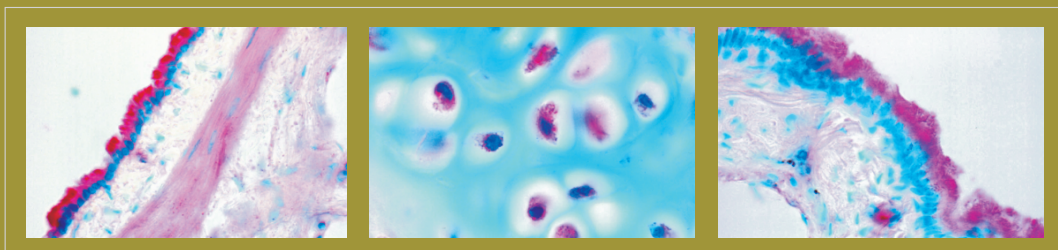


Regulation der Zytokine IL-4, IL-10 und IL-13 und deren Signalfaktoren in der Rattenlunge nach Endotoxinstimulation im Vergleich zur konstitutiven Expression im Organismus von Ratte und Mensch

INAUGURAL-PROMOTION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Andreas Christian Hocke



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

ISBN 3-89687-497-7

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2004

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2004

© 2004 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, WETTENBERG
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE

www.doktorverlag.de

Regulation der Zytokine IL-4, IL-10 und IL-13 und deren Signalfaktoren in der Rattenlunge nach Endotoxinstimulation im Vergleich zur konstitutiven Expression im Organismus von Ratte und Mensch

**Inaugural-Promotion
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von Hocke, Andreas Christian
aus Friedewald
Gießen 2004**

Aus dem medizinischen Zentrum für Pathologie

**Leiter: Prof. Dr. med. A. Schulz
des Universitätsklinikums Gießen**

Gutachter: PD Dr. Leander Ermert

Gutachter: PD Dr. Eugen Domann

Tag der Disputation: 03.08.2004

Meinen Eltern
Ingrid und Emil Hocke

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

INHALTSVERZEICHNIS

- 1 Einleitung (1-11)**
 - 1.1 Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)
 - 1.1.1 Pathoätiologie des ARDS
 - 1.2 Lipopolysaccharide (LPS)
 - 1.3 Interleukin-4 und Interleukin-13
 - 1.4 Interleukin-10
 - 1.5 Fragestellung
- 2 Material und Methoden (12-19)**
 - 2.1 Material
 - 2.1.1 Versuchsmaterial
 - 2.1.2 Mikroskopie
 - 2.2 Methoden
 - 2.2.1 Versuchsplanung und Biometrik
 - 2.2.2 Präparation von Tieren und humanem Probenmaterial
 - 2.2.3 Hämalaun-Eosin Färbung
 - 2.2.4 Immunhistologie
 - 2.2.5 Mikroskopische Evaluierung und Bilddokumentation
 - 2.2.6 Statistische Analyse semiquantitativ bestimmter Farbintensitäten
- 3 Ergebnisse (20-28)**
 - 3.1 Konstitutive, zelluläre Lokalisation anti-inflammatorischer Zytokine in Geweben funktioneller Organsysteme
 - 3.1.1 Kardio-pulmonales System
 - 3.1.2 Verdauungssystem
 - 3.1.3 Endokrines System
 - 3.1.4 Immunsystem
 - 3.1.5 Haut
 - 3.2 Regulation anti-inflammatorischer Zytokine in isolierten, LPS exponierten Rattenlungen
 - 3.2.1 IL-4 Kontrolllungen
 - 3.2.2 Expression von IL-4 nach LPS
 - 3.2.3 IL-13 Kontrolllungen
 - 3.2.4 Expression von IL-13 nach LPS

3.2.5	IL-4R α Kontrolllungen	
3.2.6	Expression von IL-4R α nach LPS	
3.2.7	STAT-6 Kontrolllungen	
3.2.8	Expression von STAT-6 nach LPS	
3.2.9	IL-10 Kontrolllungen	
3.2.10	Expression von IL-10 nach LPS	
3.2.11	IL-10R Kontrolllungen	
3.2.12	Expression von IL-10R nach LPS	
4	Diskussion	(29-40)
4.1	Konstitutive Zytokinexpression	
4.2	Vergleich LPS exponierter Rattenlungen	
4.3	Zusammenfassung	
5	Ausblick	(41)
6	Tabellen und Graphen	(42-79)
6.1	Tabellen	
6.2	Graphen	
7	Bildanhang	(80-81)
7.1	Konstitutive Zytokinexpression in verschiedenen Organen der Ratte	
7.2	Konstitutive Zytokinexpression in Rattenlungen	
7.3	Konstitutive Zytokinexpression in humanen Lungen	
7.4	Konstitutive Zytokinexpression gegenüber LPS-Exposition in der Rattenlunge	
8	Quellenverzeichnis	(82-105)
9	Abkürzungsverzeichnis	(106-107)
10	Nachwort	(108)
11	Lebenslauf	(109)

1 EINLEITUNG

1.1 Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

Die Lungen sichern den Gasaustausch von Sauerstoff und Kohlendioxid des Säugerorganismus. Erkrankungen wie das „Adult Respiratory Distress Syndrome“ (ARDS) beeinträchtigen diese Vitalfunktion und stellen einen lebensbedrohenden Zustand dar¹. Jährlich treten in Deutschland zirka 50.000 Fälle von ARDS auf. Trotz enormer intensivmedizinischer Bemühungen konnte die Mortalität von zirka 50 % seit 1970 nicht nennenswert gesenkt werden². Das ARDS stellt eine ausgeprägte Folge- und Schockreaktion der Lungen dar, die pathoätiologisch aus schweren, pulmonalen und extrapulmonalen Erkrankungen resultieren kann. Pathogenetisch nehmen die Sepsis oder bakteriell verursachte Pneumonien (43%) den größten Anteil ein. Weiterhin spielen Polytraumata mit direkter und indirekter Schädigung der Lungen oder die Aspiration eines toxischen Agens eine verursachende Rolle für das ARDS³.

1.1.1 Pathoätiologie des ARDS

Toxine gram-negativer und gram-positiver Bakterien führen zu Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine (z.B. IL-8, Interleukin-8) und folglich zu chemotaktischer Anlockung neutrophiler Granulozyten (**p**olymorphonuclear **n**eutrophils, PMN) und zur weiteren Aktivierung pro-inflammatorischer Signalkaskaden. Diese Leukozyten sezernieren aggressive Sauerstoffradikale und mikrobizide Substanzen, welche, neben der Abwehr entzündlicher Agenzien, eine Zerstörung der Lungengerüststruktur zur Folge haben können^{4;5}. Durch Inhibition von z.B. PMN-Apoptose kommt es zu einer protrahierten Freisetzung von Sauerstoffradikalen und der konsekutiven Zerstörung der durch „tight junctions“ gesicherten alveolären epi- und endothelialen Barriere⁶. Es folgt ein kapillärer Ausstrom eines proteinreichen Exsudats (exsudative Alveolitis), welches in ein diffuses, meist bilaterales, nicht-kardial verursachtes, interstitielles und intraalveoläres Lungenödem mündet. Die Ausbildung hyaliner Membranen (proteinreiche Niederschläge auf den Alveolarsepten) vermindern die Gasaustauschkapazität erheblich. In der Spätphase (>48h) geht die exsudative Form des ARDS in eine sklerosierende Form der Alveolitis über, wobei eine Reepi- und –endothelialisierung der alveolokapillären Membran stattfindet. Eine Rarefizierung der Kapillaren, bedingt durch

Mikrothrombosierungen und eine Verdickung der Alveolarsepten durch ungehemmte Fibroproliferation, mit Folge einer interstitiellen Lungenfibrose, können in einer irreversiblen respiratorischen Insuffizienz münden^{7;8}.

Pro-inflammatorische Zytokine nehmen eine zentrale Rolle während Initiation und Verlauf von Sepsis und ARDS ein⁹. Messungen von Zytokinexpression und -lokalisierung an ARDS erkrankten Patienten ergaben, dass die zeitliche sowie quantitative und qualitative Phaseneinteilung durch diese Parameter sehr schwierig sind. Schon im Initialstadium des ARDS wiesen **Bronchioalveoläre Lavagen (BAL)** durch die positive Korrelation der Konzentrationen des LPS-Rezeptors **soluble cluster of differentiation 14 (sCD14)** mit der invadierenden Menge PMN's richtungsweisende Befunde auf^{10;11}. Hohe Konzentrationen **Tumor Necrosis Factor α (TNF α)** fanden sich ebenfalls zu Beginn der Erkrankung und persistierten während des Verlaufes¹². Anhaltend hohe Spiegel pro-inflammatorischer Zytokine wie IL-1 β korrelierten mit einem ungünstigen Verlauf der Erkrankung^{9;12}. Donnelly et al. stellte ferner IL-8 als einen wesentlichen Prediktor für Beginn und Verlauf des ARDS heraus, allerdings liegen gegenteilige Ergebnisse vor^{9;13}. Für IL-10 und **Interleukin-1Rezeptorantagonist (IL-1Ra)** erwiesen sich geringe Spiegel in BAL-Flüssigkeiten als negativer Indikator für das Überleben von Patienten¹⁴. Die pulmonale Bedeutung der anti-inflammatorischen Zytokine IL-4, IL-13 und IL-10 bezüglich LPS-induzierter Genese von primär (Pneumonie) und sekundär (Sepsis) verursachten ARDS sowie deren Rolle in möglicher Prädiktion und Prävention ist weitestgehend unbekannt.

1.2 Lipopolysaccharide

Lipopolysaccharide (LPS, Endotoxin) ist integraler Bestandteil der äußeren Membran gram-negativer Bakterien. Im Rahmen gram-negativer Infektionen eines Organismus kommt es durch massiven bakteriellen Zerfall zu LPS Freisetzung und LPS-induzierter Aktivierung von **nuclear factor kappa B (NF κ B)**. Dieser Transkriptionsfaktor führt zur Produktion pro-inflammatorischer Zytokine in verschiedenen Zelltypen^{15;16}. Fieber, Hypotension, Sepsis und ARDS stellen schwere klinische Manifestationen starker LPS-Exposition dar.

Tobias et al. zeigte, dass die Bindung von LPS an das spezifische Transportprotein **LPS-binding-protein (LBP)** in vivo zur Stimulation einer Immunreaktion als Antwort auf geringe Mengen LPS wesentlich beiträgt¹⁷. Der Monozyten/Makrophagen

Differenzierungsmarker CD14 dient als spezifischer Rezeptor des LPS/LBP Komplex¹⁸. Außer der zellmembran-gebundenen Form des CD14 existiert eine lösliche Form (sCD14), die CD14⁻-Zellen (z.B. Epi- und Endothelzellen) befähigt eine LPS-Antwort durch humorale Bindung des LPS/LBP Komplex hervorzubringen¹⁹. Strukturanalysen und Transfektionsversuche erwiesen, dass der glykosylphosphatidyl-inositol verankerte CD14 Rezeptor, durch Fehlen einer transmembranären Domäne, kein LPS Signal in die Zelle übertragen kann²⁰. In vitro Versuche an humanen Endothelzellen zeigten, dass durch Zusatz von sCD14 und LBP haltigem Serum, die Endotoxin Sensitivität, gemessen an der NFκB Phosphorylierung, bis zu 3000-fach zunimmt²¹. Nach Bindung von sCD14 an LPS/LBP wird neben der Vermittlung einer pro-inflammatorischen Reaktion, gleichzeitig auch die Neutralisation von LPS durch „high density Lipoproteine“ und konsekutiven hepatozellulären Abbau vermittelt²².

Die in *Drosophila* identifizierten, dem IL-1β Rezeptor verwandten und im Menschen bezeichneten Toll like receptors (TLR) konnten als Korrelat der humanen und rodenten LPS Signalvermittlung herausgestellt werden²³. Die TLR-Isoformen weisen ein universelles Erkennungsmuster (pattern recognition receptors) gegenüber sowohl gram-negativen, als auch gram-positiven Bakterienbestandteilen auf²⁴. Elf TLR-Isoformen (1-11) mit unterschiedlichem zellulärem Expressionsmuster konnten bisher identifiziert werden, wobei sehr wahrscheinlich TLR-4 LPS induzierte Signaltransduktion vermittelt^{24;25}. TLR-4 interagiert mit CD14 und MD-2 (membranäres Ko-Molekül) unter Ausbildung eines spezifischen LPS Rezeptorkomplexes. Die Oligomerisierung dieses Rezeptorkomplexes wird durch LPS/LBP ausgelöst²⁶.

In der Lunge stellen LBP und sCD14 Bestandteile des alveolären Flüssigkeitsfilmes dar und sind, wie auch membrangebundenes CD14 auf Alveolarmakrophagen (AM), in der Lage LPS Signale via TLR-4 zu vermitteln²⁷. Die Konzentrationen von LBP und sCD14 stiegen in der BAL bei ARDS Patienten um bis zum Zehnfachen¹¹. Die überwiegende Produktion des „Akute Phase Proteins“ LBP sowie dessen messenger (m)RNA findet in der Leber statt. Diese konnte jedoch auch in pulmonalen Zelltypen dargelegt werden. In der Lunge sind vor allem Alveolarepithelien und Pneumozyten Typ II zur Produktion von LBP in der Lage, aber auch glatte Muskelzellen von Pulmonalarterien weisen diese Eigenschaft auf²⁸.

Exogenes LPS erhöht alveoläres LBP, welches wiederum die erhöhte Expression von IL-1 β , TNF α , IL-8 und IL-6 zur Folge hatte^{9;29}. Diese Zytokine spielen in ihrem komplexen Zusammenspiel für die Pathogenese des ARDS eine maßgebliche Rolle. 1989 zeigte Nelson et al. eine Kompartimentierung dieser Mediatoren in der Lunge³⁰. Die lokal-pulmonale zelluläre Expression sowohl pro- als auch anti-inflammatorischer unter LPS regulierter Mediatoren, ist bislang erst unvollständig untersucht. Aus diesem Grund versucht die vorliegende Arbeit, einen Beitrag zur Erweiterung der bereits vorliegenden Erkenntnisse eines Zytokinexpressionsprofils beim ARDS zu leisten.

1.3 Interleukin-4 und Interleukin-13

IL-4 wurde 1982 durch seine Eigenschaft, aktivierte B-Zellen zur Proliferation und Antikörpersekretion anzuregen identifiziert³¹. Bis heute wird angenommen, dass sich das zelluläre Vorkommen auf leukozytäre Zelltypen beschränkt. In erster Linie sind CD4⁺ Th₀- (T-Helfer-Zellen) und Th₂-Zellen zu nennen, aber auch CD8⁺ T-Zellen sowie Mastzellen und basophile Granulozyten werden als Expressionsort favorisiert³²⁻³⁵. Das später entdeckte IL-13 teilt zahlreiche biologische Eigenschaften und die zelluläre Herkunft mit IL-4³⁶.

Durch IL-4 induzierte Differenzierung antigen-stimulierter T-Zellen zu Th₂-Zellen kommt es zur weiteren Expression von IL-4 und anderer Mediatoren³⁷. Anti-inflammatorische Zytokine wie IL-4 und IL-13 sind Immunmodulatoren, welche durch Regulation und Inhibition auf die Monozyten/Makrophagen sowie Th₁-Expression pro-inflammatorischer Zytokine, von z.B. Interferon γ (IFN), TNF α , oder IL-1 β Einfluss nehmen³⁸. Ob diese Modulationen einen potentiell protektiven Einfluss auf die Genese des ARDS haben, ist nicht vollständig geklärt.

B-Zellen werden durch IL-4 bzw. IL-13 stimuliert, ihre Antikörperproduktion (Ak) auf Immunglobulin E (Ig) und IgG4 umzustellen, wobei der „low affinity IgE receptor“ (CD23) und major histocompatibility complex class II (MHC II) auf der Oberfläche von B-Zellen herauf reguliert werden^{39;40}. Die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine und Chemokine durch Monozyten wird durch beide Mediatoren inhibiert^{36;41}. Synergistisch mit TNF α induziert IL-4 die Expression von „Vascular Cell Adhesion Molecule-1“ und unterdrückt gleichzeitig die Expression von „Endothelial-Selectin“ auf Endothelzellen. Dadurch wird im Übergang von akuten zu

chronischen Entzündungsprozessen ein Wechsel zwischen Neutrophilen- und Lymphozytenmigration begünstigt⁴².

Diese biologischen immunmodulatorischen Funktionen beider Zytokine spielen in der Genese inflammatorischer (z.B. ARDS) und allergischer (z.B. Asthma) Erkrankungen eine wichtige Rolle und tragen Verantwortung für die Regulation leukozytärer Adhäsion und folgender Inflammation.

Als Gegenpart zu IL-6 inhibierte IL-4 die CD14 Freisetzung von der Oberfläche von AM. IL-4 konnte somit eine sCD14 ausgelöste LPS Antwort in der frühen Phase inflammatorischer Prozesse in endothelialen oder epithelialen Zellen verhindern⁴³. Ähnlich inhibierte IL-13 in humanen Monozyten die Expression von $\text{TNF}\alpha$ und CD14⁴⁴.

Durch Transfektion von IL-4 und IL-13 in Balb/c-Mäuse kam es zu hoher hepatozellulärer und lienaler Expression von IL-4 und IL-13 Protein. Der entstandene anti-inflammatorische Synergismus wurde in der Inhibition des endogenen $\text{TNF}\alpha$ -Anstieges nach anschließender Applikation einer letalen LPS-Dosis deutlich. Der Gentransfer wirkte sich signifikant positiv auf die Überlebensrate der Tiere aus⁴⁵. Eine Arbeit von Jain-Vora et al. verdeutlichte die Potenz von IL-4 zur Auflösung gram-negativer Infektionen durch *Pseudomonas aeruginosa* in IL-4 transgenen Mäusen⁴⁶. Pulmonales Bakterienwachstum konnte drastisch reduziert und das Überleben der Tiere signifikant gesteigert werden.

IL-4 und IL-13 teilen ein sehr großes biologisches Wirkungsspektrum auf Zellen der leukozytären, epithelialen und endothelialen Reihe. Dies korreliert mit der ubiquitären membranären IL-4 Rezeptorexpression (IL-4R α)⁴⁷. Die Expression beträgt meist nur hundert bis einige tausend Moleküle pro Zelle und ist daher nur schwach nachweisbar^{47,48}.

IL-4R α dient als gemeinsamer Rezeptor beider Mediatoren. Der IL-13 Rezeptor besteht aus einem Heterodimer der Komponenten IL-13R α 1 und IL-4R α . Der IL-13R α 1 wird auf vielen verschiedenen Zelltypen exprimiert und ist weitestgehend identisch mit der Verteilung von IL-4R α ⁴⁹. IL-4R α ist essentiell für die Bindung von IL-13 an seinen Rezeptor⁵⁰.

Bei IL-4R α handelt es sich um die hochaffine Bindungsstelle des IL-4 Rezeptorkomplexes für IL-4. Die zweite wichtige Komponente ist die sogenannte common γ chain (γ c-chain). Die γ c-chain bildet das Bindeglied zur intrazellulären Signaltransduktion und wurde erstmals im Zusammenhang mit dem IL-2R

identifiziert⁵¹. Sie spielt ferner im Zusammenhang mit anderen Rezeptoren eine wichtige Rolle (z.B. IL-7R, IL-9R, IL-15R). Sie ist jedoch nicht in die Signaltransduktion von IL-13 involviert. Die Funktion der γ c-Kette wird für IL-13 Signaltransduktion von anderen oberflächenexprimierten Polypeptiden übernommen^{52;53}.

Die Bindung an den IL-4 Rezeptorkomplex hat in unterschiedlichen Zelltypen die Stimulation diverser Signaltransduktionswege zur Folge. Sowohl eine Homodimerisierung der α -Kette als auch eine Heterodimerisierung von α - und γ c-Kette kann Signale initiieren⁵⁴⁻⁵⁶. Die intrazelluläre Weiterverarbeitung des Rezeptorsignals kann ebenso bereits durch extrazelluläre Unterschiede in der Aminosäuresequenz determiniert sein. So ist eine Isoleucin/Valin Substitution an Position 50 der extrazellulären Rezeptordomäne für die Heraufregulierung der IgE Synthese verantwortlich⁵⁷. Der zentrale Schritt von der Umsetzung des Rezeptorsignals in die intrazelluläre Signaltransduktion erfolgt durch die Aktivierung spezifischer Tyrosinkinase, welche wiederum durch Phosphorylierung die Aktivität weiterer Mediatoren steuern⁵⁸. Kinasen aus verschiedenen Familien („Src“-Familie, **Janus-Kinasen-Familie (JAK)** usw.) sind dabei direkt in die rezeptorvermittelte Transduktion involviert⁵⁹.

Im Falle der IL-4/13R Signaltransduktion spielen JAK Mitglieder eine entscheidende Rolle⁵⁸. JAK1 und JAK3 werden durch die jeweilige IL-4R Komponente (α -Kette oder γ c-Kette) aktiviert, welches die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Rezeptordomäne zur Folge hat. Konsekutiv folgt die Phosphorylierung des IL-4 spezifischen **signal transducer and activator of transcription-6 (STAT-6)**⁵⁹. Seinerseits phosphoryliert und homodimerisiert bildet STAT-6 durch Translokation in den Nukleus das Bindeglied zwischen Rezeptorsignal und IL-4 abhängiger Transkription^{55;60}.

Die IL-13R α 1 Domäne ist für die IL-13 spezifischen Wirkmuster verantwortlich⁶¹. Die IL-13R α 1 bildet die Hauptdomäne in nicht-hämatopoetischen Zellen des IL-4R Komplexes⁵³.

Experimente mit STAT-6 defizienten Mäusen demonstrierten, dass nahezu alle wichtigen biologischen Funktionen von IL-4 und IL-13 durch einen STAT-6 Verlust blockiert werden. Zum Beispiel fand weder die Differenzierung von ruhenden B-Zellen zu IgE produzierenden Zellen statt noch kam es zu Zellwachstum oder Hochregulation von MHC II bzw. CD23. Die Differenzierung von Th₀-Zellen zu

immunkompetenten IL-4, IL-5 und IL-10 produzierenden Th₂-Zellen war völlig blockiert^{60;62;63}. Diese Funktionen waren teilweise auch in IL-4 defizienten Mäusen aufgehoben. Durch zusätzliche Blockade des IL-4R α /IL-13R α 1 Signalweges wurden die STAT-6 vermittelten biologischen Aktivitäten komplett blockiert.

Eine weitere wichtige intrazelluläre Signalkomponente ist das „Insulin Substrat-2“, früher 4PS/IRS-2. Dieser Weg vermittelt im wesentlichen Signale zur Proliferation. Diese waren jedoch ebenfalls komplett oder teilweise in STAT-6 defizienten Mäusen aufgehoben, so dass eine STAT-6 abhängige Signalverarbeitung angenommen werden kann⁶³.

1.4 Interleukin-10

1989 fanden Fiorentino et al. ein Protein, welches von Th₂-Zellen produziert wird und die Fähigkeit besitzt, die Zytokinsynthese von Th₁-Zellen zu unterdrücken. Es wurde zunächst „cytokine synthesis inhibitory factor“ genannt, heute ist es bekannt unter der Bezeichnung IL-10⁶⁴. Aufgrund verschiedener Glykosylierungen besitzt es ein schwankendes Molekulargewicht zwischen 17 und 21 kDa⁶⁵. Neben Säugerzellen, z.B. aus Maus, Ratte oder Mensch, besitzt auch das Epstein-Barr-Virus die IL-10 DNA. Die Expression des viralen Proteins zeigt funktionell verwandte Eigenschaften in vitro und in vivo, die Affinität zu IL-10 Rezeptor (IL-10R) ist jedoch tausendfach geringer als die der zellulären Form⁶⁶. Zelluläres und virales IL-10 transduzieren in Effekt und Potenz unterschiedliche Signale⁶⁷.

IL-10 reguliert die Expression leukozytärer Zytokine und löslicher Mediatoren, welches die Art der Aktivierung und resultierende Effekte determiniert. Wie IL-4/13 supprimiert IL-10 die Zytokinsynthese in Th₁-Zellen und darüber hinaus auch in **Natürlichen Killerzellen** (NK-Zellen). In letzterem Fall resultiert eine Aktivationshemmung des Monozyten-Makrophagen-Systems und dendritischer Zellen⁶⁸⁻⁷¹. Supprimierte Zytokine sind vor allem TNF α , IL-1 α , IL-8, IL-12, GM-CSF, MIP-1 α , MIP-2, RANTES. IL-10 reguliert seine eigene Synthese und fördert die Ko-Expression des Synergisten IL-1Ra⁷²⁻⁷⁴.

Die Produktion von IL-10 in Monozyten und T-Zellen konnte durch unterschiedliche Stimuli hervorgerufen werden. Eine Vorstimulation (priming) von Monozyten mit LPS rief eine mit Cyclosporin A nicht zu unterdrückende IL-10 Expression hervor. Stimulierte man T-Zellen über anti-CD3, so war die folgende IL-10 Produktion sehr

gut mit Cyclosporin A zu unterdrücken⁷⁵. Dies deutet auf eine differenzierte zelluläre und stimulus-abhängige Genregulation von IL-10 hin. IL-10 verminderte, im Gegensatz zu IL-4, die Oberflächenexpression von MHC-Class II. Dies führt zur Herunterregulierung der Antigenpräsentation durch Monozyten gegenüber T-Zellen via MHC-Class II. Konsekutiv folgte der Verlust von CD54 (intracellular adhesion molecule-1), CD80 und CD86 (ko-stimulatorische Moleküle), welche auch nach Stimulation durch IL-4 herunterreguliert wurden^{76;77}. Im Gegenzug wurde die Expression von CD64 (antikörperabhängige Zytotoxizität) und CD16 (IgG Rezeptor, NK-Zytotoxizität), Komponenten des FcR, stimuliert. Der FcR spielt eine entscheidende Rolle bei der Opsonierung und Phagozytose von Bakterien durch Monozyten sowie der Genregulation von IL-4 in Mastzellen⁷⁸.

LPS induzierte die endogene Produktion von IL-10. Hierbei zeigte sich in den meisten Fällen, dass die IL-10 Serumspiegel zeitlich verzögert nach denen pro-inflammatorischer Mediatoren ansteigen. In vitro Versuche an Monozyten demonstrierten einen Anstieg der IL-10 Expression durch LPS oder TNF α nach 8-24 Stunden, Serumspiegel in Versuchen an Menschen und Schimpansen stiegen jedoch schon nach 2 Stunden an^{79;80}. Dies kann ein Hinweis auf weitere IL-10 produzierende zelluläre Systeme sein und auf eine schnellere endogene Sezernierung hindeuten. IL-10 defiziente Mäuse waren gegenüber Wildtyptieren schon bei einer 20-fach niedrigeren LPS-Dosis sensibel, was sich durch das Versterben der Tiere äußerte. Ferner zog eine LPS-Vorstimulation in diesen Tieren eine hohe Rate von Schwartzman-Reaktionen nach sich⁸¹. Kuhn et al. und Berg et al. erarbeiteten wegweisende Erkenntnisse durch in vivo Versuche an IL-10 defizienten Mäusen. Überschießende Entzündungsreaktionen im Rahmen schwerer chronischer Darmerkrankungen konnten nicht mehr limitiert werden. Humane in vivo Experimente bestätigten diese Erkenntnisse⁸¹⁻⁸⁴. Andere Studien belegten, dass die Überlebensrate von Mäusen nach Neutralisierung von IL-10 durch *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* oder *Mycobacterium avium* verursachte Pneumonien verbessert wird⁸⁵⁻⁸⁷. Offenbar wurde die intrazelluläre Prozessierung phagozytierter Bakterien durch IL-10 abhängige Verminderung der Generation von Superoxidanionen und Stickstoffmonoxid (NO) inhibiert⁸⁸. Rogy et al. konnte demonstrieren, dass ebenso die Akkumulation und Infiltration von PMN in Lungengewebe bei septischem Schock gehemmt wird⁸⁹. IL-10 verhinderte IgG induzierte PMN Migration während der Frühphase von Entzündungen⁹⁰. IL-10

unterdrückte die LPS-induzierte Produktion von Zytokinen, Chemokinen und Sauerstoffradikalen in PMN^{91;92}.

Serumbestimmungen der pro-inflammatorischen Zytokine TNF α und/oder IFN γ zeigten eine enge Korrelation zu dem Ausmaß des LPS-induzierten septischen Schocks und darauf folgender Mortalität von Mäusen. Die Applikation von IL-10 senkte via Syntheseinhibition deren Serumspiegel für TNF α und verbesserte die Mortalitätsrate deutlich^{93;94}.

Andererseits besitzt IL-10 starke pro-fibrotische Eigenschaften. Weber-Nordt et al. zeigte, dass die Rezeptorexpression in Fibroblasten nach „priming“ mit LPS stark zunahm⁹⁵. IL-10 bewirkt in vitro und in vivo die Bildung extrazellulärer Matrixproteine durch direkte Hemmung der Enzyme Kollagenase und Gelatinase. Diese Effekte sind von entscheidender Bedeutung in der späten fibroproliferativen Phase des ARDS. Die pro-koagulatorische Aktivität in Form von Fibrinmonomergeneration wird wiederum IL-10 abhängig unterdrückt, welches auf einen protektiven Effekt während der ARDS-Genese hinweist⁹⁶⁻⁹⁹.

Diese Befunde lassen eine mögliche protektive Rolle von IL-10 in den frühen Phasen von ARDS und Sepsis vermuten. Allerdings weisen die biologischen Aktivitäten von IL-10 in der Genese chronischer Entzündungen und der Beteiligung an fibrotischen Prozessen auf einen pro-inflammatorischen Effekt dieses Zytokins hin. Für ein besseres Verständnis dieser Vorgänge werden Daten über den zeitlichen Verlauf und die zelluläre Lokalisation der IL-10 Expression benötigt.

Die IL-10 Signale werden über den Rezeptor IL-10R vermittelt. Die meisten hämatopoetischen Zellen exprimieren den Rezeptor in einer Anzahl von wenigen hundert Molekülen pro Oberfläche. IL-10R mRNA ist in allen bislang untersuchten IL-10-reagiblen Zellen nachweisbar. Anders als für IL-4, existiert für IL-10 keine physiologische lösliche Form seines Rezeptors. Die rekombinante Form des sIL-10R antagonisierte IL-10 Effekte und weist damit auf die zentrale Bedeutung des Rezeptors für die Vermittlung von IL-10 Signalen hin^{100;101}.

Nach Protein-Rezeptor-Bindung findet eine Tyrosinphosphorylierung intrazellulärer Rezeptorkinasen und Transkriptionsfaktoren wie z.B. JAK-1, TYK-2, STAT-1, STAT-3 und STAT-5 statt^{102;103}. Darüber hinaus stellten andere Arbeiten die Einbeziehung von IL-10 in die NF κ B-Kaskade dar. Wang et al. zeigte die IL-10 induzierte NF κ B-Inhibition in aktivierten Monozyten, wohingegen Hurme et al. eine Aktivierung von „activating protein-1“ und NF κ B in CD8⁺ T-Zellen beschreibt^{104;105}.

Die spezifischen Effekte auf oder durch NF κ B, scheinen jedoch noch nicht vollständig geklärt zu sein.

Neben den Untersuchungen an leukozytären Zellen wurden nur wenige Experimente an anderen Zelllinien durchgeführt. Bonfield et al. fand 1995, dass IL-10 konstitutiv von epithelialen Zellen produziert wird, unter anderem von humanen Bronchialepithelzellen¹⁰⁶. Auch UV stimulierte Keratinozyten von Mäusen konnten IL-10 sezernieren¹⁰⁷. Eine IL-10-Produktion humaner Keratinozyten konnte jedoch nicht gefunden werden, was auf eine spezie-differente Expression schließen lässt¹⁰⁸.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass IL-10 ein starker Limitator inflammatorischer Prozesse ist und somit ein interessantes potentiell therapeutisches Agens darstellt. Die zelluläre Expression sowie die Bedeutung für pulmonale inflammatorische Erkrankungen ist weitestgehend unbekannt und soll in dieser Arbeit neben anderen Schwerpunkten untersucht werden.

1.5 Fragestellung

Zusammenfassend sollen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- 1.) Gibt es eine den Organismus übergreifende konstitutive Expression der anti-inflammatorischen Zytokine IL-4, IL-13 und IL-10 sowie deren direkter signaltransduzierender Komponenten?
- 2.) Gibt es eine organbezogene zelluläre Kompartimentierung der in 1.) genannten Mediatoren?
- 3.) Ist das erhobene pulmonale Expressionsmuster zwischen dem Nagetier Ratte und dem Menschen identisch?
- 4.) Wie verändert sich das zelluläre Expressionsmuster von IL-4, IL-13, IL-10 und deren signaltransduzierenden Proteinen in LPS exponierten, isoliert-ventilierten und blutfrei perfundierten Rattenlungen?
- 5.) Nehmen Plasmafaktoren wie z.B. sCD14, LBP, IL-1Ra, sIL-4R α Einfluss auf die in 4.) untersuchte Regulation?

2 MATERIAL und METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Versuchsmaterial

Die Lokalisation anti-inflammatorischer Zytokine und deren Regulation in LPS stimulierten Lungen wurde an Inzuchtieren des Stammes CD-Ratten (Sprague Dawley) der Firma Charles River Deutschland durchgeführt. Die Ratten waren männlich und zwischen 350g und 400g schwer. Die Präparation sowie Benennung und Gliederung der Organe und Gruppen wird im Abschnitt 2.2.2 (Methoden), und in Tab. 6.1.1 beschrieben.

Weiterhin wurden 29 normale humane Lungengewebeproben untersucht, die aus operativen Eingriffen von Patienten mit verschiedenen lokal-pulmonalen und nicht-pulmonalen Grunderkrankungen stammten. Es handelte sich sowohl um primäre Bronchialkarzinome verschiedener Differenzierung als auch um sekundäre Lungenbeteiligungen aufgrund von Metastasenabsiedlungen. Unter zuerst genannten fanden sich Plattenepithelkarzinome, Adenokarzinome sowie neuroendokrine Karzinome und großzellige Karzinome. Zur sekundären pulmonalen Beteiligung führten Nierenzellkarzinom-Metastasen und Teratom-Metastasen. Jeweils wurden zwischen einer und zehn Proben aus peripheren Anteilen der Resektate entnommen und im Hämalaun-Eosin-Präparat histologisch auf deren regelrechten Zustand der Organstrukturen untersucht. Das Kollektiv der Probenspender war männlich, mit einem Altersdurchschnitt von 64,5 Jahren und einer Altersspanne von 43-77 Jahren.

Das LPS entstammt dem Bakterium *Salmonella abortus equi* und wurde von der Fa. Cytogen (Bodenheim, Deutschland) bezogen. Der immunhistologische Nachweis der Antigene erfolgte durch fünf polyklonale und einen monoklonalen Primär-Ak (Tab. 6.1.2). Die fünf polyklonalen AK wurden von der Fa. Santa Cruz Biotechnology Inc. (Heidelberg, Deutschland) bezogen. Es handelte sich um affinitäts-gereinigte Immunglobuline vom Typ IgG aus der Ziege bzw. dem Kaninchen. Diese waren jeweils spezifisch gegen die Antigene IL-13, IL-4R α , STAT-6, IL-10 und IL-10R gerichtet und wiesen Kreuzreaktivitäten gegen Maus, Ratte

und Mensch auf. Der monoklonale Ak gegen IL-4 stammte von der Fa. Genzyme Diagnostics (Cambridge, USA).

Drei unterschiedliche Sekundär-Ak aus Kaninchen und Ziege fanden zur Detektion der Primär-Ak Verwendung (Tab. 6.1.3). Es handelte sich jeweils um aufgereinigte $F_{(ab)2}$ Fragmente vom Typ IgG, mit entsprechender Spezifität gegen Maus, Ziege und Kaninchen (Fa. Rockland/Biotrend, Deutschland). Die Sekundär-Ak sind mit **Alkalischer Phosphatase (AP)** bzw. Peroxidase am $F_{(ab)2}$ Fragment kovalent gebunden. Als Farbsubstrat wurde Vector Red und **Tetramethylbenzidine (TMB)** der Fa. Vector Laboratories (UK) verwendet. Die Blockade endogener AP wurde mit 50 μ M Levamisol (Fa. Vector Laboratories, UK) durchgeführt. Die Blockade endogener Peroxidase mit 1,5% H_2O_2 . Poly-L-Lysin, normales Ziegen- und Kaninchenserum, bovines Serumalbumin, TritonX-100, Tween20, Paraformaldehyd, Methylgrün, Hämalaun Mayer, und Eosin G wurden von der Fa. Sigma (Deutschland) bezogen. NaCl, NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 stammten von Fa. Roth (Deutschland) bzw. Fa. Merck (Deutschland). Clarion entstammte von der Fa. NatuTec (Frankfurt a.M., Deutschland) und O.C.T. Compound Tissue Tek von Fa. Plano (Wetzlar, Deutschland).

Alle Puffer und Medien wurden mit Aqua bidest angesetzt.

2.1.2 Mikroskopie

Deckgläser und Objektträger stammten von der Fa. Menzel (Braunschweig, Deutschland). Bei den Mikroskopen und zugehörigen optischen Komponenten handelte es sich um Anfertigungen der Fa. Leitz und Fa. Leica (Wetzlar, Deutschland) (Typen Orthoplan und DMRXA). Die Dokumentationskamera (Typ Micro Lumina) wurde von der Fa. Leaf (USA) hergestellt.

2.2 Methoden

2.2.1 Versuchsplanung und Biometrik

Die physiologische zelluläre Expression der anti-inflammatorischen Zytokine sollte vorausgehend an 14 Organen des Gesamtorganismus untersucht werden. Hierfür

wurden aus je fünf Tieren der LPS-Versuche unbehandelte Organe (n=5) gewonnen (Aufstellung siehe Abschnitt Tierpräparation 2.2.2 u. Tab. 6.1.1).

Der LPS-Stimulation von isolierten Rattenlungen wurden 10x Normalkontrollen gegenüber gestellt (n=10). Diese wurden mit **Krebs-Henseleit-Puffer** (KHP) für 10 Minuten vaskulär perfundiert. Die internen Versuchskontrollen repräsentieren 2x5 Lungen

(n=2x5), welche je für 2 Stunden mit KHP jeweils ohne und mit Plasmazusatz perfundiert wurden. Die LPS-Gruppen setzen sich aus 5 Rattenlungen pro Gruppe zusammen (n=5). Die Stimulation der Lungen fand mit 50 ng/ml, 1 µg/ml und 10 µg/ml LPS statt, wobei das Gesamtvolumen des Perfusats zirka 100 ml betrug. Alle Versuche wurden mit und ohne den Zusatz von 1,5% tierischem Blutplasma (im folgenden Plasma) durchgeführt. Die Versuche wurden nach jeweils 1 und 2 Stunden isoliert-ventilierter Lungenperfusion beendet.

Insgesamt ergaben sich 14 Gruppen normaler Organe, eine Kontrolllungengruppe, 2 perfundierte interne Lungenkontrollgruppen und 10 stimulierte Lungengruppen zu je 5 bzw. einmal 10 Tieren (Gruppen Lungen siehe Tab. 6.1.4).

Der immunhistologische Nachweis erfolgte für jedes Protein an jedem Gruppenmitglied einmal. Damit ergaben sich als Gesamtumfang 840 gefärbte Präparate zuzüglich den Kontrollpräparaten. Als Kontrollen wurden Präparate zum einen ohne Primär- und Sekundär-Ak und zum zweiten ohne Primär- jedoch mit Sekundär-Ak inkubiert. Die Kontrollen wurden für jede Färbung und für jede Organgruppe mitgeführt.

2.2.2 Präparation von Tieren und humanem Probenmaterial

Versuchsaufbau zur isolierten Rattenlunge erfolgte nach Ermert et al.¹⁰⁹. Nach prätrachealer Instillation von 2% Xylocain zur Lokalanästhesie erfolgte die mediane, subkutane Inzision mit Freilegung und Intubation der Trachea. Durch Laparotomie und konsekutiver Applikation von 1.000 internationalen Einheiten Heparin in die linke Nierenvene wurde einer intravasalen Koagulation unter Präparation vorgebeugt. Anschließend wurde die mediane Thorakotomie und Einbringung eines Perfusionskatheters in die Arteria pulmonalis vorgenommen. Die Tötung erfolgte durch Eröffnung des linken Ventrikels und Entnahme des Herz-Lungen-Paketes. Die

Lungen wurden nach Ablauf isoliert-ventilierter und perfundierter Versuchsdauer für immunhistologische Untersuchungen mit O.C.T-Tissue Tek tracheal instilliert.

Während der Tierpräparation für den Lungenversuch wurden die weiteren Organe sukzessive entnommen. Der Thymus wurde direkt vor Entnahme des Herz-Lungen-Paketes asserviert. Die Herzspitze konnte durch den direkten Tötungsprozess der Tiere übernommen werden. Im Anschluss an die Lungenpräparation erfolgte die Entnahme von Leber, Milz, Glandula submandibularis, Pankreas, Magen-Darm-Trakt und einer Hautprobe. Schilddrüse und Nebenschilddrüse wurden zusammen mit der Trachea entnommen (Tab. 6.1.1). Die Organe wurden unmittelbar in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und bis zur histologischen Aufarbeitung bei -80°C luftdicht gelagert.

Die Aufarbeitung der humanen Lungen erfolgte unmittelbar nach dem operativen Eingriff. Die Lungenresektate wurden nativ zugeschnitten und in 0,1M Phosphatpuffer (phosphate buffered saline, PBS) (pH7,4) für 15 Minuten gespült. Anschließend wurden die Proben auf flüssigem Stickstoff in O.C.T Tissue-Tek eingefroren und bei -80°C gelagert.

Sämtliche Präparate wurden in einem Kryostaten der Firma Leica (CM3050) bei -20°C auf $10\mu\text{m}$ geschnitten und auf Poly-L-Lysin beschichtete Glasobjektträger aufgezogen. Nach einer anschließenden Trocknungszeit von zwei Stunden in einer staubfreien Kammer bei Raumtemperatur wurden die Schnitte bis zur immunhistologischen Bearbeitung bei -80°C in Kryoboxen archiviert.

Alle Tiertötungen und Organversuche wurden streng nach den Richtlinien des nationalen amerikanischen Instituts für Gesundheit (US National Institutes of Health, "Guide for the care and use of laboratory animals", NIH publication No 86-23, Revised 1985, US Government Printing Office, Washington D.C., 20402-9325) durchgeführt.

2.2.3 Hämalan-Eosin Färbung

Die Hämalan-Eosin-Färbung der Präparate wurde standardisiert nach Romeis durchgeführt und diente der Bestätigung entzündungs- und tumorfreier, regelrechter Organstrukturen¹¹⁰.

2.2.4 Immunhistologie

Durch eine repräsentative Auswahl verschiedener Präparate wurde zunächst ein Färbeprotokoll für jede Antikörper-Antigen-Reaktion erarbeitet. Beachtung fanden hier die Parameter Primär- und Sekundär-Antikörperkonzentration, Verstärkungszeit der enzymatischen Farbreaktion und die Notwendigkeit der Permeabilisierung der Zellmembranen. Um die Haltbarkeit der Präparate während der immunhistologischen Färbung zu gewährleisten wurde zunächst eine Fixierung in 3% Paraformaldehyd bei pH7,6 für 5 Minuten durchgeführt. Anschließend wurde das Fixans durch eine 3x5 minütige Spülung in 0,01M PBS bei pH7,6 ausgewaschen. Die Permeabilisierung fand mit 1% TritonX-100 in 0,01M PBS bei pH7,6 für 15 Minuten statt. Zur Blockade falsch positiver Antikörperbindungen wurde eine 30 minütige Inkubation mit Blockademedium [0,01% Tween20; 0,05% bovines Serumalbumin; 5% Wirtsserum des Sekundärantikörpers; gelöst in 0,01M PBS; pH7,6] bei Raumtemperatur an die Permeabilisierung angeschlossen. Ohne Zusatz von Serum wurde dieses Medium gleichzeitig zur Verdünnung der Primärantikörper verwendet. Nach Reinigung der Schnitte in Spülpuffer (0,01M PBS pH7,6) schloss sich eine Inkubation der Präparate mit der Primärantikörperverdünnung in Feuchtkammern bei 4°C über Nacht an. In gleicher Weise wurde mit der Inkubation des Sekundärantikörpers verfahren. Nach Auswaschung der Sekundärantikörperlösung für 3x5 Minuten in Spülpuffer wurden die Schnitte bei 20°C mit dem Substrat Kit für AP, Vector Red inkubiert. Eine Blockade der endogenen AP wurde durch Zusatz zum Farbsubstrat von 50µM Levamisol durchgeführt. Die abschließende Reinigung der Präparate in 3x5 Minuten Spülpuffer ging der Kerngegenfärbung mit Methylgrün nach standardisierter Methode voraus. Zur permanenten Deckelung der Objektträger kam Clarion zur Anwendung, worauf sich eine eintägige Trocknung der Objektträger bei 60°C im Inkubationsofen anschloss.

Für die Organe Duodenum und Ileum musste aufgrund hohen Anteils endogener AP auf das Peroxidasefarbsubstrat TMB ausgewichen werden. Das Protokoll wurde entsprechend modifiziert. Zur Blockade endogener Peroxidase wurde 1,5% H₂O₂ für 30 Minuten verwendet. Das Substrat TMB ergibt ein blaues Signal. Die Gegenfärbung erfolgte hier mit Kernechtrot nach standardisiertem Verfahren.

2.2.5 Mikroskopische Evaluierung und Bilddokumentation

An die immunhistologische Färbung der Präparate schloss sich die lichtmikroskopische semi-quantitative Auswertung und Bilddokumentation an. Zunächst wurde eine Übersicht über das zelluläre Verteilungsmuster der Zytokine (Lokalisationskartographie) an den genannten 14 entnommenen Organen der Ratte unter konstitutiven Bedingungen erhoben. Anhand eines sechs Punkteschema von 0-5 (0=keine Färbung, 5=stärkste Färbung) wurden die Farbintensitätsdifferenzen semi-quantitativ eingeordnet und zellulären Kompartimenten zugeordnet. Somit konnten qualitative und quantitative Aspekte gleichermaßen beurteilt werden. Anhand der gewonnenen Erkenntnisse folgte die Beurteilung der normalen und LPS exponierten Lungen in gleicher Weise. Die humanen Lungengewebeproben wurden ebenso ausgewertet und mit den physiologischen Daten der normalen Rattenlungen verglichen.

Die Beschreibung der normalen Organe im Kapitel 3 (Ergebnisse) erfolgt nach einer Gliederung in funktionelle Organsysteme (f.Os.):

1. Kardio-pulmonales System: Trachea, Lunge von Ratte und Mensch sowie Herz.
2. Verdauungssystem: Gastrointestinaltrakt, Speicheldrüsen, Leber und exokrines Pankreas.
3. Endokrines System: Schilddrüse, Nebenschilddrüse und Inselzellapparat der Pankreas.
4. Immunsystem: Thymus und Milz.
5. Haut.

Als Voraussetzung gilt, dass ein semi-quantitativer Vergleich von Farbintensitäten in unterschiedlichen Organsystemen nur bei Anwendung exakt gleicher Protokolle durchzuführen war (für alle Immunfärbungen gegeben) und dementsprechend nur für jeweils ein und den selben Mediator gelten kann. Der Farbintensitätsvergleich eines Mediators zwischen verschiedenen Strukturen eines Organs (z.B. Bronchialepithel, Endothel von Lungengefäßen usw.) wird für die funktionellen Organsysteme nicht direkt beschrieben. Die zelluläre Lokalisation und zugehörige Mittelwerte können den Tab. 6.1.5 – 6.1.9 entnommen werden.

Die untersuchten Proteine werden anhand der verschiedenen zellulären Strukturen in den Lungen zusammengefasst. IL-4, IL-13, IL-4R α und STAT-6 sowie IL-10 und

IL-10R werden dabei zusammen erläutert. Änderungen der Färbeintensität werden als Zu- oder Abnahme der Antigenexpression der nachgewiesenen Proteine interpretiert.

Die Ergebnisse der LPS-stimulierten Lungen werden auf die zugehörigen Kontrollen bezogen. Als Kontrollorgane wurden Lungen verwendet, die den Tieren direkt entnommen und für 10 Minuten mit KHP gespült wurden sowie Lungen, die eine Perfusion mit KHP für die Dauer von 2h, jeweils mit (PI⁺) und ohne (PI⁻) Plasmaszusatz durchlaufen haben. Die direkt entnommenen Kontrollorgane wurden mit den PI/PI⁺ Kontrollorganen verglichen. Daraus ergibt sich, dass die LPS-stimulierten Gruppen PI⁺ und PI⁻ unabhängige Kontrollen besitzen, die nachfolgend als Bezugsgruppen dienen. Sämtliche Strukturen wurden digitalisiert und in Bilddatenbanken archiviert. Dabei entfielen auf jede Zytokindokumentation zirka 700 Bilder mit repräsentativen Ausschnitten und Beispielen für Lokalisation und Regulation unter LPS.

Die im Kapitel 3 (Ergebnisse) verwendeten Begriffe zur Beschreibung quantitativer und qualitativer Unterschiede zwischen den Mediatoren lauten in Anlehnung an das sechs Punkteschema: (0-1) negativ, (1-2) schwach, (2-4) mittelstark und (4-5) stark und beziehen sich auf die Färbeintensität.

2.2.6 Statistische Analyse semiquantitativ bestimmter Farbintensitäten

Die rechnergestützte statistische Analyse der ausgewerteten Strukturen wurde mit Hilfe der Software SAS, Version 2.1 und SPSS, Version 10.0, durchgeführt. Zur Anwendung kam die „Spearman Korrelation“ und der „Exakte Test nach Fischer“. Diese nicht-parametrischen Tests erlauben die Beurteilung auf signifikante Veränderungen nicht-normalverteilter Datensätze in Form von Rangzuordnungen wie sie im Rahmen dieser Arbeit erhoben wurden. Als signifikant wurde angenommen $p < 0.05$, als hoch-signifikant, $p < 0.01$ und als höchst-signifikant $p < 0.001$. Die Analyse bezieht sich auf den Gruppenvergleich zwischen den Lungenkontrollorganen und den LPS stimulierten Rattenlungen. Die graphische Darstellung wurde mit der Software GraphPadPrism 3.0 realisiert.

Es wurden folgende Gruppenvergleiche für jedes untersuchte Protein vorgenommen:

Kontrollgruppenvergleiche:

1. 10 Minuten gespülte Lungen gegen 2h KHP perfundierte Lungen ohne Plasma.
2. 10 Minuten gespülte Lungen gegen 2h KHP perfundierte Lungen mit Plasma.
3. 2h KHP perfundierte Lungen ohne Plasma gegen 2h KHP perfundierte Lungen mit Plasma - (je ein Gruppenvergleich).

Kontrollgruppen gegen Versuchsgruppen:

1. 2h perfundierte Lungen ohne Plasma gegen jeweils 1h und 2h perfundierte Lungen mit 50 ng/ml, 1 µg/ml und 10 µg/ml LPS Perfusatlösung ohne Plasma.
2. 2h perfundierte Lungen mit Plasma gegen jeweils 1h und 2h perfundierte Lungen mit 50 ng/ml, 1 µg/ml und 10 µg/ml LPS Perfusatlösung mit Plasma - (je fünf Gruppenvergleiche).

3 ERGEBNISSE

3.1 Konstitutive, zelluläre Lokalisation anti-inflammatorischer Zytokine in Geweben funktioneller Organsysteme

3.1.1 Kardio-pulmonales System

IL-13, IL-4, IL-4R α , STAT-6 als auch IL-10 und IL-10R zeigten eine konstitutive Expression in normalem humanem und Rattenlungengewebe sowohl in den großen, proximalen Bronchien wie auch in den distalen Abschnitten der Lunge (Abb.7.2.1-7.2.6). Besonders stark erwies sich die Expression in Zellen der submukosalen Drüsenepithelien im Bereich der Trachea der Ratte und humanen Lungengeweben. Dabei waren IL-4, IL-4R α und STAT-6 am stärksten, IL-13, IL-10 und IL-10R etwas schwächer gefärbt (Abb. 7.2.2 und 7.3.6). Eine leicht abnehmende Tendenz von proximal nach distal war für alle Mediatoren nachweisbar. Die **Bronchialmuskulatur** (Bm) zeigte im Rattengewebe ebenfalls positive Färbungen für alle Mediatoren, am stärksten bei IL-4, am schwächsten bei IL-13 (Abb. 7.2.1). Die anderen Proteine lagen auf ungefähr gleichem Niveau dazwischen. Die humanen Proben lagen zu peripher, um einen Rückschluss auf die Bm zu erlangen.

Das Gefäßsystem zeigte eine homogene mittelstarke Expression für jeden untersuchten Marker im Bereich der glatten Muskulatur **teilmuskularisierter Gefäße** (tmG) der Rattenlungen (IL-10 etwas schwächer). Die Muskulatur der V. pulmonalis war positiv für IL-4R α , STAT-6, IL-10 und IL10R, nicht jedoch für IL-13 und IL-4 (Abb. 7.2.7, 7.2.8 u. 7.2.9). Diese Ergebnisse konnten für humanes Gewebe nicht verifiziert werden, da diese Strukturen nicht vorlagen. Weiterhin waren alle Marker in den Endothelien der tmG positiv. Besonders Bronchialarterien und Aa.pulmonales wiesen für IL-13 und IL-10R eine starke Expression auf (Abb. 7.3.8, 7.4.3 u. 7.4.5). Diese waren ferner in den Endothelien der submukösen Gefäße der Trachea stark positiv. In schwacher Form waren auch Endothelzellen in der Peripherie gelegener Gefäße humaner Lungen positiv für alle Mediatoren, außer STAT-6 und IL-13. IL-10R und IL-10 war ferner in den Endothelzellen der Vv. pulmonales der Ratte stark positiv (Abb. 7.2.8 u. 7.2.9).

IL-13 und IL-4 zeigten ein schwächeres Signal in AM, die anderen Mediatoren eine gleichmäßig starke Expression in beiden Spezies (Abb. 7.2.10, 7.2.11, 7.2.12, 7.3.7 u. 7.4.1). Bestimmte vereinzelt stark positive Zellen in den Septen der humanen und

Ratten-Lungen fanden sich für IL-4 und STAT-6 sowie IL-10 und IL-10R (Abb. 7.2.13, 7.2.14 u. 7.3.5). Hier war nicht eindeutig zu klären, ob es sich dabei um Zellen des Septums (wahrscheinlich bei STAT-6, IL-10 und IL-10R) oder um Zellen des „intra kapillären Leukozytenpools“ (wahrscheinlich für IL-4) handelte.

Eine diffuse lymphozytäre Expression von STAT-6 und IL-10 war im Bereich des **Bronchus Associated Lymphoid Tissue (BALT)** der Rattenlungen sichtbar (Abb. 7.2.15). Zellen im perivaskulären Bindegewebe fanden sich, bis auf IL-13, für jeden Mediator in mittelstarker Weise positiv. Zum einen handelte es sich dabei um Lymphozyten (IL-4, IL-4R α , STAT-6 und IL-10), zum anderen um Fibrozyten (IL-10R). Der IL-10R war in nahezu allen Bereichen der Lungenfibrozyten positiv (Abb. 7.4.11). Eine starke Expression zeigten vor allem auch Chondrozyten des hyalinen Trachealknorpels für IL-10R, aber auch die anderen Mediatoren waren schwach nachweisbar in diesen Zellen (Abb. 7.2.16).

Eine schwache Färbung wiesen die Septen der Lungen bei allen Mediatoren auf (Ratte und Mensch), außer bei IL-4. Eine Zuordnung, ob es sich um kapilläres Endothel oder eine diffuse Färbung alveolarepithelialer Zellen handelte, war methodisch bedingt nicht zu treffen.

Im Herz waren mittelstarke Färbungen der Kardiomyozyten für IL-4, IL-4R α , IL10 und IL-10R zu sehen, jedoch nicht für IL-13 und STAT-6. Starke IL-13, mittelstarke IL-10 und Rezeptor sowie schwach positive IL-4 Färbungen waren im Endothel kardialer Koronararterien zu detektieren.

3.1.2 Verdauungssystem

In den Speicheldrüsen wurden drei verschiedene Strukturen unterschieden. Seröse und muköse Drüsenepithelien sowie Epithelien der Ausführungsgänge. Homogen positiv mit mittelstarker Färbeintensität für alle Marker waren die Epithelzellen der Ausführungsgänge (Abb. 7.1.5). Ebenso homogen, jedoch etwas schwächer gefärbt waren die mukösen Epithelien; ein sehr schwaches Signal war für alle Marker bei den serösen Anteilen gegeben. Im Stratum basale, des bei der Ratte verhornenden Ösophagusepithels, zeigte sich eine starke Färbung für IL-4R α und IL-10R, schwache Färbungen für IL-4 und STAT-6, keine für IL-13 und IL-10 (Abb. 7.1.6).

Ein differenziertes Bild bot das Schleimhautepithel des Magens. Die Oberflächenzellen des Magens waren positiv für alle Marker mit mittlerer Intensität,

etwas schwächer bei IL-4 und IL-10. Eine positive Belegzellfärbung fand sich ebenfalls für alle Mediatoren, außer für IL-10. Haupt- und Nebenzellen waren vereinzelt positiv (Abb. 7.1.7). Die Tunica muscularis des Magens war leicht positiv gefärbt für IL-4 und Rezeptor. Stark positive einzelne Zellen in der Lamina propria fanden sich für IL-4 und IL-10R, die für IL-4 in erster Linie Leukozyten sowie für IL-10R Fibrozyten entsprechen. Die Immunfärbungen für Duodenum und Ileum wurden aufgrund hoher endogener alkalischer Phosphatase Aktivität mit einem Peroxidasesubstrat durchgeführt. Die Ergebnisse erbrachten eine leicht positive Färbung für alle Mediatoren im Bereich der oberflächlichen Epithelzellen und der Brunnerdrüsen des Duodenums (Abb. 7.1.8). Eine weitergehende Differenzierung war hier methodisch bedingt nicht möglich.

Mittelstarke bis sehr starke Färbeintensitäten waren für alle Ak im Bereich des Schleimhautepithels des Kolons sowohl an der luminalen Seite, als auch in den tiefer gelegenen Krypten zu finden (Abb. 7.1.11). Becherzellen waren durchgehend negativ. Die Tunica muscularis mucosae war auch hier schwach positiv für IL-4 und Rezeptor, ansonsten negativ. In einzelnen Zellen der Lamina propria fanden sich STAT-6 und IL-10R. Eine Besonderheit waren die mittelstark gefärbten Ganglienzellen des Plexus myentericus Auerbach für alle Marker, außer bei IL-13. Im Bereich der Endothelien des mesenterialen Gefäßstammes waren die Mediatoren IL-4, IL-10 und IL-10R mittelstark positiv, ansonsten negativ.

Die Leber erwies sich im Bereich der Hepatozyten leicht gefärbt für alle Mediatoren (Abb. 7.1.9). Die zentralen Venen waren positiv für IL-4 und IL-10R im Bereich von Endothel und Muskulatur, ebenso schwach für IL-10. Mit deutlich geringerer Ausprägung fand sich dieses Ergebnis ebenso in den Arterien der Portalfelder. Das Gallengangsepithel war inhomogen positiv für IL-4 und IL-10R, ansonsten negativ. Vereinzelt stark positive Zellen im Leberparenchym konnten für die Marker IL-4, IL-13 und IL-10R detektiert werden.

Das exokrine Pankreas bot eine leicht positive Färbung des azinösen Anteils für STAT-6, IL-10 und IL-10R. IL-4 und Rezeptor konnten hier, ebenso wie IL-13, nicht nachgewiesen werden. Schwach zeigten sich die Ausführungsgänge mit positiven Signalen für IL-10 und Rezeptor, der Ductus pancreaticus war stark IL-10R positiv.

3.1.3 Endokrines System

Die Follikel­epithelien der Schilddrüse zeigten positive Signale für alle immungefärbten Proteine, besonders stark für STAT-6, besonders schwach für IL-10. C-Zellen waren lediglich für IL-13 positiv. Eine positive Färbung der Glandula parathyroidea lag in einem diffusen Erscheinungsbild für alle Mediatoren vor. IL-10 konnte hier nicht gefärbt werden. Der Inselzellapparat zeigte ein schwaches Signal für STAT-6 und IL-10, ein starkes für IL-10R (Abb. 7.1.10). Nicht gefärbt wurden IL-4 und Rezeptor, negativ war IL-13.

3.1.4 Immunsystem

In der Milz fanden sich mit allen Primärantikörpern gegen die verschiedenen Proteine stark positiv gefärbte Zellen im Bereich der **periarteriellen lymphatischen Scheide** (PALS), mit Ausnahme eines negativen Befundes für IL-10. In der Zentralregion der weißen Pulpa waren einige Zellen schwach positiv für IL-4R α und IL10R. STAT-6 und IL-10R positive Zellen waren als Retikulumzellen identifizierbar, aber auch als in der roten Pulpa gelegene parafollikuläre Zellen des Marginalsinus (Abb. 7.1.4).

Im Thymus fand sich die deutlichste Färbung für IL-4 und dessen Rezeptor. Sehr stark positiv gefärbt waren für IL-4 einzelne Zellnester von 5-15 Zellen, gerade in der Übergangszone von Mark und Rinde zu beobachten (Abb. 7.1.1 u. 7.1.2). Retikulumzellen waren für IL-10R, STAT-6, IL-4 und IL-13 mit absteigender Tendenz in gegebener Reihenfolge positiv gefärbt. Stark positiv fanden sich Zellen in der Thymusrinde für STAT-6 und IL-10R.

3.1.5 Haut

In ähnlicher Weise, wie für das verhornende Epithel des Ösophagus beschrieben, fanden sich im Stratum basale der Haut ebenfalls positive Färbungen für IL-4 und IL-4R α , STAT-6 und IL-10R, nicht jedoch für IL-13 und IL-10. Die Talgdrüsen zeigten ein mittelstark positives Signal für jedes Protein. Die Haarfollikel exhibierten ein gleichartiges Ergebnis mit schwacher Färbung für IL-4 und fehlendem Nachweis von IL-10 und IL-13 (Abb. 7.1.12). Einzelne Zellen der Dermis können wiederum positiv gefärbt für IL-10R beschrieben werden.

3.2 Regulation anti-inflammatorischer Zytokine in isolierten, LPS stimulierten Rattenlungen

3.2.1 IL-4 Kontrolllungen

In den Kontrollgruppen waren keine signifikanten Änderungen der Antigenexpression zwischen normalen Rattenlungen (NRL) und 2h PI⁺ oder PI⁻ perfundierten Lungen zu finden. Jedoch zeigte sich in der Gruppe 2h PI⁻ eine tendenziell geringere Expression der verschiedenen Proteine in allen Zellen. Im Gegensatz dazu fand man die plasmagespülten Kontrolllungen stets mit einer tendenziell erhöhten Antigenexpression in allen Zelltypen. Noch deutlicher traten diese Unterschiede in der Basalexpression im direkten Vergleich zwischen PI⁻ und PI⁺ perfundierten Kontrolllungen auf, wobei diese bei AM, glatter Muskulatur und Endothel der V. pulmonalis sowie dem kapillären Endothel und dem Endothel der tmG signifikant waren.

3.2.2 Expression von IL-4 nach LPS

Nach Exposition mit LPS ohne Zusatz von Plasma zeigte sich besonders in glatten Muskelzellen tmG ein Abfall der Antigenexpression gegenüber 2h perfundierten Kontrolllungen. Ein signifikanter Anstieg war in glatten Muskelzellen der V. pulmonalis und im Endothel tmG nach 2h Stimulation mit 1 µg/ml LPS zu sehen (Graph 6.2.1). AM zeigten nach 1h Stimulation mit 10 µg/ml LPS eine signifikante IL-4 Erhöhung (Graph 6.2.5). In den übrigen Zellen fanden weder tendenzielle noch signifikante Änderungen nach LPS Exposition statt.

In den Versuchsgruppen mit Plasmaperfusion zeigte sich aufgrund der erhöhten Basalexpression in den korrespondierenden Kontrolllungen ein umgekehrtes Bild. Ein deutlicher Abfall gegenüber den Kontrollen war in allen Zelltypen zu detektieren. Lediglich in glatten Muskelzellen der Bronchien und der A. pulmonalis fand sich keine Änderung; in glatten Muskelzellen der tmG und V. pulmonalis war der Abfall gering. Signifikant war diese Herunterregulation besonders deutlich im kapillären Endothel und Endothel tmG nach 2h zu sehen. Diese Änderung fand schon nach 1 µg/ml LPS statt und verstärkte sich im kapillären Kompartiment nach 10 µg/ml LPS Stimulation

(Graph 6.2.2 u. 6.2.4). Ferner war IL-4 signifikant in AM dosisunabhängig nach 2 h herunterreguliert (Graph 6.2.6; Abb.7.4.1 u. 7.4.2).

Mittelwerte aller Gruppen für IL-4 siehe Tab. 6.1.10 u. 6.1.11.

3.2.3 IL-13 Kontrolllungen

Im Vergleich der PI⁺ und PI⁻ Kontrollorgane fanden sich in keinem Zelltyp signifikante Unterschiede. Ebenfalls fand sich nicht, wie für IL-4 beschrieben, eine höhere IL-13 Expression in den PI⁺ oder niedrigere Expression in den PI⁻ Kontrolllungen, verglichen mit der Gruppe NRL.

3.2.4 Expression von IL-13 nach LPS

Die Exposition der Lungen mit LPS ohne Plasmazusatz ergab einen leichten Abfall der Expression in allen detektierten Zellkompartimenten. Signifikant war diese Abnahme in glatten Muskelzellen des Bronchialbaumes (Graph 6.2.7) sowie der A. pulmonalis schon nach 1 h ab einer Dosis von 1 µg/ml LPS. Ebenfalls signifikant war die Herunterregulation der IL-13 Expression in Endothelzellen der A. pulmonalis (Graph 6.2.10) und denen der tmG (Graph 6.2.8 u. 6.2.9) dosisunabhängig nach 1 h und 2 h (Abb. 7.4.3, 7.4.4, 7.4.5 u. 7.4.6).

Die fallende Tendenz der IL-13 Expression konnte nur mäßig an Lungen mit Zusatz von Plasma verifiziert werden. Signifikante Unterschiede fanden sich nicht.

Mittelwerte aller Gruppen für IL-13 siehe Tab. 6.1.12 u. 6.1.13.

3.2.5 IL-4R α Kontrolllungen

Wie bereits für die Detektion von IL-4 geschildert, fanden sich in der Expression der funktionellen Rezeptordomäne ebenfalls Unterschiede innerhalb der Kontrollorgane. Besonders im proximalen und distalen Bronchialepithel konnte eine geringere Menge IL-4R α detektiert werden, die für beide Gruppen (PI⁺/PI⁻) gegenüber der Gruppe NRL signifikant waren. In allen anderen Zelltypen war das Expressionsniveau nahezu konstant.

3.2.6 Expression von IL-4R α nach LPS

Die Perfusion der Lungen ohne Plasma verursachte nach LPS-Gabe lediglich im Endothel der V.pulmonalis und des kapillären Stromgebietes signifikante Änderungen. Nach Stimulation mit sowohl 1 $\mu\text{g/ml}$ wie auch 10 $\mu\text{g/ml}$ LPS kam es zum nahezu vollständigen Verlust des Antigennachweises für IL-4R α (Graph 6.2.11 u. 6.2.12). Tendenziell war dies nach Perfusion mit Plasma ebenfalls der Fall. In allen anderen Zellkompartimenten konnten keine biologisch richtungsweisenden Veränderungen detektiert werden.

Mittelwerte aller Gruppen für IL-13 siehe Tab. 6.1.14 u. 6.1.15.

3.2.7 STAT-6 Kontrolllungen

In den Kontrollgruppen waren weder signifikante noch tendenzielle Änderungen der Antigen-detektion zwischen normalen Rattenlungen und 2h PI⁻ perfundierter Lungen zu sehen. Jedoch zeigte sich im Vergleich der Gruppen 2h PI⁺ mit normalen Rattenlungen ein signifikanter Abfall in allen positiv detektierten Zelltypen. Signifikant war der Unterschied in der Bronchialmuskulatur. Hoch signifikante Unterschiede fanden sich in den Bronchusepithelien aller Generationen, der Muskulatur und im Endothel tmG, Lymphozyten und AM. Die Färbung der Septen war höchst signifikant gegenüber den normalen Rattenlungen erniedrigt. Diese Signifikanzen ergaben sich in gleicher Weise im statistischen Vergleich von 2h perfundierten Kontrolllungen mit und ohne Plasma.

3.2.8 Expression von STAT-6 nach LPS

In LPS exponierten Lungen ohne den Zusatz von Plasma kam es zu einer Abnahme der Antigenexpression nach 2h Stimulation mit 1 $\mu\text{g/ml}$ LPS im Bronchialepithel aller Generationen. In distalen Bereichen war diese Herunterregulation schon nach 50 ng/ml LPS signifikant und konnte durch Erhöhung der LPS Dosis auf 1 $\mu\text{g/ml}$ noch verstärkt werden (Graph 6.2.13, 6.2.14, 6.2.17 u. 6.2.18; Abb. 7.4.7 u. 7.4.8). Ein weiterer signifikanter Unterschied nach 1 $\mu\text{g/ml}$ LPS konnte bei AM detektiert werden. Auch hier kam es zu einer Antigenabnahme nach LPS Exposition nach 2h. In allen anderen Zelltypen wurde keine Änderung im Vergleich zur Basalexpression gesehen.

Plasma perfundierte Lungen zeigten im proximalen und distalen Bronchusepithel (Graph 6.2.15, 6.2.16, 6.2.19 u. 6.2.20) sowie im Endothel tmG (Graph 6.2.21 u. 6.2.22) eine Zunahme der Färbeintensität nach LPS Perfusion. Alle anderen Zelltypen wiesen dies tendenziell in diesen Gruppen ebenfalls auf. Im direkten Vergleich zwischen normalen Rattenlungen und LPS exponierten Lungen kam es jedoch zu keiner Änderung der Färbung.

Mittelwerte aller Gruppen für STAT-6 siehe Tab. 6.1.16 u. 6.1.17.

3.2.9 IL-10 Kontrolllungen

Die statistische Bewertung der Kontrolllungen ergab für alle Zelltypen in allen Gruppen eine nahezu identische konstitutive Expression für IL-10. Die Expression des distalen Bronchialepithels änderte sich signifikant in der Plasma perfundierten Gruppe zur NRL-Gruppe. Die biologische Bedeutung dieses singulären Wertes erscheint unklar und wird nicht diskutiert werden.

3.2.10 Expression von IL-10 nach LPS

Eine leichte, aber signifikante Abnahme der Antigenexpression war bereits in Epithelzellen proximaler, eine stärkere signifikante Reduktion in denen distaler Bronchien nach 2h LPS Exposition zu sehen. Dieser Abfall war dosisunabhängig und fand sich bereits nach 50 ng/ml LPS ohne den Zusatz von Plasma (Graph 6.2.23 u. 6.2.24; Abb. 7.4.9 u. 7.4.10).

Unter Zusatz von Plasma kam es tendenziell ebenfalls zu einem Sinken der IL-10 Detektion bronchialer Epithelzellen, jedoch ohne statistische Signifikanzen.

Mittelwerte aller Gruppen für IL-10 siehe Tab. 6.1.18 u. 6.1.19.

3.2.11 IL-10R Kontrolllungen

Die konstitutive Expression von IL-10R änderte sich für keinen Zelltyp nach 2h Perfusion mit oder ohne Plasma gegenüber normalen Rattenlungen.

3.2.12 Expression von IL-10R nach LPS

Für IL-10R gab es einen hoch signifikanten Abfall der Antigenexpression nach zweistündiger plasmalfreier Perfusion mit 10 µg/ml LPS Stimulation in Fibrozyten der gesamten Lunge sowie einen signifikanten Abfall bei plasmaadditiver Perfusion (Graph 6.2.25 u. 6.2.26; Abb. 7.4.11 u. 7.4.12). Alle anderen Zellen zeigten eine zur basalen Expression konstante Färbung, welche sowohl dosis- als auch zeitunabhängig war.

Mittelwerte aller Gruppen für IL-10R siehe Tab. 6.1.20 u. 6.1.21.

4 DISKUSSION

4.1 Konstitutive Zytokinexpression

Die vorliegende Studie stellt die unterschiedliche konstitutive Expression verschiedener anti-inflammatorischer Mediatoren und deren signaltransduzierender Komponenten in normalem Rattenlungengewebe und 14 weiteren Organen dar. Darüber hinaus wurde die pulmonale Expression von IL-4, IL-13, IL-4R α , STAT-6 sowie IL-10 und IL-10R in der Ratte mit einer repräsentativen Auswahl humaner Lungengewebeproben verglichen. Unter spezieller Berücksichtigung des pulmonalen Expressionsmusters konnte die zelluläre Regulation von IL-4, IL-13, IL-4R α , STAT-6, IL-10 und IL-10R in LPS exponierten Rattenlungen nach ein und zwei Stunden erarbeitet werden. Die Ergänzung dieser Untersuchungen fand ferner durch den Vergleich Plasma-perfundierter versus Plasma-freier, LPS exponierter Lungen statt. Eine konstitutive Expression war keineswegs für alle Mediatoren und in allen untersuchten Organen anzunehmen. Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt wurde noch kein derart ausführliches Expressionsprofil zellulärer Lokalisation für diese Zytokine und Signalelemente erstellt.

Die bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt beschriebene konstitutive IL-4 Expression beschränkte sich auf T-Zellen, Mastzellen sowie basophile, eosinophile und neutrophile Granulozyten, sowohl von Mensch, Ratte und Maus^{32-35;111}. Eine weitere pulmonale IL-4 Expression konnte bisher nur im Rahmen interstitieller Lungenerkrankungen und Asthma in Alveolarepithelzellen Typ II und in AM nachgewiesen werden¹¹²⁻¹¹⁷. Überdies hinaus wurden, nach eingehender Recherche, keine weiteren zellulären Vorkommen von IL-4 beschrieben, so dass die hier dargelegten Ergebnisse den bisherigen Erkenntnisstand weitreichend ergänzen.

So war IL-4 sehr stark im respiratorischen Bronchialepithel mit leicht abnehmender Tendenz von tracheal-proximal nach distal basal exprimiert. Ebenfalls zeigte sich, wie bei den anderen Mediatoren eine intensive Färbung der Epithelien des Gastrointestinaltraktes. Acini und Ausführungsgänge sekretorischer Drüsen waren positiv. Gallengänge waren schwach, seröse und muköse Mundspeicheldrüsen, Talg- und Follikelepithelien der Haut sowie Drüsenzellen des Respirations- und Gastrointestinaltraktes wiederum etwas stärker gefärbt. Die Epithelien der Leber sowie endokriner Organe wie Schilddrüsenfollikelepithel und Nebenschilddrüse

waren ebenfalls positiv. Im Gegensatz zu den anderen Mediatoren wies die glatte Muskulatur der Trachea und der Tunica muscularis des Gastrointestinaltraktes ein positives IL-4 Signal auf. Glatte Bronchialmuskelzellen waren ebenfalls positiv gefärbt. Glatte Muskulatur tmG des Lungenparenchyms zeigten, wie bei den weiteren Faktoren, eine mittelstarke Expression. Die Muskulatur der submukösen Gefäße des Gastrointestinaltraktums waren gänzlich negativ, die der Koronargefäße, Zentral- und Portalvenen sowie Portalarterien ausschließlich für IL-4 schwach positiv. Endothelien tmG des Lungenparenchyms ließen ein schwach positives Signal für IL-4 erkennen, subepitheliale Gefäßendothelien der Trachea und Koronarendothelien waren eher mittelstark gefärbt. Eine spezifische Zuordnung einer Färbung von einzelnen Zellen leukozytären Ursprungs, ist allein anhand der Kernmorphologie und ohne immunhistologische Doppeltypisierung innerhalb der verschiedenen Organe nur eingeschränkt möglich. Bei IL-4 konnten zwei Charakteristika dargelegt werden. Im kapillären Stromgebiet des Lungenparenchyms zeigten sich sehr stark gefärbte einzelne Zellen, die auch im kapillären Stromgebiet der Leber und des Gastrointestinaltrakt detektiert wurden und Leukozytenpopulationen entsprechen. Aufgrund ihrer Kernlappung wird hier auf polymorphkernige neutrophile Granulozyten geschlossen, was durch eine Arbeit von Brandt et. al. unterstützt wird¹¹¹. Ferner waren bestimmte Lymphozytenpopulationen des Thymus hoch positiv. Dort formierten sich regelrechte Zellnester, was auf die Rolle von IL-4 für Differenzierung und Proliferation von Th-Zellen in diesem Organ spricht. Diese Differenzierung wird in Mäusen als STAT-6 unabhängig beschrieben, was gut mit unseren STAT-6 negativen Ergebnissen im Thymus der Ratte korreliert¹¹⁸. Die sonst eher stark positiven AM hatten nur eine schwache Färbung für IL-4, wie auch für IL-13 vorzuweisen.

IL-13 mRNA und Protein Expression konnte in verschiedenen Zelltypen belegt werden. Zahlreiche Studien an Asthma erkrankten Personen und atopischen Tiermodellen belegten, dass AM, T-Zellen, Mastzellen, Basophile, Eosinophile, dendritische Zellen und Keratinozyten als Expressionsort dieses Zytokins in Frage kommen¹¹⁹⁻¹²².

Immunhistochemisch konnte IL-13 in Kupffer Zellen der Leber und epithelialen Zellen des Tubulussystems der Nieren nachgewiesen werden¹²³. Das in dieser Arbeit dargestellte Spektrum zellulärer IL-13 Expression ergänzt diese Daten um ein Vielfaches und lässt darüber hinaus auf eine zelluläre Kompartimentierung

schließen. Das respiratorische Bronchialepithel sowie Oberflächenepithelien des Gastrointestinaltraktes waren stark, sekretorische Drüsen, Gallengänge eher schwach und seröse und muköse Mundspeicheldrüsen, Talg- und Follikelepithelien der Haut sowie Drüsenzellen des Respirations- und Gastrointestinaltraktes mittelstark angefärbt. Epithelzellen der Leber sowie endokriner Organe wie Schilddrüsenfollikelepithel und Nebenschilddrüse waren ebenfalls positiv. In der Lunge war die glatte Bm und die tmG nur schwach positiv für IL-13. Eine sehr starke Expression zeigte sich jedoch in Endothelzellen der V. und A. pulmonalis, tmG, subepithelialen Gefäßen der Trachea und in Koronargefäßen. Ebenfalls war ein schwaches Signal in AM zu detektieren. Endothelien der mesenterialen Arterien und Venen waren ähnlich denen der Zentral- und Portalgefäßen der Leber schwächer gefärbt.

Anders sehen die bisher gewonnenen Daten über die zelluläre Expression von IL-4R α aus. Eine aktuelle Studie belegte eine positive Färbung für IL-4R α und IL-13R α 1 in Keratinozyten, Haarfollikeln, sowie Talg- und Schweißdrüsen der Haut. Ferner fanden sich ziliotragende Zellen des Respirationstraktes des Nasenraumes, Herzmuskelzellen, Zellen der Magenschleimhaut und dessen glatter Muskulatur positiv. In Hepatozyten, Fibroblasten und einigen endothelialen Zellen konnte ebenfalls eine positive immunhistologische Färbung detektiert werden⁴⁹. Bronchialepithelzellen von gesunden und an Asthma erkrankten Personen zeigten ebenfalls eine positive Expression von IL-4R α Protein und mRNA, in vivo und in vitro¹²⁴. Diese Daten korrespondieren gut mit den hier präsentierten Ergebnissen, obwohl keine IL-4R α Expression in glatter gastrointestinaler Muskulatur detektiert werden konnte, was auf unterschiedliche immunhistochemische Verfahren oder auch Speziesunterschiede zurückzuführen sein könnte. Lediglich Muskelzellen tmG der Lunge fanden sich IL-4R α positiv. Darüber hinaus fand sich eine sehr deutliche Basalexpression von IL-4R α in allen Oberflächenepithelien des Gastrointestinaltraktes und in sekretorischen Drüsen im Bereich der Acini und Ausführungsgänge seröser und muköser Mundspeicheldrüsen. Drüsenepithelzellen des Respirations- und Gastrointestinaltraktes ergänzten dies. Leberepithelzellen sowie die Epithelien endokriner Organe wie Schilddrüsenfollikelepithel und Nebenschilddrüse waren ebenfalls positiv für IL-4R α .

Die endotheliale Expression zeigte in tmG des Lungenparenchyms eine positive Färbung. In den subepithelialen Gefäßendothelien der Trachea fanden sich schwache Färbungen für IL-4R α .

Hingegen haben sich wenige Arbeiten bisher mit der zellulären Lokalisation von STAT-6 beschäftigt, so dass diese fast gänzlich unbekannt ist. Wir nahmen an, ein Expressionsprofil zu finden, welches eng mit der IL-4R α Verteilung korreliert, da die Signaltransduktion über IL-4R α streng an STAT-6 gekoppelt ist^{60;125}. STAT-6 wurde bisher in T-Zellen, B-Zellen und Mastzellen gefunden, wobei hier die Rolle von IL-4 in Aktivierung von Th-Zellen, zur Differenzierung antikörperproduzierender B-Zellen sowie positive und negative Rückkopplungsmechanismen durch STAT-6 Isoformen für die IL-4 Produktion gut untersucht sind^{126;127}. Dennoch fanden jüngst erschienene Arbeiten eine weitergehende Expression von STAT-6 in humanen Bronchialepithelzellen sowohl in situ als auch in Primärkulturen dieser Zellen. Diese Expression wurde ebenfalls bei Proben von Asthmatikern gefunden¹²⁸. Ferner scheint STAT-6 eine bedeutende Rolle in der Signaltransduktion durch IL-4 und IL-13 in intestinalen Epithelien des Jejunums zu spielen¹²⁹. Einen indirekten Hinweis auf die STAT-6 Expression in aortalen glatten Muskelzellen gibt eine Arbeit von Wei et. al.¹³⁰. Diese erhobenen Daten stehen in guter Übereinstimmung mit dieser Arbeit und können, wie schon für IL-4, IL-13 und IL-4R α , umfangreich ergänzt werden. STAT-6 fand sich in sämtlichen Oberflächenepithelien konstitutiv exprimiert. Besonders im respiratorischen Bronchialepithel und intestinalen Epithel weisen diese für IL-4, IL-13, IL-4R α und STAT-6 gezeigten, prominenten konstitutiven Expressionen, auf eine mögliche Bedeutung während Genese und Verlauf asthmatischer oder infektiöser Erkrankungen hin. Ferner stellen diese Epithelien eine Barriere von enormer Ausdehnung dar, welche natürlicher Weise und ohne die Ausbildung von Erkrankungen ständig belastenden Mikroben und Antigenen durch Inhalation und Nahrungsaufnahme ausgesetzt sind. Die Expression von STAT-6 deutet in Epithelien subseröser Drüsen der Lunge und anderer Organe auf die Beteiligung dieser Mediatoren für die Sekretionsregulation hin, welche gerade während asthmatischer Erkrankungen dysreguliert sind. Ein Effekt der in erheblichem Maß über IL-13 getriggert wird und STAT-6-abhängig ist¹³¹. Auch die tonisierende Bronchialmuskulatur exprimiert basales STAT-6, wie für dessen „up-stream“-Mediatoren bereits gezeigt. Eine Beteiligung in der Regulation von Muskeltonus nicht nur im Rahmen inflammatorischer und asthmatischer Prozesse, sondern auch unter

physiologischen Bedingungen kann hier vermutet werden. Jedoch zeigt sich, wie bei IL-13 und IL-4R α keine positive Expression der gastrointestinalen Tunica muscularis, was auf die besondere Bedeutung der physiologischen und patho-physiologischen Bronchusregulation durch diese Mediatorenkette hinweisen kann. In ähnlicher Weise trifft dies auf die tonisierende Muskulatur tmG der Lunge zu. Auch in diesem Kompartiment fanden sich keine positiven Signale für STAT-6 im Gastrointestinaltrakt. Eine Arbeit von Khew-Goodall et al. berichtet eine STAT-6 abhängige Transkription von „P-Selectin“ via IL-4 in primär kultivierten Nabelschnurendothelien¹³². Eine Übereinstimmung dieser Expression lässt sich in dieser Arbeit in Endothel tmG des Lungenparenchyms für STAT-6 finden. AM zeigten unter physiologischen Bedingungen ebenfalls ein positives Signal.

Zytokine sind kleine und hochaktive Proteine, die vor allem parakrine, autokrine und endokrine Wirkungen besitzen. Sie besitzen die Fähigkeit in nano- und femtomolaren Konzentrationen ihre Wirkung durch hochaffine Bindung zu entfalten, wie z.B. in dem dünnen alveolären Flüssigkeitsfilm (epithelial lining fluid).

Diese bestehenden Erkenntnisse über parakrine Zelleffekte, legen die Vermutung nahe, dass die ubiquitäre Expression von IL-4R α , die schon in zahlreichen Studien beschrieben wurde, einen Hinweis auf eine weit größere konstitutive Produktion seiner Bindungspartner gibt. Auf vielen Zellen ist eine Expression dieser hochaffinen Bindungsstelle mit geringer Zelloberflächendichte gefunden worden. Diese Untersuchungen stimmen mit den immunhistologischen Ergebnissen dieser Arbeit überein und zeigen ferner, dass die zelluläre Expression der Zytokine IL-4/IL-13 mit IL-4R α sehr große Übereinstimmungen haben. Alle epithelialen Zellen, die für IL-4/IL-13 ein positives Signal zeigten, taten dies ebenso für dessen Rezeptoreinheit α . Die zelluläre STAT-6 Expression korreliert wiederum eng mit der Rezeptorverteilung, so dass davon auszugehen ist, dass die Expression von IL-4R α auf einer Zelle einen Hinweis gibt, dass IL-4/IL-13 vermittelte Signaltransduktion dort möglich ist und ferner eine physiologische Rolle zu spielen scheint. Zum einen konnte STAT-6 nur in Zellen detektiert werden, auf denen ebenfalls die Rezeptoreinheit α auf der Oberfläche exprimiert wird. Zum anderen konnte STAT-6 nicht in Zellen detektiert werden in denen die Rezeptorfärbung extrem schwach war. Diese zweite Variante beschränkt sich auf Zellen der glatten Muskulatur und auf Endothel der Tunica muscularis des Gastrointestinaltraktes. Nicht auszuschließen ist, dass sich in diesen Zellen der STAT-6 Gehalt unter der immunhistochemischen

Nachweisgrenze befindet oder die transkriptionelle Regulation von STAT-6 hier die führende Rolle spielt.

Daher scheint angenommen werden zu können, dass eine autokrine, parakrine oder endokrine, IL-4R α vermittelte Signaltransduktion in Epithelien und Endothelien des gesamten Organismus, sowie in glatten Muskelzellen der Lunge eine physiologische Bedeutung hat. Unter spezieller Berücksichtigung des pulmonalen Expressionsmusters, korreliert die auf diese drei Zelltypen der Ratte fokussierte Darstellung eng mit den für humane Lungen erhobenen Daten. Daher muss eine physiologische Bedeutung von IL-4, IL-13 und deren „down-stream“-Komponenten im Menschen angenommen werden.

Ähnlich wie für die IL-4/IL-13 Mediator-Kaskade fand sich die konstitutive Expression für IL-10 und seinen Rezeptor in vielen verschiedenen Zelltypen unter basalen Bedingungen. Die meisten Studien gehen zumeist nicht auf die konstitutive Expression von IL-10 ein und beschreiben dessen Produktion und zelluläre Lokalisation vielfach lediglich unter pathologischen Bedingungen, wie der „inflammatory bowel disease“, Autoimmunthyreoiditiden oder tumorösen Erkrankungen¹³³⁻¹³⁵. IL-10 Produktion wurde vielfach in Monozyten beschrieben, welche wohl als der klassische Ort dessen Expression und Regulation gelten⁷³. Jedoch zeigte eine Arbeit von Bonfield et al. die konstitutive IL-10 Produktion in normalen humanen Bronchialepithelzellen, eine weitere in Keratinozyten^{106;107}. Untersuchungen zu IL-10R zeigen besonders auf Rattengehirnzellen eine Oberflächenexpression^{136;137}. T-Zellen, NK-Zellen und Monozyten sind bekannt IL-10R zu exprimieren^{100;101;106;138}. Auch auf nicht-hämatopoetischen Zellen wurde der Rezeptor basal detektiert. Kolonepithelzellen und plazentale Zytotrophoblastzellen sind hier zu nennen¹³⁹⁻¹⁴¹. Ersteres konnte auch in unseren Untersuchungen verifiziert werden. Die vorliegende Arbeit ergänzt die bisher bekannte Expression und weist auf ein komplexeres Expressionsmuster, als bisher beschrieben, von IL-10 und seinem Rezeptor hin.

Außer dem respiratorischen Bronchialepithel und den Oberflächenepithelien des Gastrointestinaltraktes sind sämtliche beschriebenen sekretorischen und endokrinen Drüsen im Bereich der Acini und Ausführungsgänge sowie des epithelialen Parenchyms positiv.

Eine überraschende Detektion konnte in den Inselzellen des Pankreas gemacht werden. Dort fand sich IL-10R selektiv in einzelnen Zellen exprimiert. Nach unseren

Erkenntnissen wird diese Expression in dieser Arbeit erstmalig beschrieben und bietet neue Anhaltspunkte in der kontroversen Diskussion über die Einflussnahme von IL-10/R in der Entwicklung eines Insulin-abhängigen Diabetes mellitus^{142;143}.

Die glatten Bronchialmuskelzellen waren nur schwach IL-10 und Rezeptor positiv. Ein gleichartiger Befund bietet sich im Bereich der tonisierenden glatten Muskulatur tmG der Lunge. Die endotheliale Expression zeigte von der Intensität und dem Verteilungsausmaß ein heterogenes Bild. In den großen hilusnahen Venen und Arterien der Lunge fand sich eine starke Expression von IL-10R. Endothelien der tmG des Lungenparenchyms zeigten hingegen positive Farbsignale für IL-10 und sehr starke für IL-10R. In den subepithelialen Gefäßendothelien der Trachea fanden sich schwache Färbungen für IL-10, mittelstarke für IL-10R. Endothelien der mesenterialen Arterien und Venen waren für IL-10 und seinen Rezeptor negativ. Bestimmte Lymphozytenpopulationen waren in fast allen Organen, wie auch AM für IL-10 und IL-10R, positiv. Eine zentrale Beobachtung ist die gleichmäßige und starke Färbung der Fibrozyten durch IL-10R in allen Organen, besonders in den Lungen. Eine Beobachtung die in murinen Fibroblasten bisher nur unter LPS Stimulation gemacht wurde⁹⁵. Dadurch wird zum einen die große Bedeutung von IL-10 in der Genese fibrotischer Erkrankungen verdeutlicht, die besonders in der Spätphase des ARDS zum Tragen kommt, zum anderen legt diese basale Expression die Möglichkeit einer physiologischen Kontrolle der Produktion extrazellulärer Matrixproteine nahe. Die breite epitheliale Expression ist deutlicher Hinweis, dass gerade unter physiologischen Bedingungen die Immunmodulation von Oberflächenepithelien gewährleistet sein muss und beispielsweise nicht durch den permanenten Kontakt mit der persistenten bakteriellen Flora überschießende Immunreaktionen ausgelöst werden. Dies kann ebenso für die häufige temporäre mikrobielle Besiedlung der Bronchien der Fall sein. Wie auch für die Mediatoren von IL-4 und IL-13 beschrieben, deckt sich die zelluläre Expression der Rattenlunge mit der humanen Lunge weitestgehend und weist an dieser Stelle auf die besondere Bedeutung von experimentellen Wirbeltiermodellen zur Erforschung von zellulären Zytokinexpressionen im Vergleich zum Menschen hin.

4.2 Vergleich LPS exponierter Rattenlungen

Im Unterschied zu bereits vorliegenden Arbeiten über die Expression und Regulation von Cyclooxygenase-2 (Cox-2) oder den Stickstoffmonoxid produzierenden Isoenzymen „iNOS“, „eNOS“ und „bNOS“ am Modell der isolierten und perfundierten Rattenlunge, demonstriert diese Studie erstmals eine unterschiedliche basale Expression im Vergleich zwischen plasma-perfundierten und nicht-plasma-perfundierten Lungen für das Zytokin IL-4, seinen Rezeptor und den Transkriptionsfaktor STAT-6, jedoch nicht für IL-13, IL-10 und IL-10R^{144;145}.

Ermert et al. beschreibt ein unterschiedliches Regulationsprofil der Cox-2 zwischen PI⁺ und PI⁻ Lungen nach LPS Exposition. Dieses Phänomen war wahrscheinlich auf die im Plasma vorhandenen und für LPS Signaltransduktion notwendigen Faktoren sCD14 und LBP zurückzuführen. Im Rahmen der basalen Expression waren keine Faktoren bekannt, die eine unterschiedliche Expression von Stickstoffmonoxid-Synthetasen oder der Cox-2 verursachen. Im Gegensatz dazu spielt sIL-4R α als löslicher Mediator eine IL-4 regulierende Rolle¹⁴⁶. Dies wird vor allem durch die Tatsache unterstrichen, dass IL-13, IL-10 und IL-10R von Unterschieden in der Basalexpression bei Plasmaperfusion ausgenommen sind. sIL-4R α kann lediglich IL-4 binden, nicht jedoch IL-13¹⁴⁷. Die durch sIL-4R α ausgelöste Regulation kann sowohl inhibierend, als auch aktivierend auf IL-4 wirken. Geringe Konzentrationen von sIL-4R α aktivieren eine IL-4 vermittelte Wirkung, hohe Konzentrationen hingegen tragen zur Hemmung dieser bei. Über die direkte Regulation der zellulären konstitutiven Expression von IL-4, IL-4R α und dem Transkriptionsfaktor STAT-6, durch in Plasma enthaltenem sIL-4R α , sind bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine Daten publiziert. Messungen der IL-4 Proteinkonzentration an Perfusatproben der in dieser Arbeit untersuchten Lungen mittels „enzyme linked immunosorbent assay“ zeigten, dass basales IL-4 in geringen Mengen sezerniert wird¹⁴⁸. Unter Perfusion von plasmahaltiger Lösung lagen die basalen IL-4 Konzentrationen etwas höher, als ohne Plasmazusatz. Dadurch wird deutlich, dass IL-4 basal von bestimmten Zellen in das Perfusat freigesetzt werden muss. Dies könnte dazu führen, dass die Freisetzung von IL-4 unter Zugabe von Plasmafaktoren zunimmt, welches wiederum eine verstärkte basale zelluläre Expression unter Plasmazusatz in Form eines positiven „feedback“ Mechanismus nach sich ziehen kann. Einschränkend ist jedoch zu erwähnen, dass das Auftreten eines hohen Verdünnungseffekt bei einem

Perfusatvolumen von zirka 100 ml exakte Bestimmungen der Proteinkonzentrationen erschweren. Ferner kann ebenfalls durch den Zusatz von Plasma exogenes IL-4 in das Perfusionssystem eingebracht worden sein. Dann wären die unterschiedlichen Ergebnisse der basalen IL-4 Bestimmungen artifiziell bedingt. Betrachtet man jedoch, wie durch Jung et al. berichtet, dass durch extrazellulär neutralisiertes oder via sIL-4R α angebotenes IL-4 die intrazelluläre Regulationskontrolle für die gesamte Mediatorerkaskade positiv oder negativ beeinflusst werden kann, könnten so die dargelegten Unterschiede sowohl auf zellulärer als auch auf Perfusat Seite in der basalen Expression erklärt werden¹⁴⁹. Weitergehende Untersuchungen zur Aufklärung der Ursachen dieser Effekte scheinen jedoch notwendig zu sein.

Anti-inflammatorische Zytokine haben für die Regulation pro-inflammatorischer Mediatoren, wie TNF α oder IL-1 eine besondere Bedeutung. Die massive Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine spielt während Genese und Verlauf von Sepsis und ARDS eine dominierende Rolle. In der Frühphase inflammatorischer Prozesse kommt es zu einer starken Synthesezunahme pro-inflammatorischer Mediatoren, um dem wirtsschädigenden Agens entgegenzutreten. Ein zentraler Mechanismus der endogenen anti-inflammatorischen Gegenregulation, wirkt über eine IL-10 und IL-13 vermittelte Abschwächung der NF κ B Aktivierung, wie in Rattenlungen beschrieben¹⁵⁰. Auch STAT-6 wirkt IL-4 induziert einer TNF α getriggerten NF κ B Aktivierung entgegen¹⁵¹. Jedoch findet dieser Vorgang nicht in der Initialphase der Inflammation statt, sondern zu einem späteren Zeitpunkt, nachdem z.B. hohe TNF α Spiegel eine Expressionsverstärkung von IL-4R α auf Endothelzellen bewirken. Sekundär folgt die IL-4 und IL-13 vermittelte STAT-6 Aktivierung¹⁵². Im Falle schwerer pro-inflammatorischer Reaktionen kann diese spätere Gegenregulation nicht in jedem Fall einen Ausgleich der Entzündungsreaktion vermitteln, da ein massives Überangebot von TNF α , IL-8 oder IL-6 den Krankheitsverlauf dominieren¹⁵³. Bisherige Arbeiten legen ein auf wenige Zelltypen beschränktes Expressionsmuster für die Gegenregulation durch anti-inflammatorische Zytokine zugrunde^{32;33;35;73;106;119;120}. Die vorliegende Arbeit demonstriert jedoch, dass das Zusammenspiel deutlich komplexer zu sein scheint. Sie stellt die Möglichkeit in Aussicht, dass besonders die epithelialen, endothelialen und glatt-muskulären Zellkompartimente eine individuelle Kontrolle anti-inflammatorischer Zytokinexpression vornehmen können. Folglich scheint eine direkte Beeinflussung pro-inflammatorischer Vorgänge durch verschiedene

Zelltypen in annähernd jeder Gewebelokalisation möglich zu sein. Betrachtet man die erhobenen Beobachtungen anti-inflammatorischer Zytokinexpression nach LPS Stimulation in isolierten Rattenlungen, so wird deutlich, dass besonders Endothelzellen der Lunge eine Reaktion auf vaskulär angebotenes LPS zeigen. Die Mediatoren IL-4, IL-13, IL-4R α und STAT-6 werden in diesen exprimiert und direkt reguliert. Dies ergänzt bisher vorliegende Erkenntnisse dorthingehend, dass Endothel und Epithel nicht nur anti-inflammatorische Zielzellen, sondern auch anti-inflammatorische Regulatoren darstellen können^{43;44}. In Bronchialepithelzellen ist eine besondere Rolle des STAT-6 und des IL-10 zu beobachten. Normale Bronchialepithelzellen exprimieren diese Faktoren^{106;128}. Diese Arbeit zeigt ferner, dass darüber hinaus eine Regulation in diesem Zellkompartiment nach einer Exposition mit LPS stattfinden kann. IL-10 wird gemäß bisheriger Erkenntnisse in der frühen Entzündungsphase zellulär nicht heraufreguliert, wo jedoch bereits konstitutiv vorhandenes IL-10 verbleibt scheint unklar. Eine mögliche Hypothese ist, dass dieses sezerniert wird und zellulär zu einem späteren Zeitpunkt wieder translatiert wird. Unterstrichen wird diese Möglichkeit durch eine Arbeit von van der Poll et al., der einen frühen Anstieg (2h) von IL-10 Serumspiegeln während einer Endotoxämie in Schimpansen beschreibt⁸⁰.

Fasst man die signifikanten Unterschiede in der Regulation dieser Mediatoren zusammen, so lässt sich herausstellen, dass in der Phase bis 2h nach vaskulärer, plasmafreier LPS Exposition die Abnahme der anti-inflammatorischen Zytokinexpression im Vordergrund steht. Diese Beobachtung deckt sich mit bereits in anderen Studien untersuchten Effekten zur Regulation anti-inflammatorischer Mediatoren. Zum einen kann hierfür eine Sezernierung aus den Zellen in das Mikrokompartiment zum anderen eine intrazelluläre Degradation verantwortlich sein. Exemplarische Messungen der IL-4 und IL-10 Konzentrationen in Perfusatproben dieser Lungen zeigten jedoch weder mit noch ohne Plasmazusatz eine signifikante Zu- bzw. Abnahme nach LPS Exposition. Eine Ursache hierfür kann die erschwerte, exakte Bestimmung der sezernierten Zytokinmengen durch hohe Verdünnungskoeffizienten sein. Durch Ergänzung von assays zur Proteinaufkonzentration an den Proben sollten die Ergebnisse präzisiert werden können¹⁴⁸.

In klarem Kontrast findet man die Expression von IL-4 diesem Phänomen gegenüber stehend; diese wird signifikant hochreguliert. Ein Unterschied, der wahrscheinlich auf

den fehlenden Plasmfaktor sIL-4R α zurückzuführen ist, denn nach plasmahaltiger LPS Exposition findet ebenfalls eine Herunterregulation von IL-4 statt.

Mit Ausnahme von STAT-6 zeigen die Mediatoren IL-13, IL-4R α , IL-10 und IL-10R unter plasmahaltiger Perfusion keine signifikanten Veränderungen. Ermert et al. beschrieb eine unterschiedliche COX-2 Regulation in der akuten Entzündungsphase nach LPS Exposition durch die Plasmfaktoren sCD14 und LBP¹⁴⁴. Eine Verstärkung der LPS Antwort durch letzt genannte Plasmfaktoren kann ebenso zu einer basalen Expression anti-inflammatorischer Zytokine führen, die im Anschluß entweder intrazellulär oder parakrin eine starke pro-inflammatorische Proteinexpression balancieren könnten. Wäre diese potentielle zelluläre Umverteilung der Fall, so kann ein immunhistochemischer Nachweis der Mediatoren unter plasmahaltiger Perfusion keine Veränderung in der Färbeintensität, bezogen auf die exprimierte Zytokinmenge, erbringen.

Deutlich wird, dass besonders in der in dieser Arbeit untersuchten frühen Phase einer lokal-pulmonalen LPS Stimulation die exponierten Zellkompartimente ihre konstitutiv exprimierten, anti-inflammatorischen Zytokine herunterregulieren, bzw. nachweisbar nicht verändern und das besonders IL-4 und STAT-6 einer individuellen, durch Plasmfaktoren beeinflussten Regulation zu unterliegen scheinen.

4.3 Zusammenfassung

Fasst man die zentralen Beobachtungen der vorliegenden Arbeit zusammen, zeigt sich eine konstitutive Expression von IL-4, IL-13, IL-10 und den signal-vermittelnden Komponenten in allen untersuchten Organen der Ratte. Dabei konnte ein sehr differenziertes zelluläres Expressionsmuster gefunden werden. Alle epithelialen und die überwiegende Anzahl endothelialer Zellen zeigten eine Expression dieser Mediatoren. Myozyten glatter Muskulatur zeigten hingegen ein unterschiedliches Expressionsmuster mit einer überwiegenden Expression in der Bronchialmuskulatur und den tmG der Lunge, welches auf eine besondere Bedeutung dieser Mediatoren für Regulationsvorgänge im pulmonalen Gefäßbett schließen lässt.

Der Vergleich zwischen normalen Rattenlungen und humanen Lungengewebebelegen legt dar, dass das konstitutive zelluläre Expressionsprofil zwischen diesen beiden Spezies, soweit aufgrund der für die Untersuchungen verfügbaren humanen Lungenkompartimente vergleichbar, identisch ist. Nicht alle Strukturen im humanen Lungengewebe konnten untersucht werden, da hier verständlicherweise nur Gewebeanteile die in Operationspräparaten vorhanden waren und nicht für die Diagnostik benötigt wurden, zur Verfügung standen.

Die vaskuläre LPS Exposition isoliert-perfundierter Rattenlungen ergab eine differenzierte Regulation der Mediatoren in den einzelnen Zellkompartimenten, jedoch mit einer klaren Ausrichtung hinfolgend auf eine Abnahme der Expression anti-inflammatorischer Mediatoren, wahrscheinlich zugunsten einer auf zellulärer Ebene ausgelösten, initialen pro-inflammatorischen Reaktion.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen auf ein komplexes organ- und zellspezifisches Expressionsmuster anti-inflammatorischer Zytokine hin, welches unter inflammatorischen Bedingungen individuell reguliert werden kann. Dies stellt die Möglichkeit der gezielten therapeutischen Beeinflussung dieser anti-inflammatorischen Kompartimente in Aussicht, die gerade im Verlauf schwerer Krankheitsbilder, wie dem ARDS, eine krankheitsmodulierende Bedeutung einnehmen können.

5 AUSBLICK

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnisse fordern dazu auf, die komplexe zelluläre Expression anti-inflammatorischer Zytokine in weiterführenden Untersuchungen an Ganztierversuchen zu überprüfen. Dies ist von besonderer Bedeutung, da zum einen ein vermutetes organismus-übergreifendes Regulationsmuster in den konstitutiv untersuchten Organen herausgestellt werden kann und zum anderen größere Zeitfenster von beispielsweise bis zu 72 h untersucht werden können, um die regulativen Vorgänge einer anti-inflammatorischen Reaktion in diesen neu herausgestellten Zelltypen bestätigen zu können. Ferner ist die lokal-pulmonale Regulation im Hinblick auf Erkrankungen, wie dem ARDS, in diesem Versuchsaufbau von besonderem Interesse. Zu diesem Zweck kommen besonders intravenöse LPS Applikationen zur Auslösung einer Sepsis und konsekutivem ARDS in der Ratte in Frage.

Weitergehende Untersuchungen sollten durch intratracheale Gaben von LPS an diesen Tieren erfolgen, um Unterschiede zwischen systemisch und pulmonal verursachten Zytokinveränderungen erarbeiten zu können.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollten, sofern eine Regulation zu finden ist, methodisch durch semiquantitative, bildanalytische Verfahren untermauert werden¹⁵⁴.

In eigenen weiterführenden Pilotuntersuchungen konnte die Regulation von IL-13 in pulmonalen Zellkompartimenten an intratracheal LPS exponierten Mäusen gezeigt werden. Vorläufige Ergebnisse dieser Studien zeigten, dass besonders im Endothel und Bronchialepithel eine gegenregulatorische Reaktion zwischen 24h und 48h stattfindet, wobei diese in Teilen weit über die basale Expression hinausgeht. Durch diese Vorergebnisse wird die Bedeutung der hier erstmals dargestellten, weiteren zellulären Bildungsstellen anti-inflammatorischer Mediatoren auch nach längeren Zeiträumen nach LPS-Exposition bestätigt. Zukünftige Untersuchungen sollten somit die Regulation der anti-inflammatorischen Mediatorensysteme nach längeren zeitlichen Intervallen nach LPS-Exposition in den zahlreichen verschiedenen zellulären Bildungsstellen detailliert aufklären.

6 TABELLEN und GRAPHEN

6.1 Tabellen (Tab.)

Tab. 6.1.1 Organsysteme (Benennung der 14 Organe (**fett**) und zugehörige Strukturen)

Funktionelles Organsystem (f.Os.)	Organe
Kardio-pulmonales System	Lungen , Trachea und Herz
Verdauungssystem	Gastrointestinaltrakt (Ösophagus , Vor- Magen , Duodenum , Ileum , Kolon), Speicheldrüsen , Leber und exokrines Pankreas
Endokrine System	Schild- und Nebenschilddrüse, endokrines Pankreas
Immunsystem	Milz und Thymus
Integument	Haut

Tab. 6.1.2 Primärantikörper

Kürzel/anti-	Wirt	Spezies positiv	Firma	Ig-Typ
IL-13	goat	mouse	Santa Cruz Inc. (DE)	IgG
IL-4	mouse	human	Genzyme (UK)	IgG
IL-4R α	rabbit	human, mouse, rat	Santa Cruz Inc. (DE)	IgG
STAT-6	rabbit	human, mouse, rat	Santa Cruz Inc. (DE)	IgG
IL-10	goat	mouse	Santa Cruz Inc. (DE)	IgG
IL-10R	rabbit	mouse, rat	Santa Cruz Inc. (DE)	IgG

Tab. 6.1.3 Sekundärantikörper

Kürzel/anti-	Wirt	Label	Firma	Ig-Typ
goat	rabbit	AP	Leinco Technologies, (USA)	IgG F(ab') ₂
mouse	goat	AP	Rockland (USA)	IgG
rabbit	goat	AP	Leinco Technologies, (USA)	IgG F(ab') ₂
goat	rabbit	Peroxidase	Rockland (USA)	IgG F(ab') ₂
mouse	goat	Peroxidase	Rockland (USA)	IgG F(ab') ₂
rabbit	goat	Peroxidase	Rockland (USA)	IgG F(ab') ₂

Tab. 6.1.4 Versuchsgruppengliederung

Gruppe	LPS [ng/ml]	Versuchsdauer	n =	Plasma Ja/Nein
NRL (normale Rattenlunge)	Kein LPS	gespült (10 min)	10	Nein
A	Kein LPS	2h	5	Nein
B	Kein LPS	2h	5	Ja
C	50	2h	5	Nein
D	50	2h	5	Ja
E	1.000	1h	5	Nein
F	1.000	1h	5	Ja
G	1.000	2h	5	Nein
H	1.000	2h	5	Ja
I	10.000	1h	5	Nein
K	10.000	1h	5	Ja
L	10.000	2h	5	Nein
M	10.000	2h	5	Ja

Tab. 6.1.5 Mittelwerte, semiquantitative Evaluation Zentralorgane; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

f.Os. Kardio-pulmonales System	STAT-6	STAT-6	IL-4	IL-4	IL-4R α	IL-4R α	IL-10	IL-10	IL-10R	IL-10R	IL-13	IL-13
Ratten- und humane Lunge; Lungen-gruppe NRL	Ratte	Mensch	Ratte	Mensch	Ratte	Mensch	Ratte	Mensch	Ratte	Mensch	Ratte	Mensch
Bronchial epithelien 1. und 2. Generation	3,92	3,00	3,00	2,00	3,63	3,00	2,55	2,67	2,63	1,67	2,75	2,67
Bronchial epithelien 3. Generation und Bronchioli	3,17	2,00	2,00	2,13	3,50	1,54	2,55	2,33	1,88	1,40	2,13	2,70
Glatte Bronchial-muskelzellen	2,08	0,00	3,00	0,00	2,63	1,00	1,45	0,00	2,25	1,00	1,00	0,00
Glatte Muskulatur A. pulmonalis	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,29	n.d.	0,00	n.d.	1,33	n.d.	0,00	n.d.
Glatte Muskulatur V. pulmonalis	2,00	n.d.	0,00	n.d.	1,83	n.d.	1,55	n.d.	3,00	n.d.	0,86	n.d.
Glatte Gefäßmuskelzellen tmG	2,33	0,00	3,00	0,00	2,50	0,33	1,00	0,00	2,50	0,00	2,00	0,00
Endothelien tmG	2,25	0,92	1,50	2,50	2,63	2,11	2,64	1,43	4,00	2,23	2,00	0,00
Alveolar-makrophagen	3,25	2,62	1,50	2,40	2,38	3,00	2,82	3,15	3,13	2,77	1,00	2,09

Perivaskuläre Lymphozyten	2,50	1,77	3,50	2,67	1,75	0,00	2,18	1,64	4,00	1,92	0,00	0,00
Einzelne Zellen in den alv. Septen I	4,25	1,54	4,50	5,00	1,13	1,63	2,36	0,85	4,13	0,92	0,50	0,64
Einzelne Zellen in den alv. Septen II	2,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00
Alveoläres Septum	2,58	0,77	0,00	1,56	1,88	1,23	2,18	1,15	1,88	0,92	1,00	0,64
Endothel A. pulmonalis	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	3,17	n.d.	3,13	n.d.
Endothel V. pulmonalis	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	3,29	n.d.	0,00	n.d.
BALT	2,91	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	2,60	n.d.	3,50	n.d.	0,00	n.d.
Ratte und Mensch, Trachea	STAT-6 Ratte	STAT-6 Mensch	IL-4 Ratte	IL-4 Mensch	IL-4Rα Ratte	IL-4Rα Mensch	IL-10 Ratte	IL-10 Mensch	IL-10R Ratte	IL-10R Mensch	IL-13 Ratte	IL-13 Mensch
Mehrschichtiges, zilientrageendes Epithel	3,40	n.d.	2,60	n.d.	3,20	n.d.	3,00	n.d.	3,40	n.d.	4,40	n.d.
Chondrozyten des hyalinen Knorpels	2,60	0,33	2,00	0,00	2,00	0,00	1,80	0,50	3,60	1,00	2,20	0,25
Trachealmuskulatur	0,00	n.d.	3,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.	0,00	n.d.
Trachealdrüsen	3,40	2,67	2,80	2,00	3,40	0,00	3,75	2,00	4,00	2,00	4,80	4,00
Endothel submuköser Gefäße	2,33	0,00	2,50	0,00	1,20	0,00	2,00	0,00	3,40	0,00	4,25	0,00
Rattenherz	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13						
Herzmuskelzellen	0,00	2,60	2,00	2,00	1,80	0,20						
Einzelne Zellen	0,00	4,00	0,00	2,60	2,75	3,00						
Koronargefäße -Ratte	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13						
Glatte Muskelzellen	0,00	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00						
Endothel	0,00	1,40	0,00	2,80	2,00	4,00						

Tab. 6.1.6 Mittelwerte, semiquantitative Evaluation Verdauungssystem Ratte; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

f.Os. Verdauungs- system	STAT-6	IL-4	IL-R4α	IL-10	IL-10R	IL-13
Leber						
Hepatozyten	2,00	1,80	2,40	2,20	2,60	1,83
Kupffer Zellen	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00
Glatte Muskelzellen Zentralvene	0,00	2,20	0,00	1,00	2,40	1,00
Endothel	0,00	2,00	0,00	1,20	2,60	2,00
Intrakapilläre Leukozyten	0,00	3,75	0,00	0,00	4,00	2,67
Portalfelder	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Gallengang- epithel	0,00	1,00	0,60	0,20	1,80	0,00
Glatte Muskelzellen Portalarterien	0,00	1,40	0,00	0,00	0,40	0,67
Glatte Muskelzellen Portalvenen	0,00	1,40	0,00	0,00	0,40	0,67
Pankreas	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Seröse Zellen	2,00	n.f.	n.f.	2,00	2,40	0,50
Ausführungs- gänge	0,00	n.f.	n.f.	0,60	1,00	0,00
Speichel- drüsen	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Seröse Zellen	0,25	1,20	1,00	1,40	1,20	0,60
Muköse Zellen	2,75	1,67	1,50	2,00	1,67	1,80
Ausführungs- gänge	2,60	2,40	3,00	3,00	2,00	2,00
Gastro- intestinal- trakt	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Ösophagus/ Vormagen, mehr- schichtiges Plattenepithel	1,50	1,60	3,00	0,20	3,00	0,00
Magen	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Oberflächen- epithel	3,40	1,80	3,40	1,60	3,20	2,25
Nebenzellen	2,00	1,40	3,00	0,80	2,00	0,00
Belegzellen	3,00	2,25	3,40	0,80	2,00	2,00
Hauptzellen	3,20	1,25	0,00	0,00	0,00	2,00
Glatte Muskulatur der Tunica muscularis	0,00	1,60	1,00	0,00	0,00	0,00

Einzelne Zellen Lamina propria	4,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00
Intramurale Ganglien	2,80	0,00	2,20	1,00	3,25	0,00
Kolon	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Oberflächenepithel	2,80	3,20	4,00	3,20	4,00	3,40
Intestinale Drüsen	2,40	2,80	3,20	2,40	3,40	2,60
Glatte Muskulatur der Tunica muscularis	0,00	2,25	1,00	0,40	0,60	0,20
Intramurale Ganglien	2,20	2,00	3,00	2,00	3,40	0,60
Einzelne Zellen Lamina propria	3,00	0,00	0,00	0,00	2,40	0,00
Duodenum	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Oberflächenepithel	4,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	3,00
Becherzellen	0,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	0,00
Krypten	3,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	2,40
Intramurale Ganglien	3,20	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	2,80
Brunner Drüsen	0,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	0,00
Ileum	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Oberflächenepithel	3,60	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	3,20
Becherzellen	0,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	0,00
Krypten	2,60	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	2,20
Intramurale Ganglien	3,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	2,40
Peyer Plaques	0,00	n.f.	n.f.	n.f.	n.f.	0,00
Gefäße	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Glatte Muskulatur	0,00	1,27	0,00	0,00	0,20	0,00
Endothel	0,40	2,00	1,00	2,00	2,50	3,00

Tab. 6.1.7 Mittelwerte, semiquantitative Evaluation endokrine Organe Ratte; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

f.Os. Endokrines System	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Thyroidea						
Follikel-epithel	4,00	2,67	2,00	1,50	2,00	2,33
C-Zellen	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,50
Para-thyroidea	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Endokrine Zellen	3,00	3,00	4,00	0,00	2,00	2,00
Pankreas	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Langerhans'sche Inselzellen	2,00	2,00	2,33	1,67	3,00	0,00

Tab. 6.1.8 Mittelwerte, semiquantitative Evaluation lymphatische Organe; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

f.Os. Immun-system	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Milz						
Weiße Pulpa, Zentral-region	0,00	0,40	1,20	0,00	0,00	0,00
Weiße Pulpa, einzelne Zellen	0,00	0,00	0,00	0,00	2,20	0,00
Weiße Pulpa, Marginal-zone	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00
Rote Pulpa, Sinusoide	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rote Pulpa, para-follikulärer Marginal-sinus	2,75	0,00	0,00	0,00	2,00	0,50
Retikulum-zellen	2,25	0,00	0,40	0,00	1,40	1,00

Peri-arterioläre lymphatische Scheide, einzelne Zellen	4,50	3,60	3,40	0,00	4,60	4,75
Thymus	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Rinde, einzelne Zellen	4,00	1,80	1,80	0,00	4,00	0,00
Mark	0,00	5,00	0,00	0,40	1,00	0,50
Retikulumzellen	2,20	2,00	0,00	0,60	2,40	1,75

Tab. 6.1.9 Mittelwerte, semiquantitative Evaluation Haut; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

f.Os. Haut	STAT-6	IL-4	IL-4Rα	IL-10	IL-10R	IL-13
Stratum basale	0,40	2,00	3,40	2,20	4,00	2,00
Kornea	2,40	0,00	0,00	0,00	0,00	1,75
Talgdrüsen	3,20	2,00	3,40	2,20	4,00	2,00
Haarfollikelzellen	2,20	0,75	2,80	0,20	3,00	0,00
Einzelne Zellen der Dermis	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00
Nervenzellen	2,67	1,00	2,00	0,00	5,00	0,00

Tab. 6.1.10 Mittelwerte IL-4, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen ohne Plasma gegenüber LPS-Gruppen ohne Plasma - * $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle A; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-4 ohne Plasma	ø LPS		50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle A	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Generation	3,00	0,25	1,25	0,50	0,20	1,00	0,75
Bronchial epithel 3. Generation und Bronchioli	2,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00
Glatte Bronchial muskellzellen	3,00	2,50	3,25	2,50	2,40	3,67	3,00
Glatte Muskulatur, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00
Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	0,00	0,00	1,00	0,33	1,33*	0,50	0,67
Glatte Gefäßmuskellzellen, tmG	3,00	2,00	2,50	2,75	2,60	2,33	1,20
Endothel, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, V. pulmonalis	0,00	0,00	0,50	0,33	0,60	0,67	0,40
Endothel, tmG	1,50	0,20	1,50	1,25	1,80*	2,00	0,80
Kapilläres Endothel	1,00	0,20	2,25	1,50	1,20	1,67	0,20
Perivaskuläre Lymphozyten	3,50	0,75	2,25	2,00	1,60	1,00	1,00

Alveolar-makro-phagen	1,00	1,29	0,75	0,33	1,25	1,20	1,00
Einzelne Zellen in den alv. Septen	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Alveoläres Septum	1,00	1,00	1,00	0,33	1,50	0,60	0,40
Nerven	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BALT	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tab. 6.1.13 Mittelwerte IL-13, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen mit Plasma gegenüber LPS-Gruppen mit Plasma - * $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle B; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-13 mit Plasma	ø LPS		50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle B	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial-epithel 1. und 2. Generation	2,67	2,50	2,67	2,80	1,75	3,00	3,20
Bronchial-epithel 3. Generation und Bronchioli	2,11	1,50	1,00	0,60	0,75	1,00	1,00
Glatte Bronchial muskellzellen	0,89	0,75	1,00	0,20	0,50	0,60	0,20
Glatte Muskulatur, A. pulmonalis	0,00	2,00	1,75	1,20	1,50	1,20	2,00
Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Glatte Gefäß-muskellzellen, tmG	1,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, A. pulmonalis	1,89	1,00	3,00	2,80	1,33	2,00	2,60

Tab. 6.1.14 Mittelwerte IL-4R α , semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen ohne Plasma gegenüber LPS-Gruppen ohne Plasma - * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle A; # $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle NRL; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-4R α ohne Plasma	ø LPS		50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle A	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Gene- ration	3,63	2,20 [#]	2,00	1,50	2,00	2,80	2,00
Bronchial epithel 3. Gene- ration und Bron- chioli	3,50	3,00	2,25	2,50	3,00	3,20	2,80
Glatte Bronchial- muskel- zellen	2,63	3,00	2,50	2,25	4,25	3,40	2,40
Glatte Musku- latur, A. pulmo- nalis	0,29	0,25	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00
Glatte Musku- latur, V. pulmo- nalis	1,83	2,00	0,00	1,33	1,50	1,80	0,67
Glatte Gefäß- muskel- zellen, tmG	2,50	3,20	2,25	3,00	2,75	2,80	2,60
Endothel, A. pulmo- nalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, V. pulmo- nalis	0,86	2,40	0,00*	2,50	3,33	2,60	0,25**
Endothel, tmG	2,63	3,40	2,50	3,25	3,00	4,00	3,00
Kapil- läres Endothel	0,75	1,60	0,75	0,20*	0,20*	0,20*	0,20*

Perivas- kuläre Lympho- zyten	1,75	3,20	2,25	2,25	2,75	3,40	1,60
Alveolar- makro- phagen	2,38	2,60	2,00	2,75	2,50	3,60	2,60
Einzelne Zellen in den alv. Septen	1,13	3,20	1,75*	2,50	2,00*	3,00	2,20*
Alveo- läres Septum	1,88	2,80	2,00	2,50	2,50	2,80	2,40
Nerven	0,88	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00
BALT	2,00	2,00	2,00	1,25	2,33	2,40	1,50
Vasa Vasorum V. pulmo- nalis	4,00	4,33	3,00	3,50	5,00	4,00	4,50

Tab. 6.1.15 Mittelwerte IL-4R α , semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen mit Plasma gegenüber LPS-Gruppen mit Plasma - * $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle B; # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle NRL; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-4R α mit Plasma	ø LPS		50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle B	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Gene- ration	3,63	1,50###	2,67	2,60	3,50	3,20*	1,60
Bronchial epithel 3. Gene- ration und Bronchioli	3,50	1,75#	3,00	2,60	2,80	2,80	1,60
Glatte Bronchial muskel- zellen	2,63	3,00	2,50	3,40	3,50	3,00	2,80
Glatte Musku- latur, A. pulmo- nalis	0,29	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00

Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	1,83	1,00	0,67	0,50	1,00	1,60	1,50
Glatte Gefäßmuskulatur, tmG	2,50	2,25	3,00	3,40	3,20	2,80	1,60
Endothel, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, V. pulmonalis	0,86	1,00	1,33	2,40	1,80	1,20	2,20
Endothel, tmG	2,63	2,25	3,50	3,40	3,20	3,20	2,40
Kapilläres Endothel	0,75	0,75	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivaskuläre Lymphozyten	1,75	1,75	2,50	2,80	2,00	2,00	0,00*
Alveolar-makrophagen	2,38	2,25	3,25	2,80	2,40	2,20	2,20
Einzelne Zellen in den alv. Septen	1,13	2,00	2,75	3,00	2,20	1,80	1,60
Alveoläres Septum	1,88	2,00	2,75	3,00*	2,60	1,80	1,40
Nerven	0,88	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40
BALT	2,00	1,25	3,00	2,50	2,75	0,67	1,33
Vasa Vasorum V. pulmonalis	4,00	5,00	4,50	3,50*	3,50	4,75	5,00

Tab. 6.1.16 Mittelwerte STAT-6, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen ohne Plasma gegenüber LPS-Gruppen ohne Plasma - * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle A; n.d., Färbung nicht detektiert; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

STAT-6 ohne Plasma	ø LPS	ø LPS	50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle A	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Generation	3,92	3,71	3,00	3,25	2,60*	3,14	3,25
Bronchial epithel 3. Generation und Bronchioli	3,17	2,86	1,75*	1,75*	1,00**	1,71*	2,20
Glatte Bronchial muskellzellen	2,08	2,29	1,50	2,25	1,40	2,00	2,40
Glatte Muskulatur, A. pulmonalis	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	2,00	2,00	2,00	2,50	1,00	2,00	2,75
Glatte Gefäßmuskellzellen, tmG	2,33	1,71	1,50	1,50	1,80	1,43	2,20
Endothel, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, V. pulmonalis	0,50	0,86	0,00	0,50	0,40	0,00	0,60
Endothel, tmG	2,25	2,43	1,75	2,00	2,20	1,86	2,60
Kapilläres Endothel	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivaskuläre Lymphozyten	2,50	2,14	1,50	2,25	1,00	1,71	2,40

Alveolar-makro-phagen	3,25	3,14	2,00	3,25	2,00*	2,43	3,20
Einzelne Zellen in den alv. Septen I	4,25	4,29	3,25	3,50	3,60	4,14	4,20
Einzelne Zellen in den alv. Septen II	2,92	3,00	2,00*	2,50	2,20	2,57	3,20
Alveoläres Septum	2,58	2,43	1,75	1,50	2,00	1,57	2,60
Nerven	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BALT	2,91	2,43	2,67	4,00	1,67	2,00	2,67

Tab. 6.1.17 Mittelwerte STAT-6, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen mit Plasma gegenüber LPS-Gruppen mit Plasma - * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle B; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0,001$ gegenüber der Kontrolle NRL; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

STAT-6 mit Plasma	ø LPS		50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle B	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial-epithel 1. und 2. Generation	3,92	2,25 ^{##}	2,00	3,60*	3,50	3,25	3,25
Bronchial-epithel 3. Generation und Bronchioli	3,17	0,50 ^{##}	2,50*	2,40**	2,25	2,00	2,40*
Glatte Bronchial muskellzellen	2,08	0,75 [#]	1,25	2,20	2,25	2,00	1,80
Glatte Muskulatur, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	2,00	1,00	2,00	1,75	0,00	2,00	2,00

Glatte Gefäß-muskelzellen, tmG	2,33	1,00 ^{##}	2,25	2,00	2,25	1,25	2,20
Endothel, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, V. pulmonalis	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	0,60
Endothel, tmG	2,25	0,75 ^{##}	2,75*	2,60**	2,50*	2,25*	2,60**
Kapilläres Endothel	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivaskuläre Lymphozyten	2,50	0,75 ^{##}	2,75	2,60*	2,00	1,75	1,80
Alveolar-makrophagen	3,25	2,25 ^{##}	3,00	3,20	2,50	2,00	2,60
Einzelne Zellen in den alv. Septen I	4,25	3,25	4,00	4,20	4,25	3,50	4,40
Einzelne Zellen in den alv. Septen II	2,92	1,75 ^{##}	3,00*	3,20**	2,50	2,00	2,60
Alveoläres Septum	2,58	1,00 ^{###}	2,50*	2,80**	2,00	1,50	2,40**
Nerven	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BALT	2,91	3,00	0,00	2,00	4,00	0,75	3,25

Tab. 6.1.18 Mittelwerte IL-10, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen ohne Plasma gegenüber LPS-Gruppen ohne Plasma - * $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle A; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-10 ohne Plasma	ø LPS	ø LPS	50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle A	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Generation	2,55	3,20	2,25*	2,33	2,25*	2,67	2,60
Bronchial epithel 3. Generation und Bronchioli	2,55	2,40	1,25*	0,66*	1,25	1,50	1,20*
Glatte Bronchial muskellzellen	1,45	0,80	0,75	1,33	1,25	1,50	1,40
Glatte Muskulatur, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	1,55	1,20	0,67	2,50	2,50	1,25	2,00
Glatte Gefäßmuskellzellen, tmG	1,00	1,20	1,00	1,00	0,50	0,83	1,20
Endothel, A. pulmonalis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endothel, V. pulmonalis	1,64	3,00	1,25	1,33	2,50	2,00	2,40
Endothel, tmG	2,64	2,80	2,00	1,67	2,00	1,83	2,40
Kapilläres Endothel	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivaskuläre Lymphozyten	2,18	1,60	1,50	0,67	0,25	1,67	1,80

Endothel, V. pulmonalis	1,64	1,50	2,67	1,40	2,67	2,33	2,75
Endothel, tmG	2,64	2,00	2,00	2,40	2,50	2,67	2,00
Kapilläres Endothel	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivas- kuläre Lympho- zyten	2,18	1,33	1,33	1,60	2,00	2,33	1,50
Alveolar- makro- phagen	2,82	3,00	2,00	3,00	2,75	2,67	2,25
Einzelne Zellen in den alv. Septen	2,36	1,33	2,00	3,00*	2,00	2,33	2,00
Alveo- läres Septum	2,18	2,00	2,00	2,20	2,00	2,00	1,75
Nerven	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BALT	2,60	2,00	n.d.	3,00	2,50	n.d.	3,00

Tab. 6.1.20 Mittelwerte IL-10R, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen ohne Plasma gegenüber LPS-Gruppen ohne Plasma - * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle A; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-10R ohne Plasma	ø LPS	ø LPS	50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle A	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Gene- ration	2,63	2,80	1,33	2,00	1,80	1,80	2,20
Bronchial epithel 3. Gene- ration und Bronchioli	1,88	2,00	1,00	1,00	1,20	1,20	1,40
Glatte Bronchial muskel- zellen	2,25	2,60	2,33	1,75	2,00	2,20	2,40
Glatte Musku- latur, A. pulmo- nalis	1,33	1,75	1,00	1,00	0,67	0,40*	1,60
Glatte Musku- latur, V. pulmo- nalis	3,00	2,20	3,00	1,67	1,67	2,00	2,25
Glatte Gefäß- muskel- zellen, tmG	2,50	2,60	2,00	2,00	2,00	1,80	2,40
Endothel A. pulmo- nalis	3,17	2,00	0,00	2,00	0,00	0,80	1,80
Endothel, V. pulmo- nalis	3,29	2,20	2,00	1,33	0,33*	2,00	0,75
Endothel, tmG	4,00	3,80	3,33	3,25	3,20	3,60	3,40
Kapil- läres Endothel	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivas- kuläre Lympho- zyten	4,00	4,20	2,67	3,00	2,80*	3,80	0,00**

Alveolar-makro-phagen	3,13	3,60	3,00	3,00	2,40*	3,20	3,20
Fibro-zyten	4,13	4,00	4,00	3,75	3,40	4,20	0,20**
Einzelne Zellen in den alv. Septen	3,00	3,40	3,00	2,75	2,40	3,20	3,80
Alveo-läres Septum	1,88	2,40	1,67	2,00	1,60	1,60	2,60
Nerven	2,50	2,75	3,00	2,50	2,33	2,67	2,00
BALT	3,50	4,25	3,50	3,00	3,00	3,20	2,40*

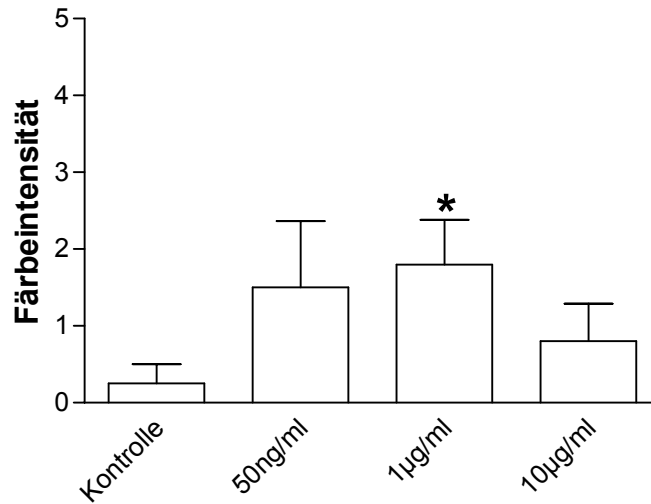
Tab. 6.1.21 Mittelwerte IL-10R, semiquantitative Evaluation, Kontrollgruppen mit Plasma gegenüber LPS-Gruppen mit Plasma - * $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle B; n.d., Struktur nicht vorhanden; n.f., Struktur methodisch nicht färbbar

IL-10R mit Plasma	ø LPS	ø LPS	50 ng/ml LPS	1 µg/ml LPS		10 µg/ml LPS	
	Kontrolle NRL	Kontrolle B	2h	1h	2h	1h	2h
Bronchial epithel 1. und 2. Generation	2,70	2,00	2,25	1,80	1,20	1,75	2,25
Bronchial epithel 3. Generation und Bronchioli	1,86	1,00	1,75	1,20	0,80	0,75	1,33
Glatte Bronchial muskellzellen	2,16	1,67	2,25	2,00	1,60	2,00	2,00
Glatte Muskulatur, A. pulmonalis	1,33	0,50	0,25	1,75	0,67	1,00	0,25
Glatte Muskulatur, V. pulmonalis	3,00	2,00	1,50	2,67	1,67	2,00	2,25
Glatte Gefäßmuskellzellen, tmG	2,56	1,67	1,75	2,20	2,00	2,00	2,33

Endothel, A. pulmo- nalis	3,17	0,00	1,00	1,75	0,67	1,25	0,50
Endothel, V. pulmo- nalis	3,29	1,50	0,25	1,33	0,00	1,25	2,00
Endothel, tmG	4,00	3,33	3,25	3,40	2,80	2,75	3,00
Kapilläres Endothel	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Perivas- kuläre Lympho- zyten	4,00	3,00	3,25	3,60	2,80	0,75	0,00
Alveolar- makro- phagen	3,14	3,00	2,75	3,40	2,60	2,25	2,75
Fibro- zyten	4,02	4,00	3,75	3,40	2,40	1,00	0,20*
Einzelne Zellen in den alv. Septen	3,00	3,00	2,50	2,40	2,00	2,75	3,50
Alveo- läres Septum	1,98	2,00	1,75	1,60	1,60	1,75	2,50
Nerven	2,42	2,00	2,00	2,50	2,00	1,50	2,00
BALT	3,50	2,50	3,00	3,75	2,75	3,00	2,67

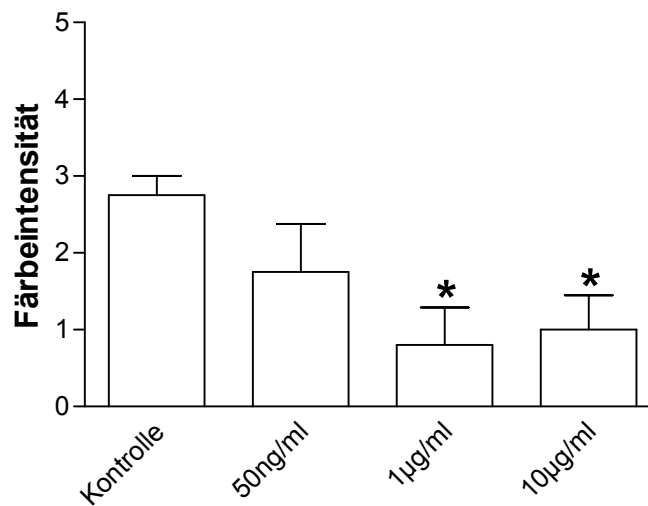
6.2 Graphen (Graph)

IL-4; Endothel teilmusk. Gefäße ohne Plasma 2h



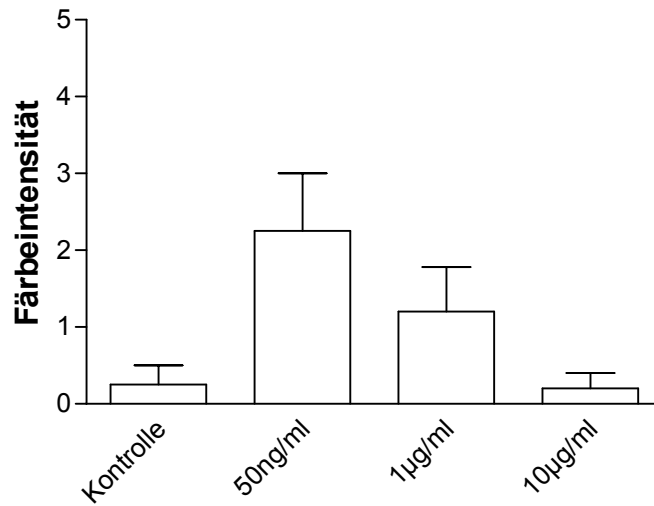
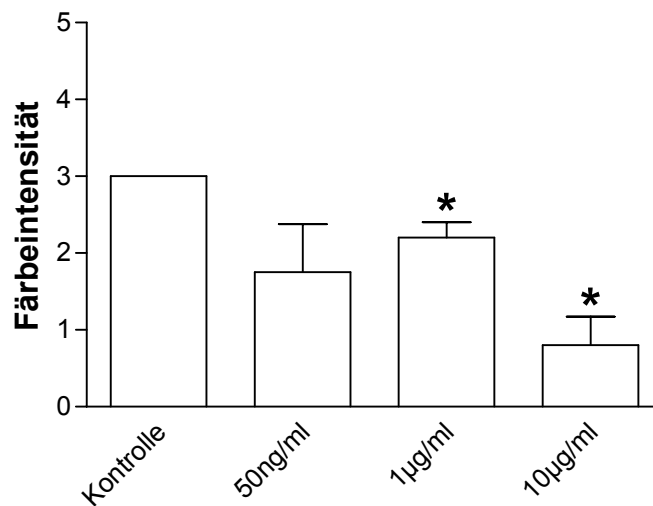
Graph 6.2.1 LPS-Stimulation, Dosis

IL-4; Endothel teilmusk. Gefäße mit Plasma 2h



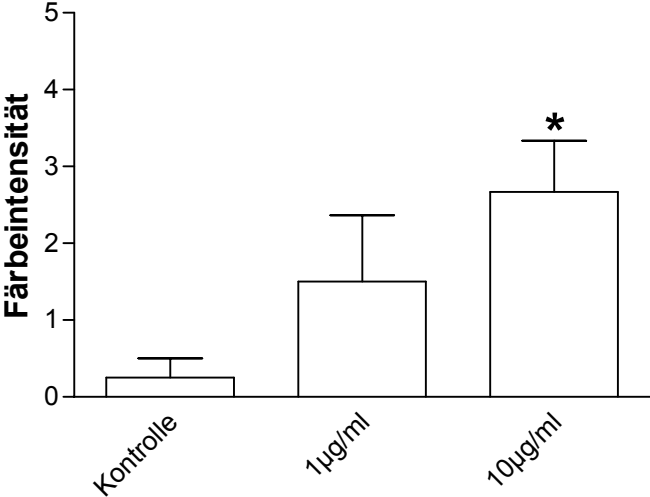
Graph 6.2.2 LPS-Stimulation, Dosis

* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

**IL-4; kapilläres Endothel
ohne Plasma 2h****Graph 6.2.3 LPS-Stimulation, Dosis****IL-4; kapilläres Endothel
mit Plasma 2h****Graph 6.2.4 LPS-Stimulation, Dosis**

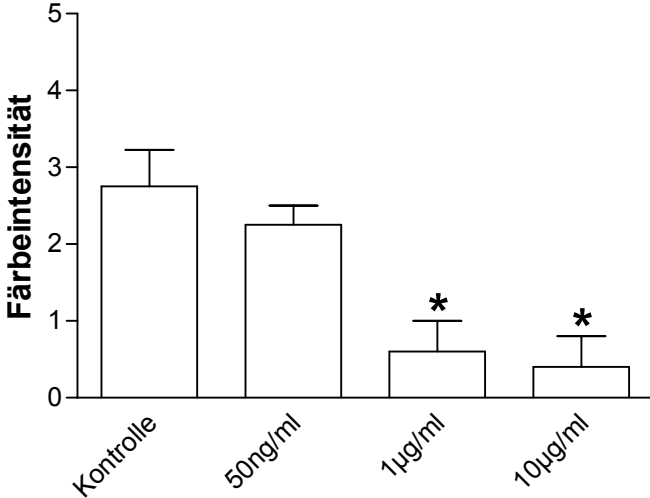
* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

IL-4; AM ohne Plasma 1h



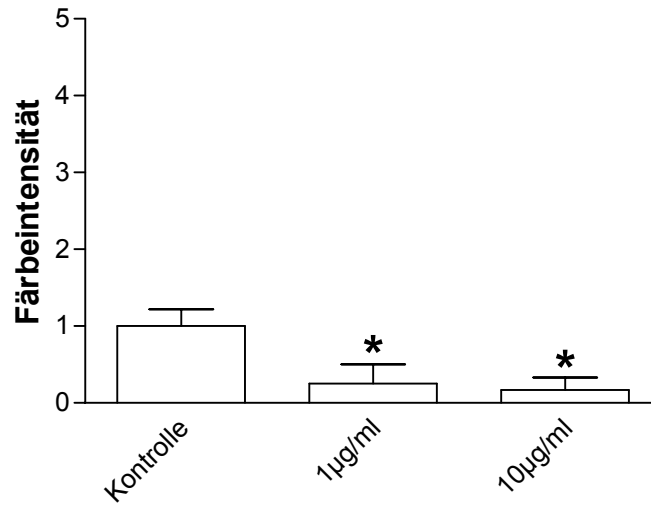
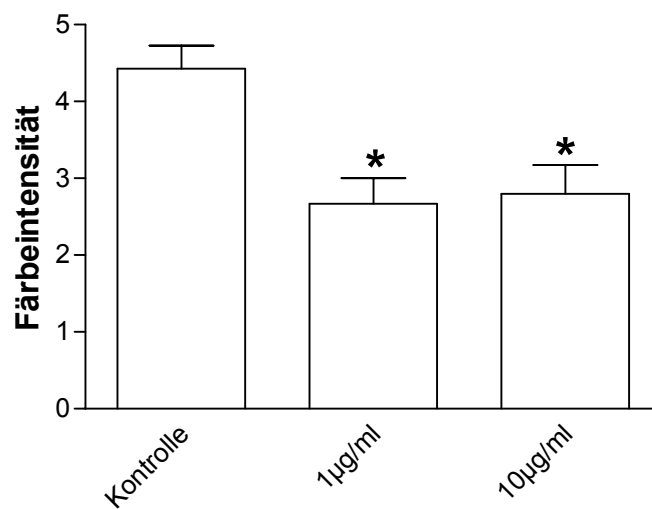
Graph 6.2.5 LPS-Stimulation, Dosis

IL-4; AM mit Plasma 2h

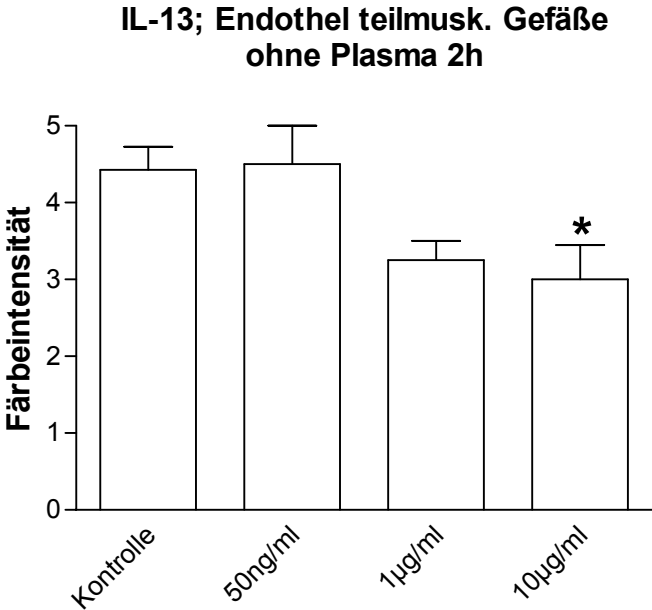


Graph 6.2.6 LPS-Stimulation, Dosis

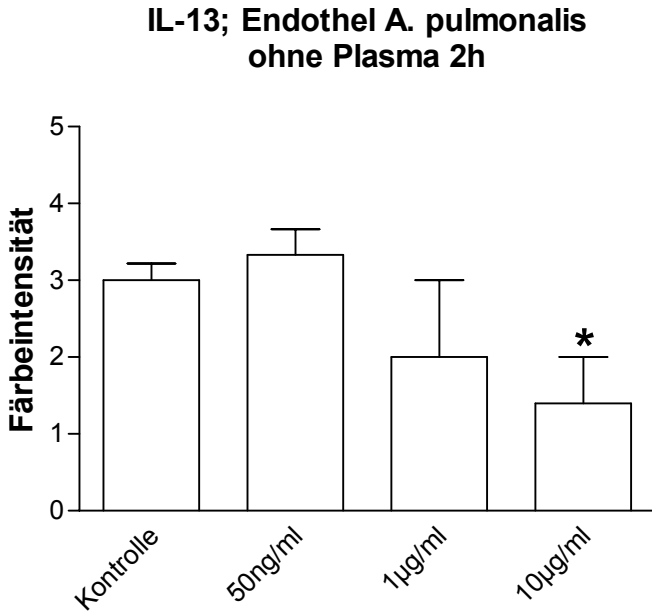
* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

**IL-13; Bronchialmuskulatur
ohne Plasma 1h****Graph 6.2.7 LPS-Stimulation, Dosis****IL-13; Endothel teilmusk. Gefäße
ohne Plasma 1h****Graph 6.2.8 LPS-Stimulation, Dosis**

* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

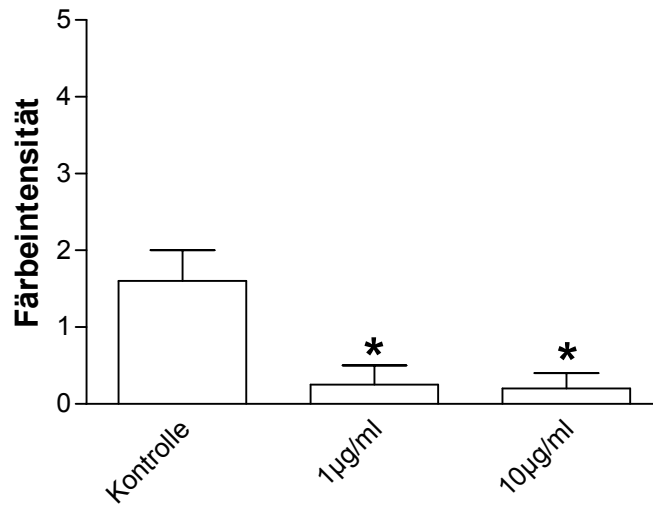
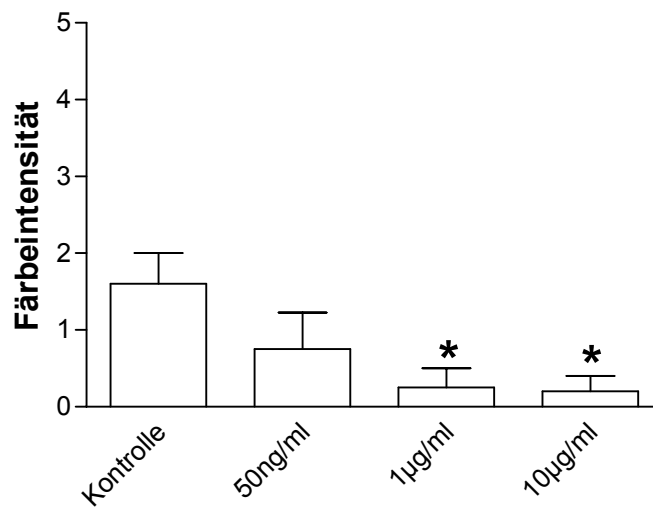


Graph 6.2.9 LPS-Stimulation, Dosis



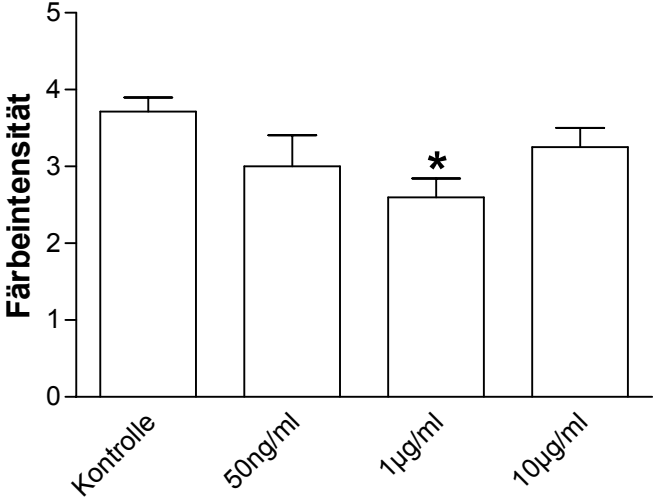
Graph 6.2.10 LPS-Stimulation, Dosis

* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

**IL-4R α ; kapilläres Endothel
ohne Plasma 1h****Graph 6.2.11 LPS-Stimulation, Dosis****IL-4R α ; kapilläres Endothel
ohne Plasma 2h****Graph 6.2.12 LPS-Stimulation, Dosis**

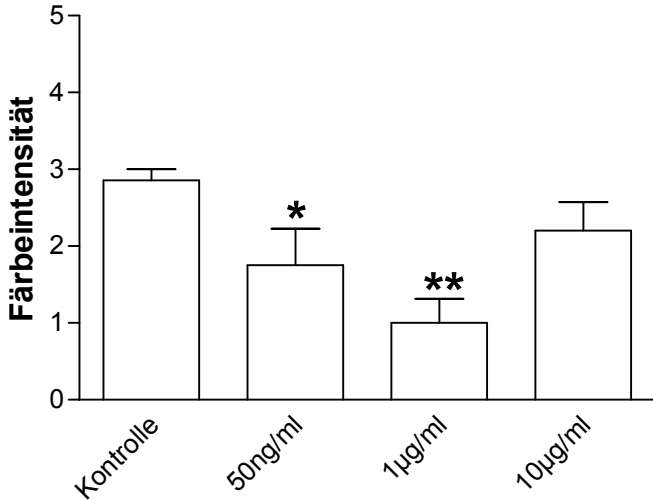
* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

**STAT-6; proximales Bronchialepithel
ohne Plasma 2h**



Graph 6.2.13 LPS-Stimulation, Dosis

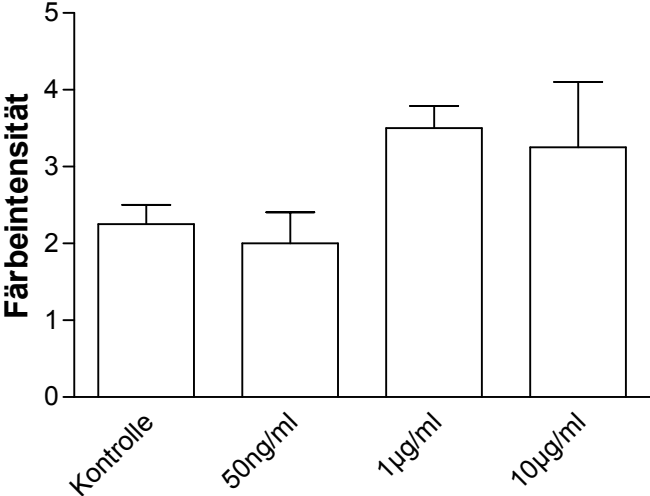
**STAT-6; distales Bronchialepithel
ohne Plasma 2h**



Graph 6.2.14 LPS-Stimulation, Dosis

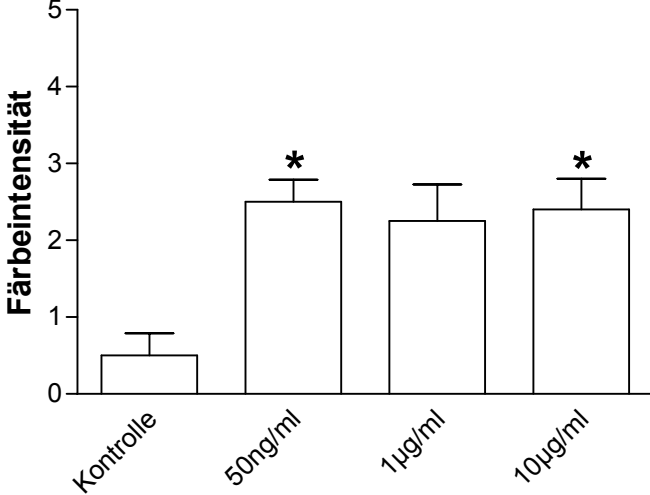
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle

**STAT-6; proximales Bronchialepithel
mit Plasma 2h**



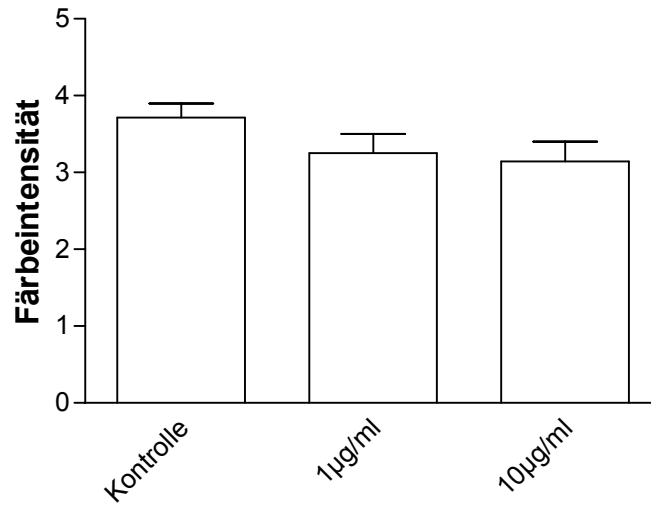
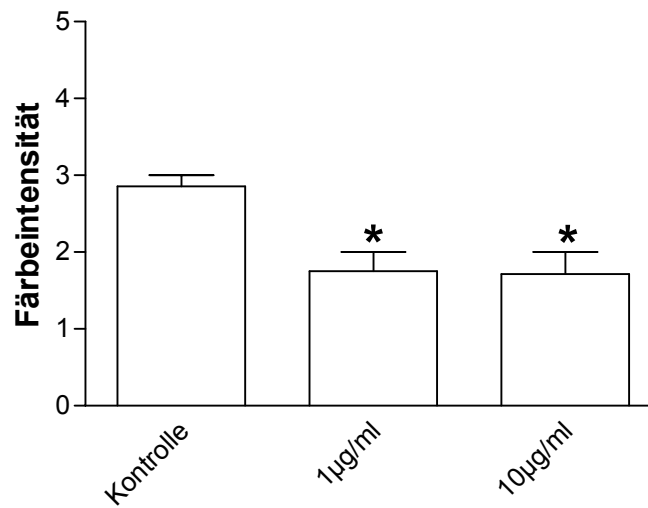
Graph 6.2.15 LPS-Stimulation, Dosis

**STAT-6; distales Bronchialepithel
mit Plasma 2h**



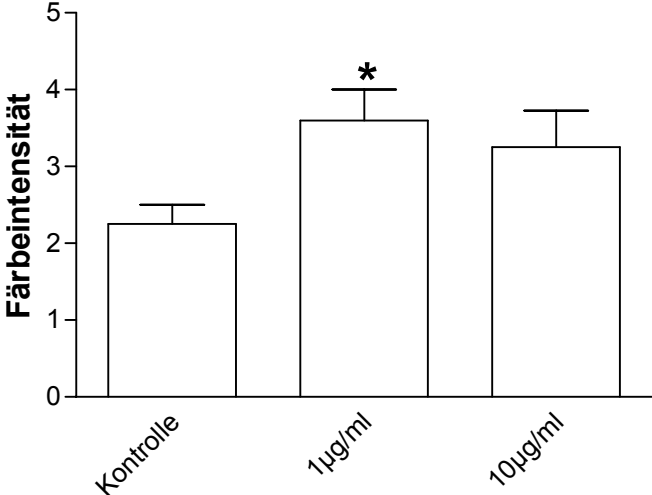
Graph 6.2.16 LPS-Stimulation, Dosis

* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

**STAT-6; proximales Bronchialepithel
ohne Plasma 1h****Graph 6.2.17 LPS-Stimulation, Dosis****STAT-6; distales Bronchialepithel
ohne Plasma 1h****Graph 6.2.18 LPS-Stimulation, Dosis**

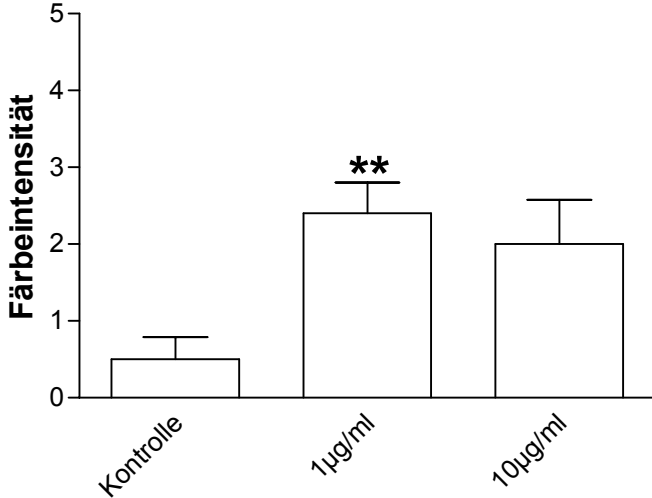
* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

**STAT-6; proximales Bronchialepithel
mit Plasma 1h**



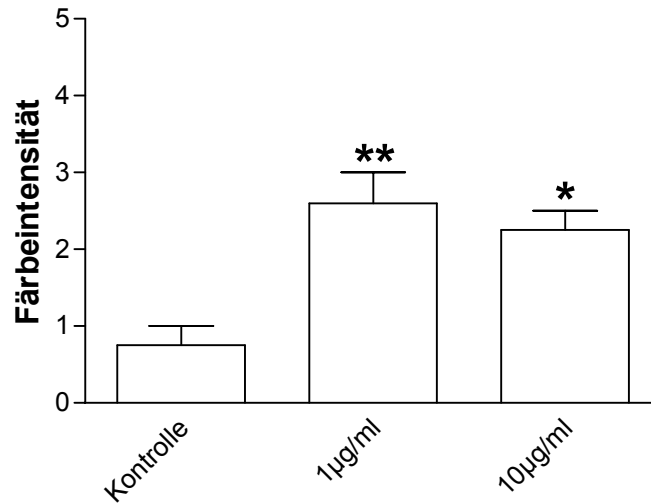
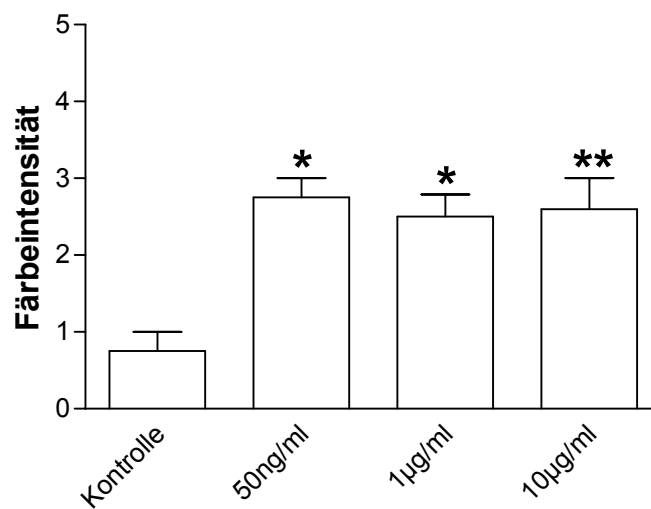
Graph 6.2.19 LPS-Stimulation, Dosis

**STAT-6; distales Bronchialepithel
mit Plasma 1h**



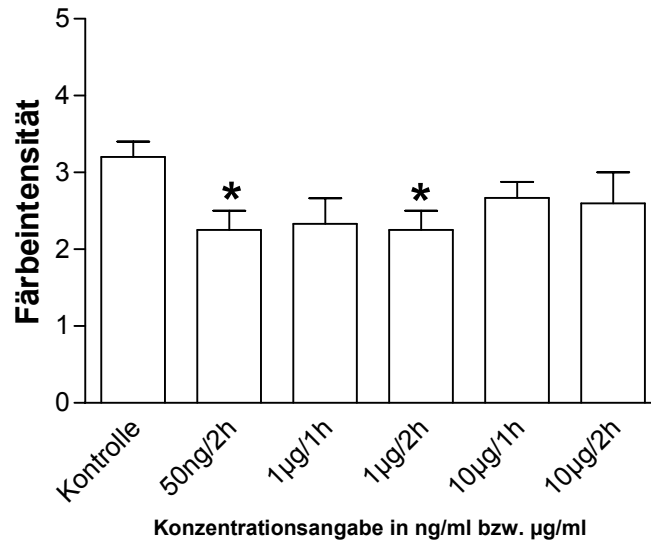
Graph 6.2.20 LPS-Stimulation, Dosis

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle

**STAT-6; Endothel teilm. Gefäße
mit Plasma 1h****Graph 6.2.21 LPS-Stimulation, Dosis****STAT-6; Endothel teilm. Gefäße
mit Plasma 2h****Graph 6.2.22 LPS-Stimulation, Dosis**

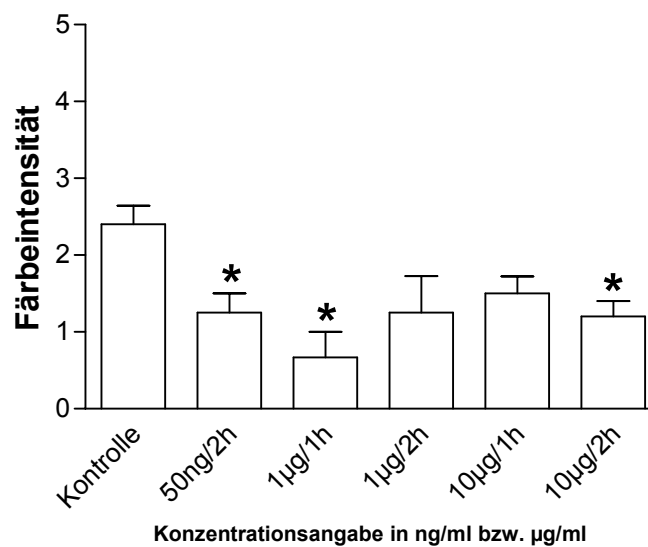
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle

IL-10; proximales Bronchialepithel ohne Plasma



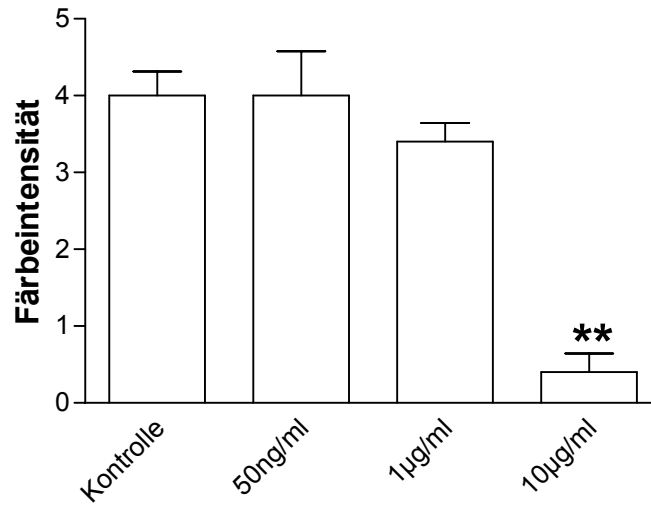
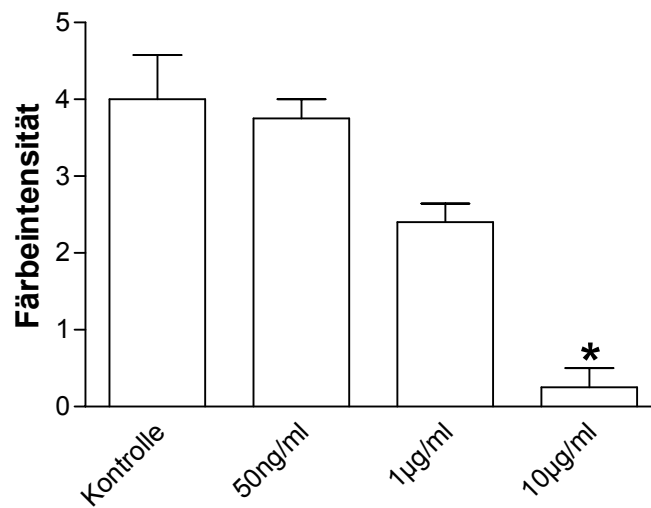
Graph 6.2.23 LPS-Stimulation, Zeit/Dosis

IL-10; distales Bronchialepithel ohne Plasma



Graph 6.2.24 LPS-Stimulation, Zeit/Dosis

* $p < 0.05$ gegenüber der Kontrolle

IL-10R; Fibrozyten ohne Plasma 2h**Graph 6.2.25 LPS-Stimulation, Dosis****IL-10R; Fibrozyten mit Plasma 2h****Graph 6.2.26 LPS-Stimulation, Dosis**

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ gegenüber der Kontrolle

7 BILDANHANG (Abb.)

7.1 Konstitutive Zytokinexpression in verschiedenen Organen der Ratte

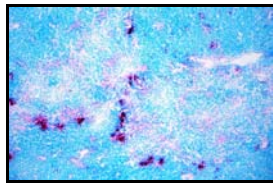


Abb. 7.1.1
IL-4, Thymus

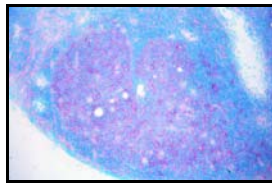


Abb. 7.1.2
IL-4R α , Thymus

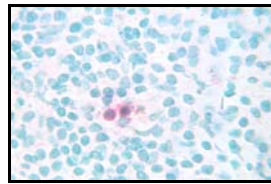


Abb. 7.1.3
IL-4, PMN

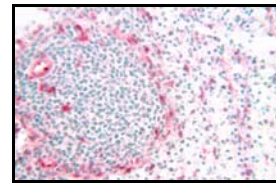


Abb. 7.1.4
IL-10R, Milz

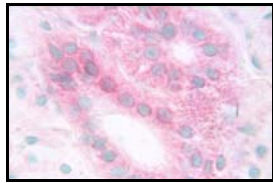


Abb. 7.1.5
IL-10, Gl. submandibularis

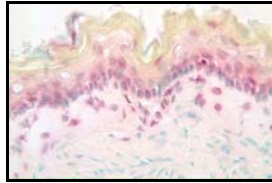


Abb. 7.1.6
IL-10R, Ösophagus

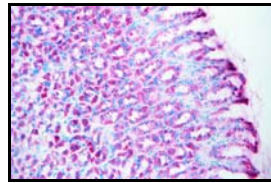


Abb. 7.1.7
IL-4R α , Magen

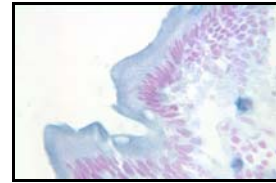


Abb. 7.1.8
IL-13, Duodenum (TMB)

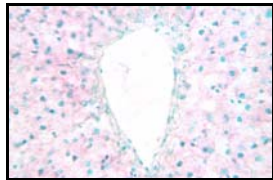


Abb. 7.1.9
STAT-6, Leber

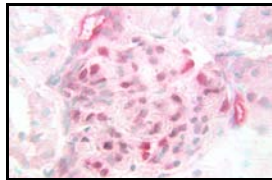


Abb. 7.1.10
IL-10R, Inselzellapparat

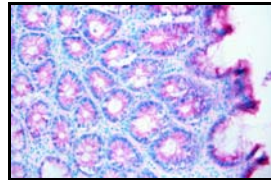


Abb. 7.1.11
IL-4R α , Kolon

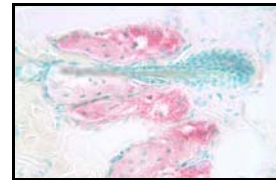


Abb. 7.1.12
IL-10, Haut

7.2 Konstitutive Zytokinexpression in Rattenlungen

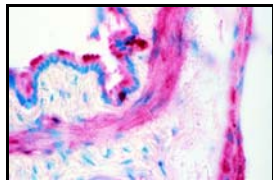


Abb. 7.2.1
IL-4, BE, Bm

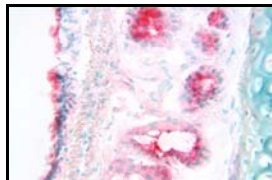


Abb. 7.2.2
IL-13, BE, Drüsen

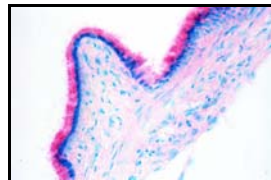


Abb. 7.2.3
IL-4R α , BE

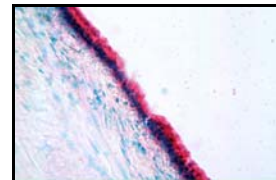


Abb. 7.2.4
STAT-6, BE

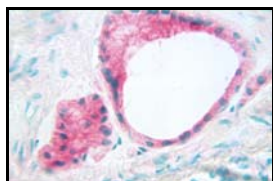


Abb. 7.2.5
STAT-6, Drüsen, -gang

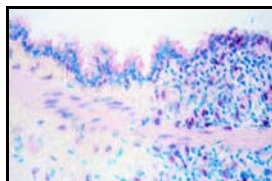


Abb. 7.2.6
IL-10R, BE, Bm, Fibrozyten

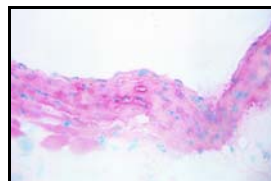


Abb. 7.2.7
IL-4R α , V.pulmonalis

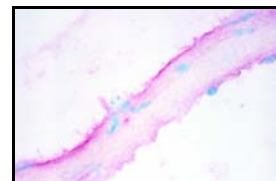


Abb. 7.2.8
IL-10, V.pulmonalis.

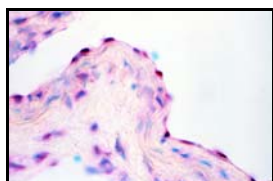


Abb. 7.2.9
IL-10R, V.pulmonalis

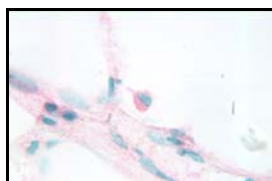


Abb. 7.2.10
IL-13, AM

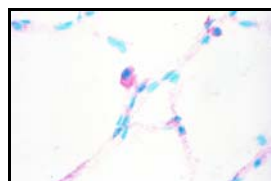


Abb. 7.2.11
IL-4R α , AM

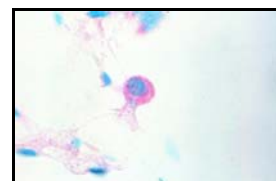
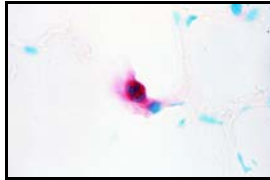
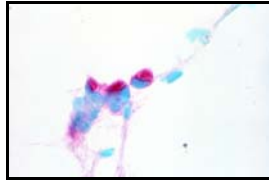
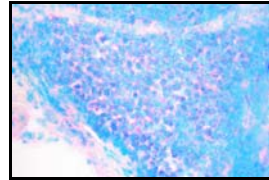
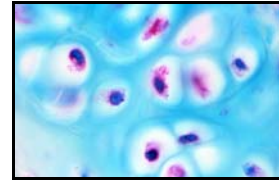
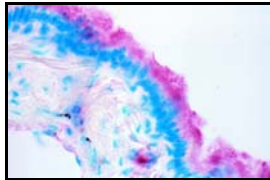
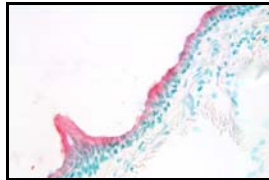
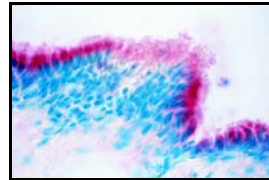
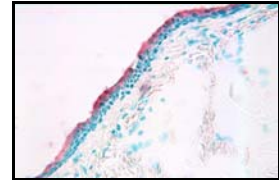
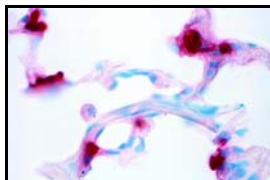
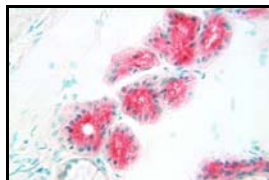
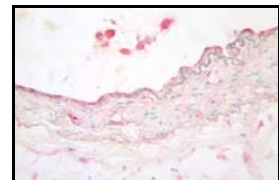


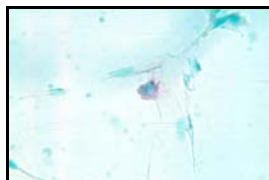
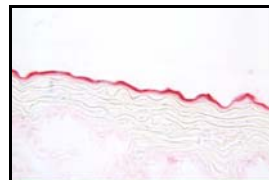
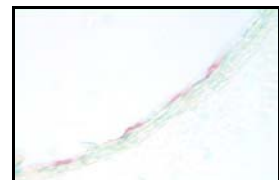
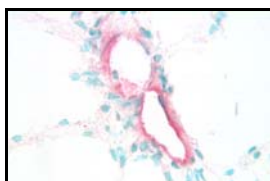
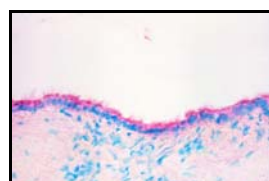
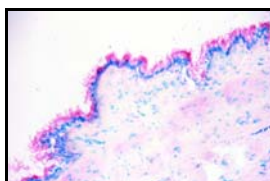
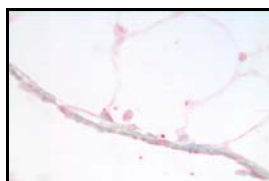
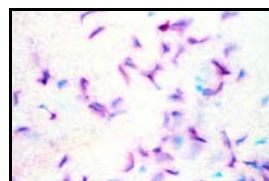
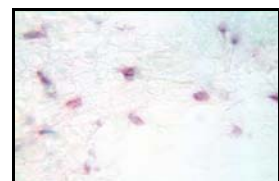
Abb. 7.2.12
STAT6, AM

Abb. 7.2.13
IL-4, PMNAbb. 7.2.14
STAT-6, AlveolarepithelAbb. 7.2.15
IL-10, BALFAbb. 7.2.16
IL-10R, Chondrozyten

7.3 Konstitutive Zytokinexpression in humanen Lungen

Abb. 7.3.1
IL-4, BEAbb. 7.3.2
IL-13, BEAbb. 7.3.3
IL-4Rα, BEAbb. 7.3.4
IL-10, BEAbb. 7.3.5
IL-4, PMNAbb. 7.3.6
IL-13, Glae. submucosaeAbb. 7.3.7
STAT-6, AMAbb. 7.3.8
IL-10R, Endothel + Fibrozyten

7.4 Konstitutive Zytokinexpression gegenüber LPS-Exposition in der Rattenlunge

Abb. 7.4.1
IL-4, AM, KontrolleAbb. 7.4.2
IL-4, AM, 1µg LPS, 2h, PI⁺Abb. 7.4.3
IL-13, A.pul., KontrolleAbb. 7.4.4
IL-13, A.pul., 1µg LPS, 2h, PI⁺Abb. 7.4.5
IL-13, tmG, KontrolleAbb. 7.4.6
IL-13, tmG, 1µg LPS, 2h, PI⁻Abb. 7.4.7
STAT-6, BE, KontrolleAbb. 7.4.8
STAT-6, 1µg LPS, 2h, PI⁻Abb. 7.4.9
IL-10, BE, KontrolleAbb. 7.4.10
IL-10, BE, 50ng LPS, 2h, PI⁻Abb. 7.4.11
IL-10R, Fibrozyten, KontrolleAbb. 7.4.12
IL-10R, Fibrozyten, 1µg LPS
2h, PI⁺

8 QUELLENVERZEICHNIS

1. Schuster, D. P. and M. H. Kollef. 1996. Acute respiratory distress syndrome. *Dis.Mon.* 42:270-326.
2. Krafft, P., P. Fridrich, T. Pernerstorfer, R. D. Fitzgerald, D. Koc, B. Schneider, A. F. Hammerle, and H. Steltzer. 1996. The acute respiratory distress syndrome: definitions, severity and clinical outcome. An analysis of 101 clinical investigations [see comments]. *Intensive.Care Med.* 22:519-529.
3. Gattinoni, L., P. Pelosi, P. M. Suter, A. Pedoto, P. Vercesi, and A. Lissoni. 1998. Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extrapulmonary disease. Different syndromes? [see comments]. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 158:3-11.
4. Reynolds, H. Y. 1983. Lung inflammation: role of endogenous chemotactic factors in attracting polymorphonuclear granulocytes. *Am.Rev.Respir.Dis.* 127:S16-S25.
5. Strieter, R. M., N. W. Lukacs, T. J. Standiford, and S. L. Kunkel. 1993. Cytokines. 2. Cytokines and lung inflammation: mechanisms of neutrophil recruitment to the lung. *Thorax* 48:765-769.
6. Matute-Bello, G., W. C. Liles, F. Radella, K. P. Steinberg, J. T. Ruzinski, M. Jonas, E. Y. Chi, L. D. Hudson, and T. R. Martin. 1997. Neutrophil apoptosis in the acute respiratory distress syndrome. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 156:1969-1977.

7. Meduri, G. U., M. Eltorky, and H. T. Winer-Muram. 1995. The fibroproliferative phase of late adult respiratory distress syndrome. *Semin.Respir.Infect.* 10:154-175.
8. Riede, U. N. and I. Shah. 1984. Diagnostic morphometry of the adult respiratory distress syndrome (shock lung). *Pathol.Res.Pract.* 179:204-206.
9. Goodman, R. B., R. M. Strieter, D. P. Martin, K. P. Steinberg, J. A. Milberg, R. J. Maunder, S. L. Kunkel, A. Walz, L. D. Hudson, and T. R. Martin. 1996. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 154:602-611.
10. Pittet, J. F., R. C. Mackersie, T. R. Martin, and M. A. Matthay. 1997. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 155:1187-1205.
11. Martin, T. R., G. D. Rubenfeld, J. T. Ruzinski, R. B. Goodman, K. P. Steinberg, D. J. Leturcq, A. M. Moriarty, G. Raghu, R. P. Baughman, and L. D. Hudson. 1997. Relationship between soluble CD14, lipopolysaccharide binding protein, and the alveolar inflammatory response in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 155:937-944.
12. Hyers, T. M., S. M. Tricomi, P. A. Dettenmeier, and A. A. Fowler. 1991. Tumor necrosis factor levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am.Rev.Respir.Dis.* 144:268-271.
13. Donnelly, S. C., R. M. Strieter, S. L. Kunkel, A. Walz, C. R. Robertson, D. C. Carter, I. S. Grant, A. J. Pollok, and C. Haslett. 1993. Interleukin-8 and

- development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 341:643-647.
14. Donnelly, S. C., R. M. Strieter, P. T. Reid, S. L. Kunkel, M. D. Burdick, I. Armstrong, A. Mackenzie, and C. Haslett. 1996. The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist in the lung fluids of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Ann.Intern.Med.* 125:191-196.
 15. Zhang, F. X., C. J. Kirschning, R. Mancinelli, X. P. Xu, Y. Jin, E. Faure, A. Mantovani, M. Rothe, M. Muzio, and M. Arditi. 1999. Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through interleukin-1 signaling mediators in cultured human dermal endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J.Biol.Chem.* 274:7611-7614.
 16. Abraham, E. 2000. NF-kappaB activation. *Crit.Care Med.* 28:N100-N104.
 17. Tobias, P. S., J. Gegner, J. Han, T. Kirkland, V. Kravchenko, D. Leturcq, J. D. Lee, A. Moriarty, J. C. Mathison, and J. Pugin. 1994. LPS binding protein and CD14 in the LPS dependent activation of cells. *Prog.Clin.Biol.Res.* 388:31-9.
 18. Wright, S. D., R. A. Ramos, P. S. Tobias, R. J. Ulevitch, and J. C. Mathison. 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein [see comments]. *Science* 249:1431-1433.
 19. Pugin, J., C. C. Schurer-Maly, D. Leturcq, A. Moriarty, R. J. Ulevitch, and P. S. Tobias. 1993. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 90:2744-2748.

-
20. Lee, J. D., V. Kravchenko, T. N. Kirkland, J. Han, N. Mackman, A. Moriarty, D. Leturcq, P. S. Tobias, and R. J. Ulevitch. 1993. Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored or integral membrane forms of CD14 mediate identical cellular responses to endotoxin. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 90:9930-9934.
 21. Read, M. A., S. R. Cordle, R. A. Veach, C. D. Carlisle, and J. Hawiger. 1993. Cell-free pool of CD14 mediates activation of transcription factor NF-kappa B by lipopolysaccharide in human endothelial cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 90:9887-9891.
 22. Wurfel, M. M., E. Hailman, and S. D. Wright. 1995. Soluble CD14 acts as a shuttle in the neutralization of lipopolysaccharide (LPS) by LPS-binding protein and reconstituted high density lipoprotein. *J.Exp.Med.* 181:1743-1754.
 23. Medzhitov, R., P. Preston-Hurlburt, and C. A. J. Janeway. 1997. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity [see comments]. *Nature* 388:394-397.
 24. Rock, F. L., G. Hardiman, J. C. Timans, R. A. Kastelein, and J. F. Bazan. 1998. A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 95:588-593.
 25. Ingalls, R. R., H. Heine, E. Lien, A. Yoshimura, and D. Golenbock. 1999. Lipopolysaccharide recognition, CD14, and lipopolysaccharide receptors. *Infect.Dis.Clin.North Am.* 13:341-53, vii.
 26. Heumann, D. and T. Roger. 2002. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria. *Clinica Chimica Acta* 323:59-72.

-
27. Martin, T. R., J. C. Mathison, P. S. Tobias, D. J. Leturcq, A. M. Moriarty, R. J. Maunder, and R. J. Ulevitch. 1992. Lipopolysaccharide binding protein enhances the responsiveness of alveolar macrophages to bacterial lipopolysaccharide. Implications for cytokine production in normal and injured lungs. *J.Clin.Invest.* 90:2209-2219.
 28. Wong, H. R., B. R. Pitt, G. L. Su, D. P. Rossignol, A. R. Steve, T. R. Billiar, and S. C. Wang. 1995. Induction of lipopolysaccharide-binding protein gene expression in cultured rat pulmonary artery smooth muscle cells by interleukin 1 beta. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 12:449-454.
 29. Pugin, J., B. Ricou, K. P. Steinberg, P. M. Suter, and T. R. Martin. 1996. Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ARDS, a prominent role for interleukin-1. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 153:1850-1856.
 30. Nelson, S., G. J. Bagby, B. G. Bainton, L. A. Wilson, J. J. Thompson, and W. R. Summer. 1989. Compartmentalization of intraalveolar and systemic lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and the pulmonary inflammatory response. *J.Infect.Dis.* 159:189-194.
 31. Howard, M., J. Farrar, M. Hilfiker, B. Johnson, K. Takatsu, T. Hamaoka, and W. E. Paul. 1982. Identification of a T cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin 2. *J.Exp.Med.* 155:914-923.
 32. Del Prete, G., E. Maggi, and S. Romagnani. 1994. Human Th1 and Th2 cells: functional properties, mechanisms of regulation, and role in disease. *Lab.Invest.* 70:299-306.

-
33. Bradding, P., I. H. Feather, P. H. Howarth, R. Mueller, J. A. Roberts, K. Britten, J. P. Bews, T. C. Hunt, Y. Okayama, and C. H. Heusser. 1992. Interleukin 4 is localized to and released by human mast cells. *J.Exp.Med.* 176:1381-1386.
 34. Weiss, D. L. and M. A. Brown. 2001. Regulation of IL-4 production in mast cells: a paradigm for cell-type-specific gene expression. *Immunol.Rev.* 179:35-47.
 35. Redrup, A. C., B. P. Howard, D. W. MacGlashan, Jr., A. Kagey-Sobotka, L. M. Lichtenstein, and J. T. Schroeder. 1998. Differential Regulation of IL-4 and IL-13 Secretion by Human Basophils: Their Relationship to Histamine Release in Mixed Leukocyte Cultures. *J.Immunol.* 160:1957-1964.
 36. Minty, A., P. Chalon, J. M. Derocq, X. Dumont, J. C. Guillemot, M. Kaghad, C. Labit, P. Leplatois, P. Liauzun and B. Miloux. 1993. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature* 362:248-250.
 37. Hsieh, C. S., A. B. Heimberger, J. S. Gold, A. O'Garra, and K. M. Murphy. 1992. Differential regulation of T helper phenotype development by interleukins 4 and 10 in an alpha beta T-cell-receptor transgenic system. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 89:6065-6069.
 38. Peleman, R., J. Wu, C. Fargeas, and G. Delespesse. 1989. Recombinant interleukin 4 suppresses the production of interferon gamma by human mononuclear cells. *J.Exp.Med.* 170:1751-1756.
 39. Gascan, H., J. F. Gauchat, M. G. Roncarolo, H. Yssel, H. Spits, and J. E. de Vries. 1991. Human B cell clones can be induced to proliferate and to switch

- to IgE and IgG4 synthesis by interleukin 4 and a signal provided by activated CD4+ T cell clones. *J.Exp.Med.* 173:747-750.
40. Defrance, T., J. P. Aubry, F. Rousset, B. Vanbervliet, J. Y. Bonnefoy, N. Arai, Y. Takebe, T. Yokota, F. Lee, and K. Arai. 1987. Human recombinant interleukin 4 induces Fc epsilon receptors (CD23) on normal human B lymphocytes. *J.Exp.Med.* 165:1459-1467.
41. Zurawski, G. and J. E. de Vries. 1994. Interleukin 13 elicits a subset of the activities of its close relative interleukin 4. *Stem Cells* 12:169-174.
42. Thornhill, M. H., S. M. Wellicome, D. L. Mahiouz, J. S. Lanchbury, U. Kyan-Aung, and D. O. Haskard. 1991. Tumor necrosis factor combines with IL-4 or IFN-gamma to selectively enhance endothelial cell adhesiveness for T cells. The contribution of vascular cell adhesion molecule-1-dependent and -independent binding mechanisms. *J.Immunol.* 146:592-598.
43. Hasday, J. D., W. Dubin, S. Mongovin, S. E. Goldblum, P. Swoveland, D. J. Leturcq, A. M. Moriarty, E. R. Bleecker, and T. R. Martin. 1997. Bronchoalveolar macrophage CD14 expression: shift between membrane-associated and soluble pools. *Am.J.Physiol.* 272:L925-L933.
44. Cosentino, G., E. Soprana, C. P. Thienes, A. G. Siccardi, G. Viale, and D. Vercelli. 1995. IL-13 down-regulates CD14 expression and TNF-alpha secretion in normal human monocytes. *J.Immunol.* 155:3145-3151.
45. Baumhofer, J. M., B. G. Beinbauer, J. E. Wang, H. Brandmeier, K. Geissler, U. Losert, R. Philip, G. Aversa, and M. A. Rogy. 1998. Gene transfer with IL-4 and IL-13 improves survival in lethal endotoxemia in the mouse and

- ameliorates peritoneal macrophages immune competence. *Eur.J.Immunol.* 28:610-615.
46. Jain-Vora, S., A. M. LeVine, Z. Chroneos, G. F. Ross, W. M. Hull, and J. A. Whitsett. 1998. Interleukin-4 enhances pulmonary clearance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect.Immun.* 66:4229-4236.
47. Lowenthal, J. W., B. E. Castle, J. Christiansen, J. Schreurs, D. Rennick, N. Arai, P. Hoy, Y. Takebe, and M. Howard. 1988. Expression of high affinity receptors for murine interleukin 4 (BSF-1) on hemopoietic and nonhemopoietic cells. *J.Immunol.* 140:456-464.
48. Cabrillat, H., J. P. Galizzi, O. Djossou, N. Arai, T. Yokota, K. Arai, and J. Banchereau. 1987. High affinity binding of human interleukin 4 to cell lines. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 149:995-1001.
49. Akaiwa, M., B. Yu, R. Umeshita-Suyama, N. Terada, H. Suto, T. Koga, K. Arima, S. Matsushita, H. Saito, H. Ogawa, M. Furue, N. Hamasaki, K. Ohshima, and K. Izuhara. 2001. Localization of human interleukin 13 receptor in non-haematopoietic cells. *Cytokine* 13:75-84.
50. Aman, M. J., N. Tayebi, N. I. Obiri, R. K. Puri, W. S. Modi, and W. J. Leonard. 1996. cDNA cloning and characterization of the human interleukin 13 receptor alpha chain. *J.Biol.Chem.* 271:29265-29270.
51. Russell, S. M., A. D. Keegan, N. Harada, Y. Nakamura, M. Noguchi, P. Leland, M. C. Friedmann, A. Miyajima, R. K. Puri, and W. E. Paul. 1993. Interleukin-2 receptor gamma chain: a functional component of the interleukin-4 receptor [see comments]. *Science* 262:1880-1883.

-
52. Obiri, N. I., W. Debinski, W. J. Leonard, and R. K. Puri. 1995. Receptor for interleukin 13. Interaction with interleukin 4 by a mechanism that does not involve the common gamma chain shared by receptors for interleukins 2, 4, 7, 9, and 15. *J.Biol.Chem.* 270:8797-8804.
 53. Obiri, N. I., P. Leland, T. Murata, W. Debinski, and R. K. Puri. 1997. The IL-13 receptor structure differs on various cell types and may share more than one component with IL-4 receptor. *J.Immunol.* 158:756-764.
 54. Fujiwara, H., S. H. Hanissian, A. Tsytsykova, and R. S. Geha. 1997. Homodimerization of the human interleukin 4 receptor alpha chain induces Cepsilon germline transcripts in B cells in the absence of the interleukin 2 receptor gamma chain. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 94:5866-5871.
 55. Reichel, M., B. H. Nelson, P. D. Greenberg, and P. B. Rothman. 1997. The IL-4 receptor alpha-chain cytoplasmic domain is sufficient for activation of JAK-1 and STAT6 and the induction of IL-4-specific gene expression. *J.Immunol.* 158:5860-5867.
 56. Kammer, W., A. Lischke, R. Moriggl, B. Groner, A. Ziemiecki, C. B. Gurniak, L. J. Berg, and K. Friedrich. 1996. Homodimerization of interleukin-4 receptor alpha chain can induce intracellular signaling. *J.Biol.Chem.* 271:23634-23637.
 57. Mitsuyasu, H., K. Izuhara, X. Q. Mao, P. S. Gao, Y. Arinobu, T. Enomoto, M. Kawai, S. Sasaki, Y. Dake, N. Hamasaki, T. Shirakawa, and J. M. Hopkin. 1998. Ile50Val variant of IL4R alpha upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma [letter]. *Nat.Genet.* 19:119-120.

-
58. Taniguchi, T. 1995. Cytokine signaling through nonreceptor protein tyrosine kinases. *Science* 268:251-255.
 59. Witthuhn, B. A., O. Silvennoinen, O. Miura, K. S. Lai, C. Cwik, E. T. Liu, and J. N. Ihle. 1994. Involvement of the Jak-3 Janus kinase in signalling by interleukins 2 and 4 in lymphoid and myeloid cells. *Nature* 370:153-157.
 60. Takeda, K., T. Tanaka, W. Shi, M. Matsumoto, M. Minami, S. Kashiwamura, K. Nakanishi, N. Yoshida, T. Kishimoto, and S. Akira. 1996. Essential role of Stat6 in IL-4 signalling. *Nature* 380:627-630.
 61. Murata, T., J. Taguchi, and R. K. Puri. 1998. Interleukin-13 receptor alpha' but not alpha chain: a functional component of interleukin-4 receptors. *Blood* 91:3884-3891.
 62. Shimoda, K., J. van Deursen, M. Y. Sangster, S. R. Sarawar, R. T. Carson, R. A. Tripp, C. Chu, F. W. Quelle, T. Nosaka, D. A. Vignali, P. C. Doherty, G. Grosveld, W. E. Paul, and J. N. Ihle. 1996. Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene. *Nature* 380:630-633.
 63. Kaplan, M. H., U. Schindler, S. T. Smiley, and M. J. Grusby. 1996. Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for development of Th2 cells. *Immunity* 4:313-319.
 64. Fiorentino, D. F., M. W. Bond, and T. R. Mosmann. 1989. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J.Exp.Med.* 170:2081-2095.

-
65. Mosmann, T. R. and K. W. Moore. 1991. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. *Immunol.Today* 12:A49-A53.
 66. Liu, Y., M. R. de Waal, F. Briere, C. Parham, J. M. Bridon, J. Banchereau, K. W. Moore, and J. Xu. 1997. The EBV IL-10 homologue is a selective agonist with impaired binding to the IL-10 receptor. *J.Immunol.* 158:604-613.
 67. Moore, K. W., F. Rousset, and J. Banchereau. 1991. Evolving principles in immunopathology: interleukin 10 and its relationship to Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Springer Semin.Immunopathol.* 13:157-166.
 68. Hsu, D. H., K. W. Moore, and H. Spits. 1992. Differential effects of IL-4 and IL-10 on IL-2-induced IFN-gamma synthesis and lymphokine-activated killer activity. *Int.Immunol.* 4:563-569.
 69. Moore, K. W., A. O'Garra, M. R. de Waal, P. Vieira, and T. R. Mosmann. 1993. Interleukin-10. *Annu.Rev.Immunol.* 11:165-90.
 70. Ho, A. S. and K. W. Moore. 1994. Interleukin-10 and its receptor. *Ther.Immunol.* 1:173-185.
 71. Fiorentino, D. F., A. Zlotnik, P. Vieira, T. R. Mosmann, M. Howard, K. W. Moore, and A. O'Garra. 1991. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J.Immunol.* 146:3444-3451.
 72. Fiorentino, D. F., A. Zlotnik, T. R. Mosmann, M. Howard, and A. O'Garra. 1991. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J.Immunol.* 147:3815-3822.

-
73. de Waal, M. R., J. Abrams, B. Bennett, C. G. Figdor, and J. E. de Vries. 1991. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J.Exp.Med.* 174:1209-1220.
74. Jenkins, J. K., M. Malyak, and W. P. Arend. 1994. The effects of interleukin-10 on interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 beta production in human monocytes and neutrophils. *Lymphokine Cytokine Res.* 13:47-54.
75. Durez, P., D. Abramowicz, C. Gerard, M. Van Mechelen, Z. Amraoui, C. Dubois, O. Leo, T. Velu, and M. Goldman. 1993. In vivo induction of interleukin 10 by anti-CD3 monoclonal antibody or bacterial lipopolysaccharide: differential modulation by cyclosporin A. *J.Exp.Med.* 177:551-555.
76. de Waal, M. R., J. Haanen, H. Spits, M. G. Roncarolo, V. A. te, C. Figdor, K. Johnson, R. Kastelein, H. Yssel, and J. E. de Vries. 1991. Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. *J.Exp.Med.* 174:915-924.
77. Willems, F., A. Marchant, J. P. Delville, C. Gerard, A. Delvaux, T. Velu, M. de Boer, and M. Goldman. 1994. Interleukin-10 inhibits B7 and intercellular adhesion molecule-1 expression on human monocytes. *Eur.J.Immunol.* 24:1007-1009.
78. Brown, M. A. and J. Hural. 1997. Functions of IL-4 and control of its expression. *Crit.Rev.Immunol.* 17:1-32.

-
79. Wanidworanun, C. and W. Strober. 1993. Predominant role of tumor necrosis factor-alpha in human monocyte IL-10 synthesis. *J.Immunol.* 151:6853-6861.
 80. van der Poll , T., J. Jansen, M. Levi, H. ten Cate, J. W. ten Cate, and S. J. van Deventer. 1994. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J.Exp.Med.* 180:1985-1988.
 81. Berg, D. J., R. Kuhn, K. Rajewsky, W. Muller, S. Menon, N. Davidson, G. Grunig, and D. Rennick. 1995. Interleukin-10 is a central regulator of the response to LPS in murine models of endotoxic shock and the Shwartzman reaction but not endotoxin tolerance. *J.Clin.Invest.* 96:2339-2347.
 82. Kuhn, R., J. Lohler, D. Rennick, K. Rajewsky, and W. Muller. 1993. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 75:263-274.
 83. Schreiber, S., T. Heinig, H. G. Thiele, and A. Raedler. 1995. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 108:1434-1444.
 84. Pajkrt, D., L. Camoglio, M. C. Tiel-van Buul, K. de Bruin, D. L. Cutler, M. B. Affrime, G. Rikken, P. T. van der, J. W. ten Cate, and S. J. van Deventer. 1997. Attenuation of proinflammatory response by recombinant human IL-10 in human endotoxemia: effect of timing of recombinant human IL-10 administration. *J.Immunol.* 158:3971-3977.
 85. Denis, M. and E. Ghadirian. 1993. IL-10 neutralization augments mouse resistance to systemic *Mycobacterium avium* infections. *J.Immunol.* 151:5425-5430.

-
86. Greenberger, M. J., R. M. Strieter, S. L. Kunkel, J. M. Danforth, R. E. Goodman, and T. J. Standiford. 1995. Neutralization of IL-10 increases survival in a murine model of *Klebsiella pneumoniae*. *J.Immunol.* 155:722-729.
 87. van der Poll, T., A. Marchant, C. V. Keogh, M. Goldman, and S. F. Lowry. 1996. Interleukin-10 impairs host defense in murine pneumococcal pneumonia. *J.Infect.Dis.* 174:994-1000.
 88. Cunha, F. Q., S. Moncada, and F. Y. Liew. 1992. Interleukin-10 (IL-10) inhibits the induction of nitric oxide synthase by interferon-gamma in murine macrophages. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 182:1155-1159.
 89. Rogy, M. A., T. Auffenberg, N. J. Espat, R. Philip, D. Remick, G. K. Wollenberg, E. M. Copeland, III, and L. L. Moldawer. 1995. Human tumor necrosis factor receptor (p55) and interleukin 10 gene transfer in the mouse reduces mortality to lethal endotoxemia and also attenuates local inflammatory responses. *J.Exp.Med.* 181:2289-2293.
 90. Shanley, T. P., H. Schmal, H. P. Friedl, M. L. Jones, and P. A. Ward. 1995. Regulatory effects of intrinsic IL-10 in IgG immune complex-induced lung injury. *J.Immunol.* 154:3454-3460.
 91. Kasama, T., R. M. Strieter, N. W. Lukacs, M. D. Burdick, and S. L. Kunkel. 1994. Regulation of neutrophil-derived chemokine expression by IL-10. *J.Immunol.* 152:3559-3569.
 92. Chaves, M. M., A. A. Silvestrini, D. N. Silva-Teixeira, and J. A. Nogueira-Machado. 1996. Effect in vitro of gamma interferon and interleukin-10 on

- generation of oxidizing species by human granulocytes. *Inflamm.Res.* 45:313-315.
93. Gerard, C., C. Bruyns, A. Marchant, D. Abramowicz, P. Vandenabeele, A. Delvaux, W. Fiers, M. Goldman, and T. Velu. 1993. Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia. *J.Exp.Med.* 177:547-550.
94. Howard, M., T. Muchamuel, S. Andrade, and S. Menon. 1993. Interleukin 10 protects mice from lethal endotoxemia. *J.Exp.Med.* 177:1205-1208.
95. Weber-Nordt, R. M., M. A. Meraz, and R. D. Schreiber. 1994. Lipopolysaccharide-dependent induction of IL-10 receptor expression on murine fibroblasts. *J.Immunol.* 153:3734-3744.
96. Mertz, P. M., D. L. DeWitt, W. G. Stetler-Stevenson, and L. M. Wahl. 1994. Interleukin-10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. *J.Biol.Chem.* 269:21322-21329.
97. Lacraz, S., L. P. Nicod, R. Chicheportiche, H. G. Welgus, and J. M. Dayer. 1995. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J.Clin.Invest.* 96:2304-2310.
98. Pradier, O., C. Gerard, A. Delvaux, M. Lybin, D. Abramowicz, P. Capel, T. Velu, and M. Goldman. 1993. Interleukin-10 inhibits the induction of monocyte procoagulant activity by bacterial lipopolysaccharide. *Eur.J.Immunol.* 23:2700-2703.

-
99. Ramani, M., V. Ollivier, F. Khechai, T. Vu, C. Ternisien, F. Bridey, and D. de Prost. 1993. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced tissue factor mRNA production by human monocytes. *FEBS Lett.* 334:114-116.
 100. Liu, Y., S. H. Wei, A. S. Ho, M. R. de Waal, and K. W. Moore. 1994. Expression cloning and characterization of a human IL-10 receptor. *J.Immunol.* 152:1821-1829.
 101. Tan, J. C., S. R. Indelicato, S. K. Narula, P. J. Zavodny, and C. C. Chou. 1993. Characterization of interleukin-10 receptors on human and mouse cells. *J.Biol.Chem.* 268:21053-21059.
 102. Finbloom, D. S. and K. D. Winestock. 1995. IL-10 induces the tyrosine phosphorylation of tyk2 and Jak1 and the differential assembly of STAT1 alpha and STAT3 complexes in human T cells and monocytes. *J.Immunol.* 155:1079-1090.
 103. Weber-Nordt, R. M., J. K. Riley, A. C. Greenlund, K. W. Moore, J. E. Darnell, and R. D. Schreiber. 1996. Stat3 recruitment by two distinct ligand-induced, tyrosine-phosphorylated docking sites in the interleukin-10 receptor intracellular domain. *J.Biol.Chem.* 271:27954-27961.
 104. Wang, P., P. Wu, M. I. Siegel, R. W. Egan, and M. M. Billah. 1995. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J.Biol.Chem.* 270:9558-9563.

-
105. Hurme, M., T. Henttinen, M. Karppelin, K. Varkila, and S. Matikainen. 1994. Effect of interleukin-10 on NF- κ B and AP-1 activities in interleukin-2 dependent CD8 T lymphoblasts. *Immunol.Lett.* 42:129-133.
 106. Bonfield, T. L., M. W. Konstan, P. Burfeind, J. R. Panuska, J. B. Hilliard, and M. Berger. 1995. Normal bronchial epithelial cells constitutively produce the anti-inflammatory cytokine interleukin-10, which is downregulated in cystic fibrosis. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 13:257-261.
 107. Rivas, J. M. and S. E. Ullrich. 1992. Systemic suppression of delayed-type hypersensitivity by supernatants from UV-irradiated keratinocytes. An essential role for keratinocyte-derived IL-10. *J.Immunol.* 149:3865-3871.
 108. Teunissen, M. B., C. W. Koomen, J. Jansen, M. R. de Waal, E. Schmitt, R. M. Van den Wijngaard, P. K. Das, and J. D. Bos. 1997. In contrast to their murine counterparts, normal human keratinocytes and human epidermoid cell lines A431 and HaCaT fail to express IL-10 mRNA and protein. *Clin.Exp.Immunol.* 107:213-223.
 109. Ermert, M., M. Merkle, R. Mootz, F. Grimminger, W. Seeger, and L. Ermert. 2000. Endotoxin priming of the cyclooxygenase-2-thromboxane axis in isolated rat lungs. *Am.J.Physiol.Lung Cell.Mol.Physiol.* 278:L1195-L1203.
 110. Romeis. 1989. Mikroskopische Technik, Urban & Schwarzenberg, München.
 111. Brandt, E., G. Woerly, A. B. Younes, S. Loiseau, and M. Capron. 2000. IL-4 production by human polymorphonuclear neutrophils. *J.Leukoc.Biol.* 68:125-130.

-
112. Gharaee-Kermani, M., Y. Nozaki, K. Hatano, and S. H. Phan. 2001. Lung interleukin-4 gene expression in a murine model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Cytokine* 15:138-147.
 113. Wallace, W. A. and S. E. Howie. 1999. Immunoreactive interleukin 4 and interferon-gamma expression by type II alveolar epithelial cells in interstitial lung disease. *J.Pathol.* 187:475-480.
 114. Nonaka, M., R. Nonaka, K. Woolley, E. Adelroth, K. Miura, Y. Okhawara, M. Glibetic, K. Nakano, P. O'Byrne and J. Dolovich. 1995. Distinct immunohistochemical localization of IL-4 in human inflamed airway tissues. IL-4 is localized to eosinophils in vivo and is released by peripheral blood eosinophils. *J.Immunol.* 155:3234-3244.
 115. Moller, G. M., T. A. de Jong, T. H. van der Kwast, S. E. Overbeek, A. F. Wierenga-Wolf, T. Thepen, and H. C. Hoogsteden. 1996. Immunolocalization of interleukin-4 in eosinophils in the bronchial mucosa of atopic asthmatics. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 14:439-443.
 116. Ando, M., E. Miyazaki, T. Fukami, T. Kumamoto, and T. Tsuda. 1999. Interleukin-4-producing cells in idiopathic pulmonary fibrosis: an immunohistochemical study. *Respirology.* 4:383-391.
 117. Buttner, C., A. Skupin, T. Reimann, E. P. Rieber, G. Unteregger, P. Geyer, and K. H. Frank. 1997. Local production of interleukin-4 during radiation-induced pneumonitis and pulmonary fibrosis in rats: macrophages as a prominent source of interleukin-4. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 17:315-325.

-
118. Chen, Y. T., F. L. Chen, and J. T. Kung. 1999. Age-Associated Rapid and Stat6-Independent IL-4 Production by NK1-CD4+8- Thymus T Lymphocytes. *J.Immunol.* 163:4747-4753.
119. Burd, P. R., W. C. Thompson, E. E. Max, and F. C. Mills. 1995. Activated mast cells produce interleukin 13. *J.Exp.Med.* 181:1373-1380.
120. Corry, D. B. 1999. IL-13 in allergy: home at last. *Current Opinion in Immunology* 11:610-614.
121. Schmid-Grendelmeier, P., F. Altnauer, B. Fischer, C. Bizer, A. Straumann, G. Menz, K. Blaser, B. Wuthrich, and H. U. Simon. 2002. Eosinophils Express Functional IL-13 in Eosinophilic Inflammatory Diseases. *J.Immunol.* 169:1021-1027.
122. Li, H., T. C. Sim, and R. Alam. 1996. IL-13 released by and localized in human basophils. *J.Immunol.* 156:4833-4838.
123. Matsukawa, A., C. M. Hogaboam, N. W. Lukacs, P. M. Lincoln, H. L. Evanoff, R. M. Strieter, and S. L. Kunkel. 2000. Expression and Contribution of Endogenous IL-13 in an Experimental Model of Sepsis. *J.Immunol.*164:2738-2744.
124. van der Velden, V., B. A. Naber, A. F. Wierenga-Wolf, R. Debets, H. F. Savelkoul, S. E. Overbeek, H. C. Hoogsteden, and M. A. Versnel. 1998. Interleukin 4 receptors on human bronchial epithelial cells. An in vivo and in vitro analysis of expression and function. *Cytokine* 10:803-813.
125. Takeda, K., T. Kishimoto, and S. Akira. 1997. STAT6: its role in interleukin 4-mediated biological functions. *J.Mol.Med.* 75:317-326.

-
126. Sherman, M. A., D. R. Powell, and M. A. Brown. 2002. IL-4 induces the proteolytic processing of mast cell STAT6. *J.Immunol.* 169:3811-3818.
127. Sherman, M. A. 2001. The role of STAT6 in mast cell IL-4 production. *Immunol.Rev.* 179:48-56.
128. Mullings, R. E., S. J. Wilson, S. M. Puddicombe, J. L. Lordan, F. Bucchieri, R. Djukanovic, P. H. Howarth, S. Harper, S. T. Holgate, and D. E. Davies. 2001. Signal transducer and activator of transcription 6 (STAT-6) expression and function in asthmatic bronchial epithelium. *J.Allergy Clin.Immunol.* 108:832-838.
129. Madden, K. B., L. Whitman, C. Sullivan, W. C. Gause, J. F. Urban, Jr., I. M. Katona, F. D. Finkelman, and T. Shea-Donohue. 2002. Role of STAT6 and mast cells in IL-4- and IL-13-induced alterations in murine intestinal epithelial cell function. *J.Immunol.* 169:4417-4422.
130. Wei, L. H., A. T. Jacobs, S. M. Morris, Jr., and L. J. Ignarro. 2000. IL-4 and IL-13 upregulate arginase I expression by cAMP and JAK/STAT6 pathways in vascular smooth muscle cells. *Am.J.Physiol.Cell Physiol.* 279:C248-C256.
131. Kuperman, D. A., X. Huang, L. L. Koth, G. H. Chang, G. M. Dolganov, Z. Zhu, J. A. Elias, D. Sheppard, and D. J. Erle. 2002. Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperreactivity and mucus overproduction in asthma. *Nat.Med.* 8:885-889.
132. Khew-Goodall, Y., C. Wadham, B. N. Stein, J. R. Gamble, and M. A. Vadas. 1999. Stat6 activation is essential for interleukin-4 induction of P-selectin

- transcription in human umbilical vein endothelial cells. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 19:1421-1429.
133. de la Vega, Jr., J. C. Vilaplana, A. Biro, L. Hammond, G. F. Bottazzo, and R. Mirakian. 1998. IL-10 expression in thyroid glands: protective or harmful role against thyroid autoimmunity? *Clin.Exp.Immunol.* 113:126-135.
134. Autschbach, F., J. Braunstein, B. Helmke, I. Zuna, G. Schurmann, Z. I. Niemir, R. Wallich, H. F. Otto, and S. C. Meuer. 1998. In situ expression of interleukin-10 in noninflamed human gut and in inflammatory bowel disease. *Am.J.Pathol.* 153:121-130.
135. Chandler, S. W., C. H. Rassekh, S. M. Rodman, and B. S. Ducatman. 2002. Immunohistochemical localization of interleukin-10 in human oral and pharyngeal carcinomas. *Laryngoscope* 112:808-815.
136. Ledebøer, A., J. J. Breve, A. Wierinckx, J. S. van der, A. F. Bristow, J. E. Leysen, F. J. Tilders, and A. M. Van Dam. 2002. Expression and regulation of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in rat astroglial and microglial cells. *Eur.J.Neurosci.* 16:1175-1185.
137. Hulshof, S., L. Montagne, C. J. De Groot, and D. Van, V. 2002. Cellular localization and expression patterns of interleukin-10, interleukin-4, and their receptors in multiple sclerosis lesions. *Glia* 38:24-35.
138. Carson, W. E., M. J. Lindemann, R. Baiocchi, M. Linett, J. C. Tan, C. C. Chou, S. Narula, and M. A. Caligiuri. 1995. The functional characterization of interleukin-10 receptor expression on human natural killer cells. *Blood* 85:3577-3585.

-
139. Denning, T. L., N. A. Campbell, F. Song, R. P. Garofalo, G. R. Klimpel, V. E. Reyes, and P. B. Ernst. 2000. Expression of IL-10 receptors on epithelial cells from the murine small and large intestine. *Int.Immunol.* 12:133-139.
140. Roth, I. and S. J. Fisher. 1999. IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytotrophoblast MMP-9 production and invasion. *Dev.Biol.* 205:194-204.
141. Bourreille, A., J. P. Segain, d. I. B. Raingeard, S. Siavoshian, G. Vallette, J. P. Galmiche, and H. M. Blottiere. 1999. Lack of interleukin 10 regulation of antigen presentation-associated molecules expressed on colonic epithelial cells. *Eur.J.Clin.Invest.* 29:48-55.
142. Lee, M. S., R. Mueller, L. S. Wicker, L. B. Peterson, and N. Sarvetnick. 1996. IL-10 is necessary and sufficient for autoimmune diabetes in conjunction with NOD MHC homozygosity. *J.Exp.Med.* 183:2663-2668.
143. Moritani, M., K. Yoshimoto, F. Tashiro, C. Hashimoto, J. Miyazaki, S. Ii, E. Kudo, H. Iwahana, Y. Hayashi and T. Sano. 1994. Transgenic expression of IL-10 in pancreatic islet A cells accelerates autoimmune insulinitis and diabetes in non-obese diabetic mice. *Int.Immunol.* 6:1927-1936.
144. Ermert, L., M. Ermert, M. Merkle, M. Goppelt-Struebe, H.-R. Duncker, F. Grimminger, and W. Seeger. 2000. Rat pulmonary cyclooxygenase-2 expression in response to endotoxin challenge: differential regulation in the various types of cells in the lung. *Am.J.Pathol.* 156:1275-1287.

-
145. Ermert, M., C. Ruppert, A. Gunther, H.-R. Duncker, W. Seeger, and L. Ermert. 2002. Cell-specific nitric oxide synthase-isoenzyme expression and regulation in response to endotoxin in intact rat lungs. *Lab.Invest.* 82:425-441.
146. Fanslow, W. C., K. Clifford, T. VandenBos, A. Teel, R. J. Armitage, and M. P. Beckmann. 1990. A soluble form of the interleukin 4 receptor in biological fluids. *Cytokine* 2:398-401.
147. Zhang, J. G., D. J. Hilton, T. A. Willson, C. McFarlane, B. A. Roberts, R. L. Moritz, R. J. Simpson, W. S. Alexander, D. Metcalf, and N. A. Nicola. 1997. Identification, purification, and characterization of a soluble interleukin (IL)-13-binding protein. Evidence that it is distinct from the cloned IL-13 receptor and IL-4 receptor alpha-chains. *J.Biol.Chem.* 272:9474-9480.
148. Merkle, M. 2003. Untersuchungen zur Endotoxin-vermittelten Regulation der Zyklooxygenase-2 im Modell der isolierten Rattenlunge. Justus-Liebig-Universität Gießen. Dissertation.
149. Jung, T., K. Wagner, C. Neumann, and C. H. Heusser. 1999. Enhancement of human IL-4 activity by soluble IL-4 receptors in vitro. *Eur.J.Immunol.* 29:864-871.
150. Ward, P. A. and A. B. Lentsch. 2002. Endogenous regulation of the acute inflammatory response. *Mol.Cell.Biochem.* 234-235:225-228.
151. Bennett, B. L., R. Cruz, R. G. Lacson, and A. M. Manning. 1997. Interleukin-4 suppression of tumor necrosis factor alpha-stimulated E-selectin gene transcription is mediated by STAT6 antagonism of NF-kappaB. *J.Biol.Chem.* 272:10212-10219.

-
152. Lugli, S. M., N. Feng, M. H. Heim, M. Adam, B. Schnyder, H. Etter, M. Yamage, H. P. Eugster, R. A. Lutz, G. Zurawski, and R. Moser. 1997. Tumor necrosis factor alpha enhances the expression of the interleukin (IL)-4 receptor alpha-chain on endothelial cells increasing IL-4 or IL-13-induced Stat6 activation. *J.Biol.Chem.* 272:5487-5494.
153. Monton, C. and A. Torres. 1998. Lung inflammatory response in pneumonia. *Monaldi Arch.Chest Dis.* 53:56-63.
154. Ermert, L., A. C. Hocke, H.-R. Duncker, W. Seeger, and M. Ermert. 2001. Comparison of different detection methods in quantitative microdensitometry. *Am.J.Pathol.* 158:407-417.

9 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A(a)	Arteria(e)
Abb	Abbildung
Ak	Antikörper
AM	Alveolarmakrophagen
AP	Alkalische Phosphatase
ARDS	adult respiratory distress syndrome
BAL	broncho-alveoläre Lavage
BALT	bronchus associated lymphoid tissue
BE	Bronchialepithel
Bm	Bronchialmuskulatur
CD	cluster of differentiation
Cox	Cyclooxygenase
f.Os.	funktionelles Organsystem
g	Gramm
γ c-chain	common γ-chain
h	Stunde(n)
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IL-1Ra	Interleukin-1Rezeptorantagonist
IL-10R	Interleukin-10Rezeptor
IFN	Interferon
JAK	Janus-Kinasen Familie
kDa	kilo Dalton
KHP	Krebs-Henseleit-Puffer
LBP	LPS-binding-protein
LPS	Lipopolysaccharid, Endotoxin
n.d.	nicht detektierbar (Struktur nicht vorhanden)
n.f.	nicht färbbar (methodisch bedingt)
M	molar
min	Minute(n)
mRNA	messengerRNA (Ribonukleinsäure)
MHC	major histocompatibility complex
NF κ B	nuclear factor kappa B

NK-Zellen	N atürliche K illerzellen
NO	Stickstoffmonoxid
NRL	n ormale R attenlungen
PALS	p eriarterielle lymphatische S cheide
PBS	p hosphate b uffered s aline
PMN	p olymorphonuclear n eutrophils
sCD14	s oluble CD 14
STAT	s ignal t ransducer and a ctivator of t ranscription
Tab	T abelle
Th	T - H elfer
TLR	T oll like receptors
TMB	3,3',5,5' t etramethyl b enzidine dihydrochloride
tmG	t eilmuskularisierte G efäße
TNF	t umor n ecrosis f actor
V(v)	V ena(e)
z.B.	zum B eispiel

10 NACHWORT

Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Leander Ermert und Frau Dr. Monika Ermert. Sie haben es verstanden, durch enge wissenschaftliche Betreuung und viele kritische Diskussionen meinen motivierten Geist in rechte Bahnen zu lenken. Durch ihr unermüdliches Interesse an wissenschaftlicher Arbeit gaben sie mir die Gelegenheit, viele meiner Gedanken in ihrer Arbeitsgruppe zu erproben und zum Erfolg zu führen. Sie festigten mein Interesse für die Forschung und lehrten mich die Grundlagen guter wissenschaftlicher Praxis.

Ich bedanke mich bei Gisela Müller, die mir mit ihrer geduldigen Art über die Jahre nicht nur das Pipettieren lehrte, sondern mir mittels ihrer sozialen Kompetenz viele gute Impulse mit auf meinen Berufsweg gab.

Ein herzlicher Dank sei für die Unterstützung bei der Sammlung der humanen Präparate an Herrn Prof. Dr. A. Schulz, Leiter des Instituts für Pathologie an der JLU-Gießen, ausgesprochen.

Ich möchte Herrn André Althoff für die hervorragende Versuchsdurchführung und Vorbereitung der isoliert perfundierten Lungen, zugunsten der histologischen Aufarbeitung, danken.

Vielen Dank möchte ich meinen lieben Kommilitonen Simone Därr und Eckehard Frisch aussprechen. Ohne einen starken freundschaftlichen Zusammenhalt wären manche schweren Wege wohl nie beschritten worden.

Ich danke meinem Freund Stefan Hippenstiel für sein exzellentes wissenschaftliches „mentoring“. Durch ihn erlangte ich neue Ansätze biologischen und medizinischen Denkens. Dies förderte meine Motivation zur Fertigstellung dieser Arbeit enorm.

Meiner lieben Partnerin Manuela spreche ich großen Dank aus, nicht nur für die kompetente orthographische Korrektur, sondern vor allem für ihre einfühlsame und motivierende Art, mit welcher sie mich stets unterstützt.

Meinen ganz besonderen Dank richte ich an meine Eltern. Durch ihren Glauben an mich und ihre Motivation mich unablässig zu unterstützen, haben sie mir den Weg zu dieser Laufbahn und diesem Leben geebnet.

11 LEBENS LAUF

Angaben zur Person

Name	Andreas Christian Hocke
Geburtsdatum	13.04.1972
Geburtsort	Bad Hersfeld
Familienstand	ledig

Schul Ausbildung

1979-1983	Grundschule in der Steiglederschule Friedewald
1983-1989	Gymnasium der Gesamtschule Obersberg Bad Hersfeld
1989-1992	Gymnasium der Modellschule Obersberg Bad Hersfeld
Abschluss	Allgemeine Hochschulreife

Staatsdienst

1992-1994	Zivildienst im Rettungsdienst des DRK – Bad Hersfeld
Abschluss	Prüfung zum Rettungssanitäter

Studium

1994-2000	Studium der Humanmedizin an der JLU-Gießen
Abschluss	Drittes Staatsexamen 11/00

Facharztausbildung

02/01-07/02	AiP an der Charité, Humboldt Universität zu Berlin, Medizinische Klinik m.S. Infektiologie (Leitung Prof. Dr. N. Suttorp)
08/02-	Assistenzarzt/Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Charité, Universitäts-Medizin Berlin, Medizinische Klinik m.S. Infektiologie (Leitung Prof. Dr. N. Suttorp)

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
GLEIBERGER WEG 4
D-35435 WETTENBERG

Tel: +49-(0)6406-4413 Fax: -72757
Email: vvb-ips@t-online.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-89687-497-7



9 7 8 3 8 9 6 8 7 4 9 7 9