0,225	0,2350	0,979	-0,957	0,507
55	1	-0,207	0,2979	0,997	-1,135	0,721

Anhang Ergebnisse

	3	-0,167	0,2627	0,998	-0,985	0,652
	5	-0,100	0,2627	1,000	-0,918	0,718
	6	-0,558	0,2586	0,389	-1,363	0,248
	7	-0,233	0,2627	0,986	-1,052	0,585
	8	-0,370	0,2730	0,874	-1,220	0,480
	88	-0,392	0,2627	0,810	-1,210	0,427
	5	1	-0,107	0,2737	1,000	-0,960
3		-0,067	0,2350	1,000	-0,798	0,665
55		0,100	0,2627	1,000	-0,718	0,918
6		-0,458	0,2304	0,497	-1,175	0,260
7		-0,133	0,2350	0,999	-0,865	0,598
8		-0,270	0,2464	0,956	-1,038	0,498
88		-0,292	0,2350	0,917	-1,023	0,440
6	1	0,351	0,2698	0,896	-0,490	1,191
	3	0,391	0,2304	0,689	-0,327	1,109
	55	0,558	0,2586	0,389	-0,248	1,363
	5	0,458	0,2304	0,497	-0,260	1,175
	7	0,324	0,2304	0,851	-0,393	1,042
	8	0,188	0,2421	0,994	-0,566	0,942
	88	0,166	0,2304	0,996	-0,552	0,884
7	1	0,026	0,2737	1,000	-0,826	0,879
	3	0,067	0,2350	1,000	-0,665	0,798
	55	0,233	0,2627	0,986	-0,585	1,052
	5	0,133	0,2350	0,999	-0,598	0,865
	6	-0,324	0,2304	0,851	-1,042	0,393
	8	-0,137	0,2464	0,999	-0,904	0,631
	88	-0,158	0,2350	0,997	-0,890	0,573
8	1	0,163	0,2836	0,999	-0,721	1,046
	3	0,203	0,2464	0,991	-0,564	0,971
	55	0,370	0,2730	0,874	-0,480	1,220
	5	0,270	0,2464	0,956	-0,498	1,038
	6	-0,188	0,2421	0,994	-0,942	0,566
	7	0,137	0,2464	0,999	-0,631	0,904
	88	-0,022	0,2464	1,000	-0,789	0,746
88	1	0,185	0,2737	0,997	-0,668	1,037
	3	0,225	0,2350	0,979	-0,507	0,957
	55	0,392	0,2627	0,810	-0,427	1,210
	5	0,292	0,2350	0,917	-0,440	1,023
	6	-0,166	0,2304	0,996	-0,884	0,552
	7	0,158	0,2350	0,997	-0,573	0,890
	8	0,022	0,2464	1,000	-0,746	0,789
1 (Prae)	3	0,040	0,2737	1,000	-0,812	0,893
	55	0,207	0,2979	0,997	-0,721	1,135

	5	0,107	0,2737	1,000	-0,745	0,960
	6	-0,351	0,2698	0,896	-1,191	0,490
	7	-0,026	0,2737	1,000	-0,879	0,826
	8	-0,163	0,2836	0,999	-1,046	0,721
	88	-0,185	0,2737	0,997	-1,037	0,668

Tabelle 55: E-Cadherin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: E-Cadherin_Alveolaresepten E-Cadherin_Alveolaresepten Tukey-HSD

β-Catenin

β-Catenin Atemwegsepithel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,949	0,3031	0,059	-1,917	0,019
	55	-0,179	0,2909	0,999	-1,108	0,750
	5	-0,742	0,2729	0,159	-1,613	0,130
	6	-0,736	0,2811	0,196	-1,634	0,161
	7	-0,201	0,2661	0,998	-1,050	0,649
	8	-0,514	0,2811	0,664	-1,411	0,384
	9	-0,020	0,3031	1,000	-0,988	0,948
	88	-0,108	0,2602	1,000	-0,939	0,723
55	1	-0,770	0,3299	0,336	-1,823	0,284
	3	0,179	0,2909	0,999	-0,750	1,108
	5	-0,563	0,3023	0,642	-1,528	0,403
	6	-0,557	0,3097	0,683	-1,546	0,432
	7	-0,022	0,2962	1,000	-0,967	0,924
	8	-0,335	0,3097	0,975	-1,324	0,654
	9	0,159	0,3299	1,000	-0,894	1,212
	88	0,071	0,2909	1,000	-0,858	1,000
5	1	-0,207	0,3141	0,999	-1,210	0,796
	3	0,742	0,2729	0,159	-0,130	1,613
	55	0,563	0,3023	0,642	-0,403	1,528
	6	0,006	0,2929	1,000	-0,930	0,941
	7	0,541	0,2785	0,587	-0,348	1,430
	8	0,228	0,2929	0,997	-0,707	1,163
	9	0,721	0,3141	0,357	-0,282	1,724
	88	0,633	0,2729	0,343	-0,238	1,505
6	1	-0,213	0,3212	0,999	-1,238	0,813
	3	0,736	0,2811	0,196	-0,161	1,634

Anhang Ergebnisse

	55	0,557	0,3097	0,683	-0,432	1,546
	5	-0,006	0,2929	1,000	-0,941	0,930
	7	0,535	0,2865	0,637	-0,379	1,450
	8	0,222	0,3005	0,998	-0,737	1,182
	9	0,716	0,3212	0,398	-0,310	1,742
	88	0,628	0,2811	0,395	-0,270	1,525
7	1	-0,748	0,3082	0,285	-1,732	0,236
	3	0,201	0,2661	0,998	-0,649	1,050
	55	0,022	0,2962	1,000	-0,924	0,967
	5	-0,541	0,2785	0,587	-1,430	0,348
	6	-0,535	0,2865	0,637	-1,450	0,379
	8	-0,313	0,2865	0,974	-1,228	0,602
	9	0,181	0,3082	1,000	-0,803	1,165
	88	0,092	0,2661	1,000	-0,757	0,942
8	1	-0,435	0,3212	0,911	-1,461	0,591
	3	0,514	0,2811	0,664	-0,384	1,411
	55	0,335	0,3097	0,975	-0,654	1,324
	5	-0,228	0,2929	0,997	-1,163	0,707
	6	-0,222	0,3005	0,998	-1,182	0,737
	7	0,313	0,2865	0,974	-0,602	1,228
	9	0,494	0,3212	0,835	-0,532	1,519
	88	0,406	0,2811	0,877	-0,492	1,303
9	1	-0,929	0,3407	0,156	-2,016	0,159
	3	0,020	0,3031	1,000	-0,948	0,988
	55	-0,159	0,3299	1,000	-1,212	0,894
	5	-0,721	0,3141	0,357	-1,724	0,282
	6	-0,716	0,3212	0,398	-1,742	0,310
	7	-0,181	0,3082	1,000	-1,165	0,803
	8	-0,494	0,3212	0,835	-1,519	0,532
	88	-0,088	0,3031	1,000	-1,056	0,880
88	1	-0,840	0,3031	0,141	-1,808	0,127
	3	0,108	0,2602	1,000	-0,723	0,939
	55	-0,071	0,2909	1,000	-1,000	0,858
	5	-0,633	0,2729	0,343	-1,505	0,238
	6	-0,628	0,2811	0,395	-1,525	0,270
	7	-0,092	0,2661	1,000	-0,942	0,757
	8	-0,406	0,2811	0,877	-1,303	0,492
	9	0,088	0,3031	1,000	-0,880	1,056
1 (Prae)	3	0,949	0,3031	0,059	-0,019	1,917
	55	0,770	0,3299	0,336	-0,284	1,823
	5	0,207	0,3141	0,999	-0,796	1,210
	6	0,213	0,3212	0,999	-0,813	1,238
	7	0,748	0,3082	0,285	-0,236	1,732

	8	0,435	0,3212	0,911	-0,591	1,461
	9	0,929	0,3407	0,156	-0,159	2,016
	88	0,840	0,3031	0,141	-0,127	1,808

Tabelle 56: β -Catenin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: β -Catenin_Atemwegsepithel Tukey-HSD

β -Catenin Endothel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-1,392	0,2590	0,000	-2,219	-0,565
	55	-0,642	0,2485	0,212	-1,435	0,152
	5	-0,712	0,2332	0,072	-1,456	0,033
	6	-0,447	0,2401	0,641	-1,214	0,319
	7	-0,746	0,2273	0,039	-1,472	-0,020
	8	-0,503	0,2401	0,485	-1,269	0,264
	9	-1,106	0,2590	0,002	-1,933	-0,279
	88	-0,267	0,2223	0,954	-0,976	0,443
55	1	-0,750	0,2818	0,180	-1,650	0,150
	3	0,642	0,2485	0,212	-0,152	1,435
	5	-0,070	0,2583	1,000	-0,895	0,755
	6	0,194	0,2646	0,998	-0,650	1,039
	7	-0,105	0,2530	1,000	-0,912	0,703
	8	0,139	0,2646	1,000	-0,706	0,984
	9	-0,464	0,2818	0,775	-1,364	0,436
	88	0,375	0,2485	0,848	-0,419	1,169
5	1	-0,680	0,2683	0,233	-1,537	0,177
	3	0,712	0,2332	0,072	-0,033	1,456
	55	0,070	0,2583	1,000	-0,755	0,895
	6	0,264	0,2502	0,978	-0,534	1,063
	7	-0,035	0,2379	1,000	-0,794	0,725
	8	0,209	0,2502	0,995	-0,590	1,008
	9	-0,394	0,2683	0,866	-1,251	0,463
	88	0,445	0,2332	0,610	-0,299	1,189
6	1	-0,944	0,2744	0,025	-1,821	-0,068
	3	0,447	0,2401	0,641	-0,319	1,214
	55	-0,194	0,2646	0,998	-1,039	0,650
	5	-0,264	0,2502	0,978	-1,063	0,534
	7	-0,299	0,2447	0,949	-1,080	0,482
	8	-0,056	0,2567	1,000	-0,875	0,764
	9	-0,659	0,2744	0,299	-1,535	0,217

	88	0,181	0,2401	0,998	-0,586	0,947
7	1	-0,645	0,2633	0,272	-1,486	0,195
	3	0,746	0,2273	0,039	0,020	1,472
	55	0,105	0,2530	1,000	-0,703	0,912
	5	0,035	0,2379	1,000	-0,725	0,794
	6	0,299	0,2447	0,949	-0,482	1,080
	8	0,243	0,2447	0,985	-0,538	1,025
	9	-0,360	0,2633	0,907	-1,200	0,481
	88	0,480	0,2273	0,475	-0,246	1,205
8	1	-0,889	0,2744	0,044	-1,765	-0,013
	3	0,503	0,2401	0,485	-0,264	1,269
	55	-0,139	0,2646	1,000	-0,984	0,706
	5	-0,209	0,2502	0,995	-1,008	0,590
	6	0,056	0,2567	1,000	-0,764	0,875
	7	-0,243	0,2447	0,985	-1,025	0,538
	9	-0,603	0,2744	0,418	-1,479	0,273
	88	0,236	0,2401	0,986	-0,531	1,003
9	1	-0,286	0,2911	0,986	-1,215	0,644
	3	1,106	0,2590	0,002	0,279	1,933
	55	0,464	0,2818	0,775	-0,436	1,364
	5	0,394	0,2683	0,866	-0,463	1,251
	6	0,659	0,2744	0,299	-0,217	1,535
	7	0,360	0,2633	0,907	-0,481	1,200
	8	0,603	0,2744	0,418	-0,273	1,479
	88	0,839	0,2590	0,044	0,012	1,666
88	1	-1,125	0,2590	0,001	-1,952	-0,298
	3	0,267	0,2223	0,954	-0,443	0,976
	55	-0,375	0,2485	0,848	-1,169	0,419
	5	-0,445	0,2332	0,610	-1,189	0,299
	6	-0,181	0,2401	0,998	-0,947	0,586
	7	-0,480	0,2273	0,475	-1,205	0,246
	8	-0,236	0,2401	0,986	-1,003	0,531
	9	-0,839	0,2590	0,044	-1,666	-0,012
1 (Prae)	3	1,392	0,2590	0,000	0,565	2,219
	55	0,750	0,2818	0,180	-0,150	1,650
	5	0,680	0,2683	0,233	-0,177	1,537
	6	0,944	0,2744	0,025	0,068	1,821
	7	0,645	0,2633	0,272	-0,195	1,486
	8	0,889	0,2744	0,044	0,013	1,765
	9	0,286	0,2911	0,986	-0,644	1,215
	88	1,125	0,2590	0,001	0,298	1,952

Tabelle 57: β -Catenin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: β -Catenin_Endothel β -Catenin_Endothel Tukey-HSD

β-Catenin Alveolarsepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,888	0,2052	0,001	-1,543	-0,233
	55	-0,129	0,1969	0,999	-0,758	0,500
	5	-0,717	0,1847	0,007	-1,306	-0,127
	6	0,083	0,1902	1,000	-0,524	0,691
	7	-0,598	0,1801	0,035	-1,173	-0,024
	8	-0,783	0,1902	0,003	-1,391	-0,176
	9	-0,702	0,2052	0,026	-1,357	-0,047
	88	-0,417	0,1761	0,318	-0,979	0,146
55	1	-0,759	0,2233	0,028	-1,472	-0,046
	3	0,129	0,1969	0,999	-0,500	0,758
	5	-0,588	0,2046	0,112	-1,241	0,066
	6	0,213	0,2096	0,983	-0,457	0,882
	7	-0,469	0,2005	0,331	-1,109	0,171
	8	-0,654	0,2096	0,061	-1,323	0,015
	9	-0,573	0,2233	0,218	-1,286	0,140
	88	-0,288	0,1969	0,870	-0,916	0,341
5	1	-0,171	0,2126	0,996	-0,850	0,507
	3	0,717	0,1847	0,007	0,127	1,306
	55	0,588	0,2046	0,112	-0,066	1,241
	6	0,800	0,1982	0,004	0,167	1,433
	7	0,118	0,1885	0,999	-0,484	0,720
	8	-0,067	0,1982	1,000	-0,700	0,566
	9	0,014	0,2126	1,000	-0,665	0,693
	88	0,300	0,1847	0,789	-0,290	0,890
6	1	-0,971	0,2174	0,001	-1,666	-0,277
	3	-0,083	0,1902	1,000	-0,691	0,524
	55	-0,213	0,2096	0,983	-0,882	0,457
	5	-0,800	0,1982	0,004	-1,433	-0,167
	7	-0,682	0,1939	0,020	-1,301	-0,063
	8	-0,867	0,2034	0,002	-1,516	-0,217
	9	-0,786	0,2174	0,015	-1,480	-0,092
	88	-0,500	0,1902	0,192	-1,107	0,107
7	1	-0,290	0,2086	0,899	-0,956	0,376
	3	0,598	0,1801	0,035	0,024	1,173
	55	0,469	0,2005	0,331	-0,171	1,109
	5	-0,118	0,1885	0,999	-0,720	0,484
	6	0,682	0,1939	0,020	0,063	1,301

	8	-0,185	0,1939	0,989	-0,804	0,434
	9	-0,104	0,2086	1,000	-0,770	0,562
	88	0,182	0,1801	0,984	-0,393	0,757
8	1	-0,105	0,2174	1,000	-0,799	0,589
	3	0,783	0,1902	0,003	0,176	1,391
	55	0,654	0,2096	0,061	-0,015	1,323
	5	0,067	0,1982	1,000	-0,566	0,700
	6	0,867	0,2034	0,002	0,217	1,516
	7	0,185	0,1939	0,989	-0,434	0,804
	9	0,081	0,2174	1,000	-0,613	0,775
	88	0,367	0,1902	0,597	-0,241	0,974
	9	1	-0,186	0,2306	0,996	-0,922
3		0,702	0,2052	0,026	0,047	1,357
55		0,573	0,2233	0,218	-0,140	1,286
5		-0,014	0,2126	1,000	-0,693	0,665
6		0,786	0,2174	0,015	0,092	1,480
7		0,104	0,2086	1,000	-0,562	0,770
8		-0,081	0,2174	1,000	-0,775	0,613
88		0,286	0,2052	0,897	-0,369	0,941
88		1	-0,471	0,2052	0,357	-1,127
	3	0,417	0,1761	0,318	-0,146	0,979
	55	0,288	0,1969	0,870	-0,341	0,916
	5	-0,300	0,1847	0,789	-0,890	0,290
	6	0,500	0,1902	0,192	-0,107	1,107
	7	-0,182	0,1801	0,984	-0,757	0,393
	8	-0,367	0,1902	0,597	-0,974	0,241
	9	-0,286	0,2052	0,897	-0,941	0,369
	1 (Prae)	3	0,888	0,2052	0,001	0,233
55		0,759	0,2233	0,028	0,046	1,472
5		0,171	0,2126	0,996	-0,507	0,850
6		0,971	0,2174	0,001	0,277	1,666
7		0,290	0,2086	0,899	-0,376	0,956
8		0,105	0,2174	1,000	-0,589	0,799
9		0,186	0,2306	0,996	-0,551	0,922
88		0,471	0,2052	0,357	-0,184	1,127

Tabelle 58: β -Catenin – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: β -Catenin_Alveolarepten β -Catenin_Alveolarepten Tukey-HSD

Cx43

Cx43 Atemwegsepithel

N/A

Cx43 Endothel

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	0,083	0,1549	1,000	-,412	0,578
	55	-0,417	0,1734	0,298	-0,971	0,137
	5	-0,617	0,1437	0,002	-1,076	-0,158
	6	-0,217	0,1437	0,848	-0,676	0,242
	7	0,083	0,1330	0,999	-0,342	0,508
	8	0,083	0,1395	1,000	-0,362	0,529
	9	0,083	0,1549	1,000	-0,412	0,578
	88	0,000	0,1330	1,000	-0,425	0,425
55	1	0,500	0,1908	0,196	-0,110	1,110
	3	0,417	0,1734	0,298	-0,137	0,971
	5	-0,200	0,1817	0,972	-0,781	0,381
	6	0,200	0,1817	0,972	-0,381	0,781
	7	0,500	0,1734	0,110	-0,054	1,054
	8	0,500	0,1784	0,132	-0,070	1,070
	9	0,500	0,1908	0,196	-0,110	1,110
	88	0,417	0,1734	0,298	-0,137	0,971
5	1	0,700	0,1642	0,002	0,175	1,225
	3	0,617	0,1437	0,002	0,158	1,076
	55	0,200	0,1817	0,972	-0,381	0,781
	6	0,400	0,1536	0,203	-0,091	0,891
	7	0,700	0,1437	0,000	0,241	1,159
	8	0,700	0,1497	0,000	0,222	1,178
	9	0,700	0,1642	0,002	0,175	1,225
	88	0,617	0,1437	0,002	0,158	1,076
6	1	0,300	0,1642	0,664	-0,225	0,825
	3	0,217	0,1437	0,848	-0,242	0,676
	55	-0,200	0,1817	0,972	-0,781	0,381
	5	-0,400	0,1536	0,203	-0,891	0,091
	7	0,300	0,1437	0,489	-0,159	0,759
	8	0,300	0,1497	0,545	-0,178	0,778
	9	0,300	0,1642	0,664	-0,225	0,825

	88	0,217	0,1437	0,848	-0,242	0,676
7	1	0,000	0,1549	1,000	-0,495	0,495
	3	-0,083	0,1330	0,999	-0,508	0,342
	55	-0,500	0,1734	0,110	-1,054	0,054
	5	-0,700	0,1437	0,000	-1,159	-0,241
	6	-0,300	0,1437	0,489	-0,759	0,159
	8	0,000	0,1395	1,000	-0,446	0,446
	9	0,000	0,1549	1,000	-0,495	0,495
	88	-0,083	0,1330	0,999	-0,508	0,342
8	1	0,000	0,1605	1,000	-0,513	0,513
	3	-0,083	0,1395	1,000	-0,529	0,362
	55	-0,500	0,1784	0,132	-1,070	0,070
	5	-0,700	0,1497	0,000	-1,178	-0,222
	6	-0,300	0,1497	0,545	-0,778	0,178
	7	0,000	0,1395	1,000	-0,446	0,446
	9	0,000	0,1605	1,000	-0,513	0,513
	88	-0,083	0,1395	1,000	-0,529	0,362
9	1	0,000	0,1741	1,000	-0,556	0,556
	3	-0,083	0,1549	1,000	-0,578	0,412
	55	-0,500	0,1908	0,196	-1,110	0,110
	5	-0,700	0,1642	0,002	-1,225	-0,175
	6	-0,300	0,1642	0,664	-0,825	0,225
	7	0,000	0,1549	1,000	-0,495	0,495
	8	0,000	0,1605	1,000	-0,513	0,513
	88	-0,083	0,1549	1,000	-0,578	0,412
88	1	0,083	0,1549	1,000	-0,412	0,578
	3	0,000	0,1330	1,000	-0,425	0,425
	55	-0,417	0,1734	0,298	-0,971	0,137
	5	-0,617	0,1437	0,002	-1,076	-0,158
	6	-0,217	0,1437	0,848	-0,676	0,242
	7	0,083	0,1330	0,999	-0,342	0,508
	8	0,083	0,1395	1,000	-0,362	0,529
	9	0,083	0,1549	1,000	-0,412	0,578
1 (Prae)	3	-0,083	0,1549	1,000	-0,578	0,412
	55	-0,500	0,1908	0,196	-1,110	0,110
	5	-0,700	0,1642	0,002	-1,225	-0,175
	6	-0,300	0,1642	0,664	-0,825	0,225
	7	0,000	0,1549	1,000	-0,495	0,495
	8	0,000	0,1605	1,000	-0,513	0,513
	9	0,000	0,1741	1,000	-0,556	0,556
	88	-0,083	0,1549	1,000	-0,578	0,412

Tabelle 59: Cx43 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Cx43_Endothel Tukey-HSD

Cx43 Alveolarsepten

(I)Gruppe		Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95 %-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
3	1	-0,252	0,1706	0,861	-0,798	0,293
	55	0,033	0,1910	1,000	-0,577	0,644
	5	0,200	0,1582	0,938	-0,305	0,705
	6	0,167	0,1582	0,979	-0,339	0,672
	7	-0,367	0,1465	0,247	-0,835	0,101
	8	-0,157	0,1536	0,983	-0,648	0,334
	9	0,176	0,1706	0,981	-0,369	0,721
	88	-0,092	0,1465	0,999	-0,560	0,376
55	1	-0,286	0,2101	0,909	-0,957	0,386
	3	-0,033	0,1910	1,000	-0,644	0,577
	5	0,167	0,2001	0,995	-0,473	0,806
	6	0,133	0,2001	0,999	-0,506	0,773
	7	-0,400	0,1910	0,485	-1,010	0,210
	8	-0,190	0,1965	0,988	-0,818	0,438
	9	0,143	0,2101	0,999	-0,528	0,814
	88	-0,125	0,1910	0,999	-0,735	0,485
5	1	-0,452	0,1808	0,248	-1,030	0,125
	3	-0,200	0,1582	0,938	-0,705	0,305
	55	-0,167	0,2001	0,995	-0,806	0,473
	6	-0,033	0,1691	1,000	-0,574	0,507
	7	-0,567	0,1582	0,017	-1,072	-0,061
	8	-0,357	0,1648	0,440	-0,883	0,170
	9	-0,024	0,1808	1,000	-0,602	0,554
	88	-0,292	0,1582	0,653	-0,797	0,214
6	1	-0,419	0,1808	0,345	-0,997	0,159
	3	-0,167	0,1582	0,979	-0,672	0,339
	55	-0,133	0,2001	0,999	-0,773	0,506
	5	0,033	0,1691	1,000	-0,507	0,574
	7	-0,533	0,1582	0,031	-1,039	-0,028
	8	-0,323	0,1648	0,574	-0,850	0,203
	9	0,010	0,1808	1,000	-0,568	0,587
	88	-0,258	0,1582	0,784	-0,764	0,247
7	1	0,114	0,1706	0,999	-0,431	0,659
	3	0,367	0,1465	0,247	-0,101	0,835
	55	0,400	0,1910	0,485	-0,210	1,010

	5	0,567	0,1582	0,017	0,061	1,072
	6	0,533	0,1582	0,031	0,028	1,039
	8	0,210	0,1536	0,906	-0,281	0,701
	9	0,543	0,1706	0,052	-0,002	1,088
	88	0,275	0,1465	0,631	-0,193	0,743
8	1	-0,096	0,1768	1,000	-0,661	0,469
	3	0,157	0,1536	0,983	-0,334	0,648
	55	0,190	0,1965	0,988	-0,438	0,818
	5	0,357	0,1648	0,440	-0,170	0,883
	6	0,323	0,1648	0,574	-0,203	0,850
	7	-0,210	0,1536	0,906	-0,701	0,281
	9	0,333	0,1768	0,627	-0,232	0,898
	88	0,065	0,1536	1,000	-0,426	0,556
9	1	-0,429	0,1918	0,395	-1,041	0,184
	3	-0,176	0,1706	0,981	-0,721	0,369
	55	-0,143	0,2101	0,999	-0,814	0,528
	5	0,024	0,1808	1,000	-0,554	0,602
	6	-0,010	0,1808	1,000	-0,587	0,568
	7	-0,543	0,1706	0,052	-1,088	0,002
	8	-0,333	0,1768	0,627	-0,898	0,232
	88	-0,268	0,1706	0,818	-0,813	0,277
88	1	-0,161	0,1706	0,990	-0,706	0,384
	3	0,092	0,1465	0,999	-0,376	0,560
	55	0,125	0,1910	0,999	-0,485	0,735
	5	0,292	0,1582	0,653	-0,214	0,797
	6	0,258	0,1582	0,784	-0,247	0,764
	7	-0,275	0,1465	0,631	-0,743	0,193
	8	-0,065	0,1536	1,000	-0,556	0,426
	9	0,268	0,1706	0,818	-0,277	0,813
1 (Prae)	3	0,252	0,1706	0,861	-0,293	0,798
	55	0,286	0,2101	0,909	-0,386	0,957
	5	0,452	0,1808	0,248	-0,125	1,030
	6	0,419	0,1808	0,345	-0,159	0,997
	7	-0,114	0,1706	0,999	-0,659	0,431
	8	0,096	0,1768	1,000	-0,469	0,661
	9	0,429	0,1918	0,395	-0,184	1,041
	88	0,161	0,1706	0,990	-0,384	0,706

Tabelle 60: Cx43 – Multiple Comparisons-Abhängige Variable: Cx43_Alveolarsepten
Tukey-HSD

Anhang Abdruckgenehmigung

Frau Jana Sandte
Melhopweg 24
22397 Hamburg

E-Mail an: janasandte@aol.com

10. April 2017

Copyright-Genehmigung Nr. 67/04/2017

Sehr geehrte Frau Sandte,

vielen Dank für Ihre Anfrage vom 19. März.

Wir gewähren Ihnen das Abdruckrecht aus

Buch: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere, 4. Aufl.
Autor: Liebich HG
Abbildung/Seite: Abb. 11-15, S. 248

Buch: Anatomie der Haussäugetiere, 2. Aufl.
Autor: König HE, Liebich HG
Abbildung/Seite: Abb. 8-27, S. 98; Abb. 8-30, S. 100

Das Abdruckrecht wird ausschließlich eingeräumt:

- nicht exklusiv
- nur für wissenschaftliche Zwecke
- einmalig für die Auflage in deutscher Sprache.

für (Publikation): die Verwendung in Ihrer Doktorarbeit

Konditionen:

Abdruckhonorar: keines

Zitierung: Bitte veröffentlichen Sie folgenden deutlichen Quellenhinweis auf die Originalpublikation:
Liebich HG. Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 4. Aufl. Stuttgart: Schattauer 2004; 248.

König HE, Liebich HG, Anatomie der Haussäugetiere. 2. Aufl. Stuttgart: Schattauer 2002; 98, 100.

Mit freundlichen Grüßen

i. A. Carola Kalff

Rechte und Lizenzen
Schattauer GmbH • www.schattauer.de
Verlag für Medizin und Naturwissenschaften
Hölderlinstr. 3 • 70174 Stuttgart
Tel. 0711 22987-14 • Fax 0711 22987-75
E-Mail: carola.kalff@schattauer.de

Registergericht Stuttgart HRB 3357 • Ust-IdNr.: DE147831168 • Steuer-Nr. 99029/01634
Geschäftsführer: Martin Spencker, Dr. Wulf Bertram, Oliver Fock
Bankverbindung: Stuttgarter Volksbank (BLZ 600 901 00, Konto 214 013 006)
IBAN: DE 66600901000214013006, SWIFT/BIC-Code: VOBADDESS

Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. Amasheh möchte ich mich herzlich dafür bedanken, dass er die Betreuung meiner externen Promotion am Fachbereich Veterinärmedizin der FU Berlin übernommen und eine Durchsicht meiner Arbeit vorgenommen hat.

Herrn PD Dr. Florian Wagner und Frau PD Dr. Sabine Wipper danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und der Möglichkeit zur Promotion in ihrem Projekt, die sehr freundliche Aufnahme in den Arbeitskreis, die fachliche Einführung in die Thematik des Projekts, die fachliche Betreuung sowie Durchsicht meiner Arbeit.

Im Besonderen danke ich Frau Prof. Dr. Johanna Brandner für die fachliche Einführung in die Thematik meiner Dissertation, die sehr herzliche Aufnahme und Atmosphäre, ihre fachliche Betreuung, die Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit, kritische Durchsicht und die konstruktiven Vorschläge zu meiner Arbeit sowie die jederzeit motivierende Unterstützung.

Großer Dank gilt auch Frau Sabine Vidal-y-Sy für ihre Unterstützung durch die Anfertigung der Immunfluoreszenz-Präparate und Herrn Dr. Hans O. Pinnschmidt für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinem Mann und meiner Mutter, die mir jederzeit motivierend zur Seite stehen und ganz besonders meinem Vater, der mich immer unterstützt und motiviert hat und sich sehr gefreut hätte, wenn er die Fertigstellung meiner Arbeit mit uns zusammen hätte erleben dürfen.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 29.06.2020

Jana Sandte



9 783967 290561
mbvberlin | mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-056-1