Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Aufbau und Struktur des Hodens 1

1.2 Sertoli-Zellen 3

1.3 Die Sertoli-Zell-Barriere 3

1.4 Testikuläre Makrophagen 4

1.5 Modelle für Kokultur testikulärer Zellen *in vitro* 6

1.6 Zusammenhang zwischen Sertoli-Zell-Barriere und Infertilität 7

2 Ziele dieser Arbeit 10

3 Material/Methode 11

3.1 Materialien und Geräte 11

3.2 Methoden 14

3.2.1 Zellkultur 14

3.2.1.1 Auftauen und Einfrieren der immortalisierten Zelllinien 14

3.2.1.2 Passagierung der Sertoli-Zelllinien AR-17 SC7 und SCIT-C8 14

3.2.1.3 Passagierung der Monozyten-Zelllinie THP-1 15

3.2.1.4 Bestimmung der Zellzahl und Vitalität 15

3.2.2 Immunfluoreszenz zur Charakterisierung der Sertoli- und THP-1-Zellen 15

3.2.3 Vorbereitung der Sertoli-Zellen auf die Experimente zur Sertoli-Zell-Barriere 16

3.2.4 Messung des TERs an stimulierten Sertoli-Zellen 16

3.2.5 Diffusionsassays an stimulierten Sertoli-Zellen 18

3.2.6 Differenzierung der THP-1 Monozyten zu M0-Makrophagen 18

3.2.7 Polarisierung der M0-Makrophagen 19

3.2.8 Bestimmung der Sekretion von TNF-α und IL-10 der polarisierten Makrophagen 19

3.2.9 Transmigrationsassay 20

4 Ergebnisse 22

4.1 Evaluierung des *in vitro* Modells der Sertoli-Zell-Barriere 22

4.1.1 Expression von Claudin-11 und Zonula occludens-1 in Sertoli-Zellen 22

4.1.2 Optimierung der Kulturbedingungen 23

4.1.2.1 Auswirkung von Retinolsäure auf die Barriere 23

4.1.2.2 Auswirkung von Testosteron auf die Barriere 24

4.1.2.3 Effekt des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitors GM6001 auf die Barriere 26

4.1.2.4 Effekt des MEK-Inhibitors UO126 auf die Barriere 27

4.1.2.5 Effekt des PI3K-Inhibitors LY294002 auf die Barriere 28

4.1.2.6 Effekt des Smad3-Inhibitors SIS3 auf die Barriere 29

4.1.2.7 Effekt des MMP-Inhibitors TIMP3 auf die Barriere 30

4.1.2.8 Zusammenfassung 31

4.2 Etablierung eines Modells zur Untersuchung der immunologischen Blut-Hoden-Barriere *in vitro* 32

4.2.1 Etablierung des Makrophagen-Modells 32

4.2.1.1 Sekretion von TNF-α und IL-10 durch stimulierte Makrophagen 32

4.2.1.2 Expression von CD64 auf polarisierten Makrophagen 35

4.2.1.3 Expression von CD163 auf polarisierten Makrophagen 36

4.2.1.4 Expression von STAT6 und pSTAT6 in polarisierten Makrophagen 37

4.2.3 Transmigration von Makrophagen durch einen Sertoli-Zell-Monolayer 39

5 Diskussion 40

5.1 Stimulation der Sertoli-Zellen zur Ausbildung einer dichteren Barriere 41

5.1.1 Vergleich der Zelllinien 93RS2, AR-17 SC7 und SCIT-C8 41

5.1.2 Wirkung von Testosteron auf die Ausbildung der Sertoli-Zell-Barriere 41

5.1.3 Wirkung von Retinolsäure auf die Sertoli-Zell-Barriere 43

5.1.4 Einfluss der MMP-Inhibition auf die Sertoli-Zell-Barriere 43

5.1.5 Beteiligung des MEK-ERK-Signalweges an der Ausbildung der Sertoli-Zell-Barriere 45

5.1.6 Einfluss des PI3K-Akt-Signalweges auf die Sertoli-Zell-Barriere 46

5.1.7 Beeinflussen Zytokine der TGF-β-Familie die Ausbildung der Sertoli-Zell-Barriere? 47

5.2 Stimulierte THP-1 Monozyten als Modell für polarisierte Makrophagen 48

5.2.1 Differenzierung der THP-1-Monozyten zu Makrophagen und Einfluss der PMA-Konzentration 48

5.2.2 Polarisierung der M0 mittels Lipopolysaccharid und Interferon-γ 48

5.2.3 Polarisierung der M0 mittels Interleukin 4 und Interleukin 13 49

5.2.4 Eignung der THP-1-Monozyten als Makrophagenmodell 50

5.3 Modelle zur Untersuchung der immunologischen Barriere im Hoden 51

Zusammenfassung 53

Summary 55

Abkürzungsverzeichnis 56

Literaturverzeichnis 58

Ehrenwörtliche Erklärung 73

Danksagung 74