

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	1
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	5
TABELLENVERZEICHNIS	7
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1 EINFÜHRUNG.....	10
1.1 Zielsetzung der Arbeit.....	10
2 EINLEITUNG	11
2.1 Epidemiologie und Bedeutung der TRALI.....	11
2.2 Befunde	11
2.2.1 Klinische Befunde	11
2.2.2 Radiologische Befunde.....	13
2.2.3 Histologische Befunde	14
2.3 Mechanismen der Lungenschädigung bei TRALI.....	15
2.3.1 Priming und Aktivierung der Neutrophilen.....	15
2.3.2 Pathophysiologie der Granulozytenpassage durch das Lungenkapillarbett.....	16
2.3.3 Aktivierung der pulmonalen Endothelzellen	18
2.3.4 Zusammenspiel von Endothelzellen und Neutrophilen	18
2.4 TRALI-Mechanismen	19
2.4.1 TRALI durch leukozytäre Antikörper (immunogene TRALI)....	20
2.4.2 HNA-Antikörper vermittelte TRALI	20
2.4.3 HLA Klasse I-Antikörper vermittelte TRALI	21
2.4.4 Rolle der HLA Klasse II-Antikörper in TRALI	23
2.4.5 TRALI durch andere Auslöser (nicht immunogene TRALI).....	24

2.4.5.1 <i>Bioaktive Lipide</i>	24
2.4.5.2 <i>CD40-Ligand</i>	25
2.4.5.3 <i>Immunkomplexe</i>	26
2.5 Hinweise auf eine antikörperbezogene Ätiologie	26
2.6 Schwellenmodell.....	28
3 MATERIAL UND METHODEN.....	31
3.1 Material	31
3.1.1 <i>Antikörper</i>	31
3.1.2 <i>Zellkulturmödium</i>	31
3.1.3 <i>Lösungen und Puffer</i>	32
3.1.4 <i>Chemikalien und Reagenzien</i>	33
3.1.5 <i>Vorgefertigte Systeme (Kits)</i>	36
3.1.6 <i>Verbrauchsmaterialien</i>	36
3.1.7 <i>Geräte und Instrumente</i>	39
3.2 Methoden.....	43
A IN VITRO-VERFAHREN	43
3.2.1 <i>Probensammlung und Probenaufbereitung</i>	43
3.2.1.1 <i>Isolierung von Granulozyten aus EDTA-Blut</i>	43
3.2.1.2 <i>Isolierung von Monozyten aus EDTA-Blut.....</i>	44
3.2.1.3 <i>Herstellung von Monozytenüberständen</i>	45
3.2.1.4 <i>Kultivierung von Nabelschnurzellen</i>	46
3.3 Funktionelle Untersuchungen	47
3.3.1 <i>ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)</i>	47
3.3.1.1 <i>Beschreibung und Versuchsablauf der GRO alpha,- Interleukin 8,-TNFalpha,- und Leukotrien B4-Analytik mittels ELISA:.....</i>	47
3.4 Durchflusszytometrische Untersuchungen	48

3.4.1	Bursttest.....	48
3.5	Zellspezifische Untersuchungen.....	49
3.5.1	Permeabilitätstest	49
B	TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN.....	51
3.6	Ex vivo-Rattenlungenmodell.....	51
4	ERGEBNISSE	59
4.1	Aufklärung der Zytokin- und LTB4-Produktion von Monozyten.....	59
4.1.1	Funktionelle Untersuchungen	59
4.1.1.1	GRO alpha Produktion der Monozyten nach Antikörpersimulation.....	60
4.1.1.2	Interleukin 8 Produktion der Monozyten nach Antikörperstimulation.....	61
4.1.1.3	TNF alpha Produktion der Monozyten nach Antikörpersimulation.....	61
4.1.1.4	Leukotrine B4 Produktion der Monozyten nach Antikörperstimulation.....	62
4.2	Untersuchung der Sauerstoffradikalbildung von neutrophilen Granulozyten durch Monozytenüberstand	62
4.2.1	Durchfluszytometrische Untersuchungen.....	62
4.2.1.1	Bursttest.....	62
4.3	Untersuchungen des Einflusses von Monozytenüberständen und neutrophilen Granulozyten auf Endothelzellen	64
4.3.1	Zellspezifische Untersuchungen	64
4.3.2	Permeabilitätstest	64
4.4	Aufklärung des Einflusses von Neutrophilen, Monozyten, Lungenendothelzellen und HLA Klasse II-Antikörper bei der Entstehung einer TRALI und deren Zusammenspiel in diesem Pathomechanismus	66

4.4.1 Tierexperimentelle Untersuchungen	66
4.4.1.1 Ex vivo-Rattenlungenmodell mit positivem und negativem Monozytenüberstand mit und ohne LPS-Vorstimulation.	66
4.4.1.2 Ex vivo-Rattenlungenmodell mit Granulozyten, Monozyten und HLA Klassse II-Antikörper mit LPS-Vorstimulation ..	68
5 DISKUSSION	70
6 ZUSAMMENFASSUNG	77
7 SUMMARY	78
8 LITERATURVERZEICHNIS	79
9 DANKSAGUNG	93
10 ANHANG	95
10.1 Histologische Untersuchung	95
10.1.1 Ergebnisse der histologischen Untersuchung.....	95
10.2 Zytokinproduktion nach der Zugabe von adsorbiertem Plasma im ELISA-Testverfahren.....	97
10.2.1 Ergebnisse des ELISA-Testverfahrens	97
10.3 Liste der Vorabveröffentlichungen aus dieser Dissertationsschrift	98
EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	99