

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung.....	1
I.1 Physiologie und Morphologie der Thrombozyten.....	1
I.2 Thrombozyten in der Hämostase.....	3
I.3 Bedeutung der Thrombozyten in der Inflammation, Infektion und Tumormetastasierung.....	8
I.3.1 Thrombozyten in der Inflammation und Tumormetastasierung.....	9
I.3.2 Thrombozyten in der Infektion.....	11
I.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
I.4.1 Entstehung einer infektiösen Endokarditis durch <i>S. aureus</i>	17
I.4.2 Bakterielle Persistenzmechanismen.....	19
I.5 Extracellular adherence protein (Eap).....	21
I.5.1 Molekulare Struktur von Eap.....	22
I.5.2 Interaktionen von Eap mit den Wirtsstrukturen und mit der Oberfläche von <i>S. aureus</i>	22
I.5.3 Eap als entzündungs- und immunmodulierender Faktor.....	25
I.5.4 Eap interferiert mit Metastasevorgängen und Wundheilungs- mechanismen.....	27
I.6 Fragestellung und Ziele dieser Arbeit.....	32
II. Material und Methoden.....	35
II.1 Geräte.....	35
II.2 Chemikalien.....	36
II.2.1 Verwendete Antikörper.....	36
II.3 Präparation der Thrombozyten.....	37
II.3.1 Plättchenisolierung durch Zentrifugation.....	37
II.3.2 Bestimmung der Thrombozytenzahl/ μ l Blut.....	38
II.3.3 Separation der Thrombozyten von Plasmaproteinen mit Hilfe der Gelfiltration.....	38
II.3.4 Herstellung von plättchenarmem Plasma (platelet poor plasma (PPP))	39
II.4 Aktivierung der Thrombozyten <i>in vitro</i>	39
II.4.1 Eap.....	39
II.4.2 Thrombin.....	40
II.4.3 ADP.....	41
II.4.4 Kollagen.....	42

II.5 Durchflusszytometrie.....	42
II.5.1 Optische Technik und Signaldetektion.....	42
II.5.2 Signalverarbeitung und Signalanalyse.....	45
II.6 Detektion der Plättchenaktivierung.....	46
II.6.1 Fibrinogenbindung.....	46
II.6.1.a Markierung von Fibrinogen, FVIIa, FVIII und FXIII mit Fluoresceinisothiocyanat.....	47
II.6.2 Aggregometrie.....	49
II.6.3 Sekretion der α -Granula.....	50
II.6.4 Expression von CD63.....	51
II.6.5 Eap-induzierte Freisetzung von Mepacrin aus den Thrombozyten.....	51
II.6.6 Expression von CD154 (CD40 Ligand, CD40L).....	52
II.6.7 Prokoagulanter Zustand.....	52
II.6.7.a Nachweis der prokoagulanten Thrombozytenoberfläche durch Bindung von Annexin-V-FITC.....	53
II.6.7.b Nachweis der prokoagulanten Thrombozytenoberfläche durch Bindung von FVIIa-FITC.....	53
II.6.7.c Nachweis der prokoagulanten Thrombozytenoberfläche durch Bindung von FVIII-FITC.....	54
II.6.7.d Nachweis der prokoagulanten Thrombozytenoberfläche durch Bindung von FXIII-FITC.....	54
II.6.8 Mikropartikelbildung.....	54
II.7 Einfluss von Antikoagulanzen auf die Eap-induzierte Thrombozytenaktivierung.....	55
II.7.1 Komplexbildner.....	55
II.7.2 Hirudin.....	56
II.7.3 Melagatran.....	56
II.7.4 Heparine.....	57
II.8 Einfluss von thiolreaktiven Substanzen auf die Eap-induzierte Thrombozytenaktivierung.....	58
II.8.1 pCMPS und DTNB.....	58
II.8.2 Glutathion.....	59
II.8.3 Gliotoxin.....	60
II.8.4 Phenylarsinoxid.....	60
II.8.5 Bacitracin.....	61
II.9 Statistische Auswertung aller experimentellen Daten.....	61

III. Ergebnisse	62
III.1 Untersuchungen zum Einfluss von Eap auf Thrombozyten	62
III.1.1 Eap-induzierte Fibrinogenbindung an humane Thrombozyten	62
III.1.2 Vergleich der Bindung von Fibrinogen an humane Thrombozyten induziert durch Eap, Thrombin, ADP und Kollagen	64
III.1.3 Aggregometrie	67
III.1.4 Eap-induzierte Sekretion der α -Granula aus humanen Thrombozyten	69
III.1.5 Eap induzierte Sekretion der „dense bodies“ aus humanen Thrombozyten	69
III.1.6 Eap-induzierte Freisetzung von Mepacrin aus humanen Thrombozyten	70
III.1.7 Eap-induzierte Expression von CD40 Ligand auf der Oberfläche humaner Thrombozyten	71
III.1.8 Eap-induzierte prokoagulante Aktivität humaner Thrombozyten	72
III.1.9 Mikropartikelbildung	73
III.2 Einfluss von Antikoagulanzen auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	74
III.3 Einfluss von thiolreaktiven Substanzen auf die Eap-induzierte Aktivierung humaner Thrombozyten	77
III.3.1 Einfluss von DTNB und pCMPS auf die Eap-induzierte Aktivierung humaner Thrombozyten	77
III.3.1.a Einfluss von DTNB auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	77
III.3.1.b Einfluss von DTNB auf die Eap-induzierte Bindung von anti-CD62P-FITC an humane Thrombozyten	78
III.3.1.c Einfluss von pCMPS auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	79
III.3.1.d Einfluss von pCMPS auf die Eap-induzierte Bindung von anti-CD62P-FITC an humane Thrombozyten	80
III.3.2 Einfluss von GSH auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	81
III.3.3 Einfluss von Gliotoxin auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	82
III.3.4 Einfluss von PAO auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	83
III.3.5 Einfluss von Bacitracin auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten	84

III.4 Vergleich der Agonist-induzierten Bindung von Fibrinogen-FITC an Thrombozyten des Menschen und anderer Säuger.....	85
III.4.1 Agonist-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an Thrombozyten der Ratte	88
III.4.2 Agonist-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an equine Thrombozyten.....	89
III.4.3 Agonist-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an bovine Thrombozyten.....	91
III.4.4 Agonist-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an Thrombozyten des Hundes.....	92
IV. Diskussion.....	94
IV.1 Einfluss von Eap auf humane Thrombozyten.....	94
IV.1.1 Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen an humane Thrombozyten.....	94
IV.1.2 Sekretion der α -Granula induziert durch Eap.....	97
IV.1.3 Sekretion der „dense bodies“ induziert durch Eap.....	99
IV.1.4 Eap-induzierte Expression von CD40L auf der Oberfläche humaner Thrombozyten	101
IV.1.5 Eap induziert eine prokoagulante Oberfläche auf humanen Thrombozyten.....	102
IV.1.6 Einfluss verschiedener Antikoagulanzen auf die Eap-induzierte Bindung von Fibrinogen-FITC an humane Thrombozyten.....	105
IV.1.7 Einfluss thiolreaktiver Substanzen auf die Eap-induzierte Aktivierung humaner Thrombozyten.....	108
IV.2 Vergleich der Agonist-induzierten Aktivierung von Thrombozyten des Menschen und anderer Säuger.....	115
V. Ausblick.....	121
VI. Zusammenfassung.....	123
VII. Summary.....	127
VIII. Abkürzungsverzeichnis.....	131
IX. Literaturverzeichnis.....	136

X. Anhang.....	155
X.1 Publikationen.....	155
X.1.1 Veröffentlichte Abstracts.....	155
X.1.2 Manuskript in Bearbeitung.....	155
X.2 Danksagung.....	156
X.3 Erklärung.....	157