

**Veränderung von Lymphozytensubsets nach intraportaler
Inselzelltransplantation und Induktionsimmunsuppression
mit polyklonalen Antilymphozytenseren**

Inauguraldissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Medizin des Fachbereiches Medizin der Justus-Liebig-
Universität Gießen

Vorgelegt von Gunther Döring
aus Fulda

Gießen 2005

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin

Medizinische Klinik III und Poliklinik

Direktor: Prof. R.G. Bretzel

des Universitätsklinikums Gießen

Gutachter: Prof. Dr. R.G. Bretzel

Gutachter: Prof. Dr. G. Bein

Tag der Disputation: 14.2.2006

„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
1.1 Diabetes mellitus	1
1.2 Pankreastransplantation	3
1.3 Inselzelltransplantation	4
1.3.1 Experimentelle Inselzelltransplantation	5
1.3.2 Klinische Inselzelltransplantation	6
1.4 Polyklonale Antilymphozytenseren	7
1.4.1 Kurzfristige Wirkungen polyklonaler Antilymphozytenseren	10
1.4.2 Längerfristige Wirkungen polyklonaler Antilymphozytenseren	10
1.5 Durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets mit Hilfe monoklonaler Antikörper	10
1.5.1 Durchflusszytometrie	10
1.5.2 Monoklonale Antikörper in der Durchflusszytometrie	11
1.6 Immunologisches Monitoring bei Transplantation	12
1.6.1 Immunologisches Monitoring und Lymphozytensubsetbestimmungen	13
1.7 Ziele und Fragestellungen der vorliegenden Arbeit	15
2. Material und Methoden	15
2.1 Patientenkollektive	15
2.1.1 Inselzelltransplantierte Patienten	15
2.1.2 Nierentransplantierte Patienten	15
2.1.3 Gesunde Kontrollgruppe	16
2.1.4 Einverständniserklärung und Ethikkommission	16
2.1.5 Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren bei Inselzelltransplantation	17

2.2	Parameter der Transplantatfunktion	17
2.2.1	Inselzellfunktion	17
2.2.2	Insulinunabhängigkeit	17
2.2.3	Transplantatverlust	17
2.2.4	Zeitpunkt des Transplantatverlustes	17
2.3	Indikationen und Kontraindikationen der Inselzelltransplantation	18
2.3.1	Indikationen	18
2.3.2	Kontraindikationen	18
2.4	Empfängerbedingungen	18
2.4.1	Diabetesdauer	19
2.4.2	Insulinbedarf vor Transplantation	19
2.4.3	Histokompatibilität	19
2.4.4	Immunologische Parameter	20
2.5	Spenderkriterien	20
2.5.1	Transplantierte Inselmenge	20
2.5.1.1	Inselzelläquivalent	20
2.5.1.2	Inselzellvolumen	21
2.5.1.3	Inselzellzahl	21
2.5.1.4	Inselzellgröße	21
2.6	Organkriterien	21
2.6.1	Kalte Ischämiezeit	21
2.6.2	Inselviabilität	22
2.6.3	Inselstimulationsindex	22
2.7	Fluoreszenzmarkierung von Blutzellen mit monoklonalen Antikörpern	22
2.7.1	Materialien	22
2.7.1.1	Fluoreszenzfarbstoffe	23
2.7.1.2	Antikörperprotokoll	23
2.7.2	Probenarten	23
2.7.3	Probengewinnung	24

2.7.4	Probenverarbeitung	24
2.7.4.1	Inkubation der Blutprobe mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern	24
2.7.4.2	Lysierung der Erythrozyten	25
2.7.4.3	Waschen der Proben	25
2.8	Durchflusszytometrische Analyse	25
2.8.1	Materialien	25
2.8.2	Arbeitsschritte	25
2.9	Auswertung durchflusszytometrischer Daten	26
2.9.1	Dot-Plot-Darstellung	26
2.9.2	Gaten	26
2.9.3	Backgaten	26
2.9.4	Quadrants	27
2.9.5	Arbeitsschritte	27
2.9.5.1	Bestimmung der unspezifischen Bindung	27
2.9.5.2	Erfassen der Subsets über eine spezifische Fluoreszenz	27
2.9.5.3	Berechnung absoluter Zellzahlen	27
2.10	Statistische Auswertung	29
2.10.1	Deskriptive Statistik	29
2.10.2	Analytische Statistik	29
3.	Ergebnisse	30
3.1	Transplantatfunktion in der untersuchten Patientengruppe	30
3.2	Leukozyten und Lymphozytensubsets bei Inselzelltransplantierten	31
3.3	Lymphozytensubsets bei gesunder Kontrollgruppe	37
3.4	Lymphozytensubsets bei Nierentransplantierten	39

3.5	Ciclosporinblutspiegel bei Patienten im ersten Jahr nach Inselzelltransplantation	43
3.6	Vergleich der Patienten mit Inselzellfunktion gegen Patienten, die ihre Inselzellfunktion im Verlauf des ersten Jahres verloren haben	44
3.7	Vergleich der Inselzelltransplantierten mit gesunder Kontrollgruppe	51
3.8	Vergleich der Inselzelltransplantierten mit Nierentransplantierten	56
3.9	Vergleich von Leukozyten und Lymphozytensubsets bei Inselzelltransplantierten vor und nach Transplantation	61
3.10	Einfluss von Spender-, Empfänger- und Transplantateigenschaften auf das Transplantatüberleben	68
3.10.1	Histokompatibilität in HLA-A	68
3.10.2	Histokompatibilität in HLA-B	69
3.10.3	Histokompatibilität in HLA-DR	70
3.10.4	Histokompatibilität in HLA-A und HLA-B, und HLA-DR	70
3.10.5	Insulinverbrauch vor Transplantation	71
3.10.6	Body Mass Index	72
3.10.7	Inselstimulationsindex	72
3.10.8	Inselzellviabilität	72
3.10.9	Kalte Ischämiezeit	73
3.10.10	Inseläquivalent	73
3.10.11	Kombination Kalte Ischämiezeit < 8h und Inseläquivalent > 6000 IEQ	74
4.	Diskussion	75
4.1	Welche Veränderungen von Lymphozytensubsets treten nach Inselzelltransplantation und Induktionsimmunsuppression mit polyklonalen Antilymphozytenseren auf?	75
4.1.1	Kurzfristige Effekte	75
4.1.2	Längerfristige Effekte	76

4.2	Hat die Ausprägung bestimmter Spender-, Empfänger- und Transplantateigenschaften einen nachweislichen Einfluss auf das Inselzelltransplantatüberleben in der vorliegenden Patientengruppe?	82
4.3	Kann man durch die Bestimmung von Lymphozytensubsets und Inselzell-Autoantikörpern den immunologischen Einfluss auf das Inselzelltransplantatüberleben nachvollziehen?	85
4.3.1	Einfluss immunologischer Faktoren auf das Transplantatüberleben allogener Inselzelltransplantate	85
4.3.2	Antigenunabhängige Immunprozesse	85
4.3.3	Alloimmunität	87
4.3.4	Autoimmunität	93
4.4	Kann man durch durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets eine mögliche immunologische Abstoßung von Inselzelltransplantaten erkennen?	94
5.	Zusammenfassung	98
6.	Summary	100
7.	Literaturverzeichnis	101
8.	Abkürzungsverzeichnis	113
9.	Anhang	114
9.1	Lebenslauf	114
9.2	Danksagung	115

1 Einleitung

1.1 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus ist definiert als eine durch den Leitbefund einer chronischen Hyperglykämie charakterisierte Regulationsstörung des Stoffwechsels. Ursächlich ist entweder eine gestörte Insulinsekretion oder eine gestörte Insulinwirkung oder auch beides. Die Amerikanische Diabetes Gesellschaft (ADA) hat 1997 die Kriterien zur Diagnose des Diabetes mellitus revidiert und neue Empfehlungen zur Klassifikation herausgegeben, die im Jahr 2000 auch von der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) übernommen wurden (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1997; DEUTSCHE DIABETES GESELLSCHAFT, 2000).

In der neuen Klassifikation der ADA wird der Diabetes mellitus in Typ-1-Diabetes, Typ-2-Diabetes und andere spezifische Diabetestypen eingeteilt. Typ-1-Diabetes wird dabei definiert als immunologisch vermittelte oder idiopathische B-Zell-Zerstörung, die üblicherweise zum absoluten Insulinmangel führt. Typ-2-Diabetes kann sich von einer vorwiegenden Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis hin zu einem sekretorischen Defizit mit Insulinresistenz erstrecken. Den spezifischen Diabetestypen liegen eine Vielzahl von pathogenetischen Mechanismen zugrunde, unter anderem genetische Defekte von B-Zell-Funktion oder Insulinwirkung, Erkrankungen des exokrinen Pankreas, Endokrinopathien oder medikamenten- oder chemikalieninduzierte Prozesse. In dieser Klassifikation werden also die pathogenetischen Mechanismen zugrunde gelegt und nicht Behandlungsstrategien wie bei vorhergehenden Klassifikationen. Auf die Begriffe insulinabhängiger Diabetes mellitus (IDDM) und nicht insulinabhängiger Diabetes mellitus (NIDDM) wird ausdrücklich verzichtet.

Der Diabetes mellitus zählt schon seit langem zu den Volkskrankheiten. In der Tat beansprucht die Krankheit aufgrund ihrer hohen Begleit- und Folgemorbidität zwischen fünf und zehn Prozent aller Ausgaben in den Gesundheitssystemen der Industrieländer (RUBIN et al.). Zwischen verschiedenen Ländern bestehen dabei erhebliche Unterschiede in der Prävalenz und Therapie des Diabetes mellitus (HAUNER, 1998).

HAUNER wertete 1998 die wichtigsten deutschen Studien und Quellen zur Prävalenz und Inzidenz des Diabetes mellitus in Deutschland aus (Nationales Diabetesregister der DDR, Münchner Diabetes Früherkennung, Daten der AOK Dortmund, Region Württemberg Studie, Region Düsseldorf Eurodiab-ACE-Studie). Als Ergebnis seiner Auswertungen gibt er eine

Gesamtprävalenz des Diabetes mellitus im Jahre 1990 mit etwa 4.5 % der deutschen Bevölkerung, also mit etwa 3.5 bis 4 Millionen Personen, an. Die Gesamtprävalenz der insulinbehandelten Diabetiker beträgt ein Prozent der Bevölkerung, also etwa 800.000 Personen, mindestens 200.000 Menschen in Deutschland sind Typ-1-Diabetiker, die Prävalenz des Typ-1-Diabetes in Deutschland beträgt also 0.2 - 0.3 %. Erst im Alter über 40 Jahren kommt es zu einem raschen Anstieg der Prävalenz des Diabetes. Bei den über 60-Jährigen sind 20 Prozent betroffen. Die Prävalenz bei den unter 20-Jährigen liegt in Deutschland zwischen 0.01 und 0.07 %. Frauen erkranken häufiger an Diabetes mellitus. Das Geschlechterverhältnis der Gesamtprävalenz m/w liegt bei 1:1.85. In den USA wird die Prävalenz des Diabetes Typ 1 mit 0.3 - 0.4 % angegeben (FOSTER und UNGER, 1998).

Die Inzidenz des Diabetes mellitus ist bei den über 60-Jährigen mit etwa 1.200/100.000 Personenjahre am höchsten. In der Altersgruppe der Kinder von null bis 14 Jahre lag die Inzidenz Ende der 80er Jahre in Ostdeutschland bei 7.4/100.000 Personenjahre. Kinder und Jugendliche der gleichen Altersgruppe in westlichen Bundesländern wiesen eine deutlich höhere Neuerkrankungsrate auf (Baden-Württemberg 1987-1993: 11.6/100.000 Personenjahre, Nordrhein-Westfalen 1993/1994: 13.4/100.000 Personenjahre). Das Auftreten des Typ-1-Diabetes bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland nimmt weiter zu (MICHAELIS, 1994).

Die aus einem unbehandelten Typ-1-Diabetes resultierende Hyperglykämie kann als diabetische Spätkomplikationen eine Reihe klinischer Syndrome auslösen. Die DCCT-Multicenter Studie (THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATION TRIAL RESEARCH GROUP) konnte den Zusammenhang zwischen Qualität der Blutzuckereinstellung und Häufigkeit von Spätkomplikationen belegen.

Hierbei wurden 1.441 Typ-1-Diabetiker randomisiert nach der intensivierten Insulintherapie oder der konventionellen Insulintherapie behandelt. Die DCCT-Studie konnte dabei zeigen, dass mit der intensivierten Insulintherapie signifikant niedrigere HBA1c-Werte (7.0 %) erreicht werden konnten als im Vergleich zur konventionellen Therapie (8.9 %). Der Ausbruch von diabetischer Retinopathie, Neuropathie und Nephropathie wird verzögert und die Progression durch die intensivierte Diabetestherapie verlangsamt, was jedoch nicht für fortgeschrittene Organläsionen gilt. Eine Normalisierung des HBA1c (Normwert 6.1 %) konnte jedoch auch mit der intensivierten Diabetestherapie nicht erreicht werden, ebenso wenig konnte das Auftreten von Spätkomplikationen verhindert werden. Zusätzlich kam es unter intensivierter Insulintherapie zu einer Zunahme von Hypoglykämien um den Faktor drei

und zu einer Zunahme des Körpergewichts. Daraus wird geschlossen, dass auch die intensivierte Insulintherapie körpereigene endokrine Regulationsmechanismen nur unzureichend imitieren kann.

Die Inselzelltransplantation und die Pankreastransplantation sind die einzigen Behandlungsmöglichkeiten des Typ-1-Diabetes, die einen konstanten normoglykämischen Zustand und somit eine Verbesserung der Stoffwechseleinstellung im Vergleich zu den bekannten Insulinsubstitutionstherapien ermöglichen (BRETZEL et al., 1992; MOREL et al., 1991).

1.2 Pankreastransplantation

Seit 1966 werden Pankreastransplantationen beim Menschen durchgeführt. In den Jahren 1966-1979 wurden weltweit noch weniger als 20 Pankreastransplantationen pro Jahr vorgenommen. Vor 1979 lag das 1-Jahres-Patientenüberleben lediglich bei 39 %. Hauptursache hierfür waren postoperative Komplikationen, die häufigste Komplikation war die Thrombosierung der Pankreasgefäße, welche mehr als 20% der transplantierten Patienten betraf. Durch ständige Verbesserungen der technischen Aspekte der Pankreastransplantation konnte besonders im Zeitraum von 1979-1983 ein Anstieg des Patientenüberlebens auf 74 % erreicht werden (TYDEN und GROTH, 1986). Auch die Zahl der pro Jahr durchgeführten Pankreastransplantationen stieg in diesem Zeitraum an, 1983 wurden bereits 132 Pankreastransplantationen durchgeführt.

Die Einführung des Ciclosporins zur immunsuppressiven Behandlung in diesem Zeitraum hat besondere Bedeutung für die Verbesserung der Transplantationsergebnisse. So ergibt der Vergleich der immunsuppressiven Medikamente Azathioprin gegen Ciclosporin bei Pankreastransplantationen in den Jahren 1977-1984 nahezu eine Verdopplung des Transplantatüberlebens (26 % gegenüber 41 %) bei technisch erfolgreichen Pankreastransplantationen (SUTHERLAND und KENDALL, 1985).

Heute werden Pankreastransplantationen fast ausschließlich als simultane Nieren-Pankreas-Transplantation (SPK = Simultaneous Pancreas Kidney) oder als Niere-nach-Pankreas-Transplantation (PAK = Pancreas After Kidney) durchgeführt, wenn die Indikation zur Nierentransplantation besteht, schwerwiegende Probleme mit der Insulintherapie vorliegen und keine Kontraindikationen gegen den operativen Eingriff bestehen (BRETZEL, 1996; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1992).

Die so genannte PTA (Pancreas Transplantation Alone), bei der Pankreas alleine transplantiert wird, erfolgt nur bei nicht urämischen Patienten mit schwerwiegenden diabetischen Komplikationen, Therapieversagen oder schweren Stoffwechsellstörungen. Die Indikation unterliegt einer strengen multidisziplinären Überprüfung (BRETZEL, 1996).

Bis Oktober 2001 wurden weltweit mehr als 17.000 Pankreastransplantationen durchgeführt. Für die Patienten, die von 1997 bis Oktober 2001 in den USA transplantiert wurden, betrug das 1-Jahresüberleben bzw. das 1-Jahres-Transplantatüberleben bei SPK-Patienten (n = 3885) 95 % bzw. 83 %, bei den PAK-Patienten (n = 630) 95 % bzw. 79 %, bei den PTA-Patienten (n = 240) 97 % bzw. 78 %. Bei allen außerhalb der USA transplantierten Patienten (SPK, PAK und PTA; n = 1649) betrug das 1-Jahresüberleben in diesem Zeitraum 94 % (GRUESSNER und SUTHERLAND, 2001).

Bei guter Transplantatfunktion kann das Voranschreiten diabetischer Spätkomplikationen deutlich verlangsamt werden (SUTHERLAND, 1992; ROBERTSON et al., 2003). Durch das Wegfallen strenger Diätvorschriften und der mehrmals täglich durchzuführenden Blutzuckerkontrollen und Insulininjektionen sowie durch ein geringeres Hypoglykämierisiko kommt es nach der Transplantation zu einer deutlichen Verbesserung der Lebensqualität der Patienten im Vergleich zur konventionellen Insulinsubstitutionstherapie (LOESKE, 1990). Dem gegenüber stehen jedoch die Notwendigkeit einer lebenslangen Immunsuppression, das Operationsrisiko sowie potentielle postoperative Komplikationen. Heute sind die häufigsten postoperativen Komplikationen akute Transplantat-Pankreatitis, Thrombosierung der Pankreasgefäße, bakterielle Infektionen, Blutungen und die Entstehung von Pankreasfisteln (BRETZEL und FEDERLIN, 1987).

1.3 Inselzelltransplantation

Mit der Entwicklung der Inselzelltransplantation wurden Hoffnungen verbunden, den Nutzen der Pankreastransplantation ohne die möglichen Komplikationen und Risiken einer Gesamtorgantransplantation zu erhalten. Die intraportale Inselzelltransplantation stellt einen kleinen und risikoarmen Eingriff dar, der prinzipiell wiederholt werden kann. Etwaige Transplantatabstoßungen haben keine schwerwiegende Wirkung auf den Empfänger, des Weiteren eröffnet die Inselzelltransplantation die Möglichkeit in vitro die Immunogenität und Antigenität der Inseln zu verändern, eine Verkapselung der Inseln durchzuführen und sie an immunologisch bevorzugte Orte zu transplantieren. So könnte man in Zukunft das Transplantat vor immunologischen Angriffen des Empfängers schützen bzw. eine

Immuntoleranz herstellen, die nur eine kurzzeitige immunsuppressive Behandlung bzw. den Wegfall dieser Behandlung ermöglicht, wie dies im Tierversuch bereits gezeigt wurde. Eine Kryopreservation der Inselzellen und spätere Transplantation ist möglich. Die Möglichkeit, in der Zukunft möglicherweise Inselzellen von Tieren zu verwenden, eröffnet ein großes Potential transplantierbarer Organe (BRETZEL, 1996; BRETZEL et al., 1992).

1.3.1 Experimentelle Inselzelltransplantation

Bereits 1890 konnte erstmals von MINKOWSKI durch Pankreatektomie bei Tieren der Zusammenhang zwischen der Entfernung der Bauchspeicheldrüse und dem Diabetes mellitus belegt werden. 1892 wurde dann bereits bei Hunden eine Transplantation von Pankreasanteilen unter die Haut durchgeführt, wobei die Entstehung eines durch Pankreatektomie induzierten Diabetes mellitus verhindert wurde (MINKOWSKI, 1892).

Die Einteilung des Pankreas in einen endokrinen und exokrinen Teil wurde durch die Entdeckung und Beschreibung der Langerhans'schen Inseln (LANGERHANS, 1869) zu Anfang des 20. Jahrhunderts begründet. Eine genauere Beschreibung des endokrinen Pankreasanteils konnte erst durch die Verbesserung histologischer Färbemethoden gut 50 Jahre später erreicht werden.

Die heute als Standard der Inselzellisolierung geltende, automatisierte kontinuierliche Digestions-Filtrationsmethode basiert auf den Arbeiten RICORDI und LACY (RICORDI und LACY et al., 1988 und 1989) und stellt eine Weiterentwicklung der im Tierversuch entwickelten Inselisolierungstechniken mit Hilfe des Enzyms Kollagenase dar (MOSKALEWSKI, 1965). Die Verbesserung der Inselisolierungstechnik erhöhte die Inselausbeute pro Organ und die Menge transplantierbarer Inseln und führte so zu einer Verbesserung der Transplantationsergebnisse. Praktisch erst mit Einsatz dieser Technik konnte das Maximalziel der Insulinunabhängigkeit bei Menschen erreicht werden (BRETZEL, 1996).

Durch Inselzelltransplantationen am Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass sich die diabetische Stoffwechsellage signifikant verbessert und Spätkomplikationen verhindert werden können (BALLINGER und LACY, 1972). Eine Reihe von tierexperimentellen Untersuchungen bestätigte diese Ergebnisse in der Folgezeit für verschiedene Formen der diabetischen Spätkomplikationen.

BRETZEL und FEDERLIN zeigten 1977, dass die frühzeitige Transplantation von Inselzellen bei Ratten diabetische Nephropathie verhindern kann (BRETZEL und FEDERLIN, 1977). Auch die Entwicklung der diabetischen Retinopathie konnte im Tierexperiment durch Inselzelltransplantation verhindert werden (KRUPIN et al., 1979). 1983 konnten durch Inselzelltransplantation am Rattenmodell ähnliche Ergebnisse für die Entwicklung der diabetischen Neuropathie gezeigt werden (SCHMIDT et al., 1983). Weitere Studien bestätigten in der Folgezeit im Tierexperiment immer wieder die Inselzelltransplantation als überlegene Therapiemöglichkeit des Typ-1-Diabetes (BRETZEL et al., 1994; WARNOCK et al., 1992).

1.3.2 Klinische Inselzelltransplantation

Zwischen 1893 und Dezember 2000 wurden weltweit 493 adulte allogene Inselzelltransplantation durchgeführt, inklusive historischer Fälle.

Zur Zeit existieren fünf Transplantationsmodalitäten, die berücksichtigen, bei welchen Patienten Inselzelltransplantationen durchgeführt werden. Dies sind:

- Allogene Inselzelltransplantation nach Nierentransplantation bei Typ-1-Diabetikern (IAK = Islet After Kidney)
- Simultane allogene Nieren-Inselzelltransplantation bei Typ-1-Diabetikern (SIK = Simultaneous Islet Kidney)
- Alleinige allogene Inselzelltransplantation (ITA = Islet Transplant Alone)
 - bei schwerer autonomer Neuropathie
 - bei Brittle Diabetes
 - bei schwerer diabetischer Nephropathie
 - bei unzureichender Hypoglykämiegegenregulation
- Autologe Inselzelltransplantation bei sekundärem Diabetes nach Pankreatektomie wegen chronisch rezidivierender Pankreatitis
- Simultane allogene Leber-Inselzelltransplantation (SIL = Simultaneous Islet Liver) nach abdominalen Exenteration bei malignen Abdominaltumoren

Eine umfangreiche Untersuchung von Einflussfaktoren auf das Transplantatüberleben konnte erst durch die Sammlung und den Vergleich weltweiter Transplantationsdaten durch die Internationale Inselzelltransplantation Registratur (ITR = International Islet Transplant Registry) in größerem Umfang durchgeführt werden. In den Jahren 1990 bis 1999 wurden der Internationalen Inselzelltransplantation Registratur 237 adulte allogene Inselzell-

transplantationen beim Typ-1-Diabetiker mit kompletten Datensätzen gemeldet. In dieser gut dokumentierten Patientengruppe betrug das 1-Jahres-Patientenüberleben 96 % und das 1-Jahres-Transplantatüberleben 41 %. Eine Insulinunabhängigkeit (> 7 Tage) im ersten Jahr nach der Transplantation war in 11 % der Fälle erreicht (BRENDDEL et al., 2001).

1.4 Polyklonale Antilymphozytenserum

Polyklonale Antilymphozytenserum sind potente Immunsuppressiva. Nachdem ihre Wirksamkeit in experimentellen Studien belegt werden konnte (DIDLAKE et al., 1988), werden sie seit über 30 Jahren in vielen Bereichen der klinischen Organtransplantation sowohl zur Induktionssimmunsuppression als auch in der Behandlung akuter Abstoßungskrisen erfolgreich eingesetzt (NAJARIAN et al., 1976; BOCK et al., 1995; CLARK et al., 1993). Durch die Gabe polyklonaler Antikörper kann die T-Zell-abhängige Immunantwort effektiv unterdrückt werden (CHATENOUD und BACH, 1993).

Die Untersuchung von Inselzelltransplantationsdaten durch die Internationale Inselzelltransplantation Registratur zeigte, dass auch bei klinischer Inselzelltransplantation polyklonale Antilymphozytenserum als Induktionssimmunsuppression das Transplantatüberleben verlängern (BRENDDEL et al., 2001). Polyklonale Antikörper werden durch die Immunisierung von Tieren, insbesondere von Kaninchen und Pferden, mit humanen Zelllinien gewonnen. Aus dem gewonnenen Serum wird die IgG-Fraktion separiert und anschließend gereinigt. Da die zur Immunisierung verwandten Zelllinien verschiedene Antigene auf ihren Zelloberflächen exprimieren, ist das gewonnene Serum polyklonal und repräsentiert das Spektrum dieser Antigene. Manche der Antigene sind zelllinienspezifisch (CD3, TCR), andere werden von mehreren Lymphozytenarten präsentiert (CD2, CD4, CD8, CD25), wiederum andere werden von nicht-lymphatischem Gewebe präsentiert wie z. B. Erythrozyten, Thrombozyten oder Endothel. Die Konzentration und Spezifität der Antikörper variiert in den unterschiedlichen Chargen und Markenprodukten, weswegen unterschiedliche Dosisempfehlungen in den verschiedenen Protokollen existieren (REBELLATO et al., 1994; BONNEFOY-BERAND et al., 1991; SHENTON et al., 1994).

Produktname:	Atgam	M-ALG	Lymphoglobulin	Thymoglobulin	ATG-Fresenius
Sensibilisierte	Pferd	Pferd	Pferd	Kaninchen	Kaninchen
Spezies:					
Immunogenes	Thymus	Thymus,	Thymus	Thymus	Lymphoblasten
Substrat:		Lymphoblasten			(Jurkat-Zelllinie)
Empfohlene					
Dosis (mg/kg/d):	10-30	15-20	10	1.25-2.5	1-5

Tab. 1: Übersicht über in der Transplantationsmedizin verwandte polyklonale Antilymphozytenserum

Am Beispiel des ATG-Fresenius, des weltweit am häufigsten verwandten polyklonalen Antilymphozytenserums (über 100.000 behandelte Patienten), sollen die verschiedenen enthaltenen Antikörper dargestellt werden. ATG-Fresenius wird durch die Sensibilisierung von Kaninchen mit der JURKAT Zelllinien gewonnen, welche humanen aktivierten T-Lymphozyten ähnelt. Die Antigene der JURKAT- Zelllinie und die Häufigkeit ihrer Expression sind in Abb. 1 dargestellt. ATG Fresenius enthält die entsprechenden Antikörper zu den aufgeführten Antigenen.

Antigen % der Expression

CD1a	100
CD2	100
CD3	100
CD4	35
CD5	100
CD8	80
CD11a	60
CD28	100
CD45RA	60
CD54	100
CD56	100
CD71	100
CD96	100
TCR alpha/beta	100

Abb. 1: Übersicht über den Anteil der Expression wichtiger Antigene der JURKAT-Zelllinie (Quelle: Fresenius AG, Gräfelfing)

Untersuchungen bei Nierentransplantationen belegen, dass polyklonale Antikörper als Induktionsimmunsuppression monoklonalen Antikörpern überlegen sind. Für polyklonale Antikörper (ATG-Fresenius) konnte gezeigt werden, dass im Vergleich zum monoklonalen OKT3-Antikörper in der behandelten Patientengruppe das 1-Jahres-Transplantatüberleben signifikant größer ist und die Anzahl biopsisch nachgewiesener akuter Abstoßungsreaktionen sowie die Anzahl viraler Infektionen und Nebenwirkungen geringer sind (BOCK et al., 1995). Als Nebenwirkung polyklonaler Antikörperseren können Überempfindlichkeitsreaktionen, Sensibilisierung gegen das fremde Immunglobulin und Infektionen bei Überimmunsuppression auftreten. Längerfristig können polyklonale Antikörperseren das Malignomrisiko erhöhen (RUBIN et al., 1981).

Bei Untersuchungen der Lymphozytensubsets nach Gabe von polyklonalen Antikörperseren konnten kurzfristige und längerfristige Wirkungen beobachtet werden.

1.4.1 Kurzfristige Wirkungen polyklonaler Antilymphozytenserien

Polyklonale Antikörperserien können die Anzahl der T-Lymphozyten im Blut schnell und wirksam reduzieren. Die Zellzahl CD3⁺ Lymphozyten kann unter 50/μl gesenkt werden, die Depletion ist bereits nach wenigen Stunden nachweisbar. Für CD2⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺ (CD56⁺), CD25⁺ und CD45⁺ Lymphozyten konnte ebenfalls eine schnelle und deutliche Reduktion der Zellzahlen nach Gabe polyklonaler Antilymphozytenserien gezeigt werden (GUTTMANN et al., 1997). Dosisunterschiede haben auf das Ausmaß der kurzfristigen T-Zell-Depletion während der ersten 30 Tage nach Transplantation kaum Einfluss, wohl aber auf die Geschwindigkeit, mit der sich die Subsets regenerieren (THERVET et al., 1997; MÜLLER et al., 1997).

1.4.2 Längerfristige Wirkungen polyklonaler Antilymphozytenserien

In der Folge des initial stark ausgeprägten Abfalls nach Gabe polyklonaler Antikörperserien tritt eine Regeneration der Subsets ein, die bei den verschiedenen Subsets unterschiedlich ausgeprägt ist. MÜLLER et al. (1999) konnten in einer langfristigen Betrachtung von Lymphozytensubsets nach Gabe polyklonaler Antikörper über insgesamt 66 Monate zeigen, dass T-Lymphozyten (CD3⁺) 24 Monate nach Gabe polyklonaler Antikörper vollständig regeneriert waren, für die T-Helferzellen (CD4⁺) konnte auch nach 66 Monaten keine vollständige Regeneration nachgewiesen werden. CD8⁺ Zellen erreichten nach 12 Monaten wieder Zellzahlen wie vor Transplantation, wobei jedoch in der Folgezeit eine übermäßige Regeneration der CD8⁺ Zellen, im Besonderen der CD8⁺ CD57⁺ Zellen, auftrat. Eine signifikante Erniedrigung der CD4/CD8 Ratio war deshalb auch nach 66 Monaten noch nachweisbar. In einer Kontrollgruppe war für monoklonale Antikörper (OKT 3) keiner dieser längerfristigen Effekte auf die Lymphozytensubsets nachweisbar (RUBIN, 1981).

1.5 Durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets mit Hilfe monoklonaler Antikörper

1.5.1 Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie beruht auf der Bestrahlung von sich in Lösung befindenden Zellen durch eine Laserlichtquelle. Nach Bestrahlung der Zellen durch den Laser kann durch Messung des abgestrahlten Streulichtes über Streulichtdetektoren die Größe der Zelle bestimmt werden.

Es besteht die Möglichkeit, über monoklonale Antikörper Fluoreszenzfarbstoffe spezifisch an diejenigen Zellen zu binden, die das korrespondierende Antigen auf ihrer Zelloberfläche tragen. Das Licht des Lasers regt Fluoreszenzfarbstoffe an, die über die monoklonalen Antikörper an Antigene auf der Zelloberfläche gebunden sind. Die so angeregten Farbstoffe strahlen das Licht in einem farbstoffspezifischen Spektralbereich ab. Das abgestrahlte Licht kann hinsichtlich der Wellenlänge und der Intensität gemessen werden. So kann über die Fluoreszenzmessung die Antikörperbindung an die Zellen bestimmt werden.

Für jede Zelle werden Streulicht, spezifisches Lichtspektrum und Lichtintensität bestimmt und mit Hilfe eines Computers aufgezeichnet. So kann jeder Zelle ein Längs- und Querdurchmesser sowie Antikörperbindungen zugeordnet werden (MELAMED, 1994)

1.5.2 Monoklonale Antikörper in der Durchflusszytometrie

Mit Hilfe monoklonaler Antikörper gegen zelllinienspezifische Lymphozytenantigene können T-Lymphozyten (CD3+), B-Lymphozyten (CD19+) und NK-Zellen (CD16+ CD56+) mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert werden. Weitere Subklassifikationen durch koexprimierte Antigene (CD45 RO, HLA-DR, CD122, CD71) in naive oder Gedächtniszellen (bzw. ruhende oder aktivierte Zellen) sind durchflusszytometrisch durch Doppelfärbungen mit zwei monoklonalen Antikörpern möglich. Grundsätzlich existieren dabei zwei verschiedene Verfahren, wie Fluoreszenzfarbstoffe an die Zellen gebunden werden können. Bei der direkten Fluoreszenz sind die Farbstoffe direkt an monoklonale Antikörper gebunden, die antigenspezifisch sind. Bei der indirekten Fluoreszenz sind die Farbstoffe an Antikörper konjugiert, nämlich an monoklonale antigenspezifische Antikörper.

Mit der Durchflusszytometrie existiert ein wirkungsvolles Verfahren, um durch monoklonale Antikörper schnell und exakt Lymphozytenpopulationen und Subsets aus dem peripheren Blut zu bestimmen (MELAMED, 1994).

Antigene	Korrespondierende Antikörper	Zielzellen
CD3	Leu 4; OKT 3; T3	T-Zellen
CD4	Leu 3; OKT 4, T4	Helfer-Inducer T-Zellen, Monozyten
CD14		Monozyten, Makrophagen
CD16	Leu11, 3G8	Natürliche Killerzellen, Granulozyten (PMN)
CD19	Leu 12; B4	B-Zellen
CD45 RO	Leu 18; 2H4	T-Subset
CD56	Leu 19; NKH-1 antigen; N-CAM isoform	Natürliche Killerzellen
HLA-DR		MHC Klasse II Antigene

Tab. 2: Von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) empfohlene Nomenklatur für Humane Leukozyten Differenzierungsantigene (MELAMED, 1994)

1.6 Immunologisches Monitoring bei Transplantation

Immunologisches Monitoring ist ein dynamischer Prozess. Von anfänglichen isolierten Betrachtungen einiger Lymphozytensubsets (DELMONICO et al., 1983, BURTON et al., 1982) bis hin zu aktuellen Ansätzen des „Multiparametrischen Immunmonitoring“ wurden immer neue Aspekte der Transplantationsmedizin sowie Untersuchungsmethoden berücksichtigt.

Ziel des immunologischen Monitorings ist es, Rückschlüsse über den immunologischen Status des Patienten zu gewinnen und so über den gezielteren Einsatz der therapeutischen Optionen die Transplantatfunktion zu verbessern und das Transplantatüberleben zu verlängern. Im klinischen Einsatz konzentrieren sich die Untersuchungen auf drei Hauptbereiche (KEOWN, 1992; TSUNODA und AWEEKA, 1996):

- Bestimmung des immunologischen Status des Patienten

Methode: Phänotypisierung von Lymphozyten und Bestimmung von Lymphozytensubsets.

- Bestimmung der beteiligten immunologischen Mechanismen

Methode: Identifizierung antigenspezifischer Immunmechanismen (Autoimmunität, Alloimmunität, virale Infektionen) und lokaler antigenunspezifischer Immunmechanismen mittels Biopsie, Antikörperbestimmung.

- Bestimmung der Wirkung der immunsuppressiven Therapie

Methode: Bestimmung der Serumspiegel der Immunsuppressiva und ihrer Metaboliten sowie der intrazellulären DNA-Nukleotide und CD3-Lymphozyten.

1.6.1 Immunologisches Monitoring und Lymphozytensubsetbestimmungen

Die Lymphozytensubsetbestimmungen können im Rahmen des immunologischen Monitoring hinsichtlich verschiedener Fragestellungen bzw. Problemen von Nutzen sein:

- Dosisanpassung von polyklonalen Antikörpern

Im Zusammenhang mit Nierentransplantationen konnte gezeigt werden, dass durch tägliches Immunmonitoring und Dosisanpassungen des ATG, Über- und Unterimmunsuppression vermieden werden kann (CLARK et al., 1993; THERVET et al., 1997). Durch die Bestimmung der CD3+ Zellen als Berechnungsgrundlage von Dosisanpassungen in der Induktionsphase der Immunsuppression konnte, etwa bei der Behandlung steroidresistenter Abstoßungskrisen, die ATG-Dosis und die Anzahl schwerer viraler Infekte signifikant reduziert werden, ohne die Fähigkeit des ATG zu beeinträchtigen, die Abstoßungsreaktionen wirkungsvoll zu bekämpfen.

- Erkennen von Transplantatabstoßung

Seit langem wird versucht, immunologische Marker für Transplantatabstoßung zu finden. Besonders die Nierentransplantation hat sich hierbei als geeignetes Untersuchungsfeld erwiesen, da mit der Kreatininclearance ein sensibler Früherkennungsparameter existiert und mit der Nierenbiopsie eine Möglichkeit besteht, Abstoßungen auch histologisch nachvollziehen zu können. Die Interpretation der Ergebnisse klinischer Studien zu dieser Thematik ist jedoch wegen der teils widersprüchlichen Ergebnisse der einzelnen Studien schwierig.

Bereits 1982 wurden bei Patienten signifikant höhere T4/T8-Verhältnisse während oder bis zu fünf Tagen vor Abstoßung im Vergleich zu Patienten ohne Abstoßungsreaktion beschrieben. Hinsichtlich der absoluten Zellzahlen von CD4+ Zellen und CD8+ Zellen konnte jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (ELLIS at al., 1982). Hohe T-

Lymphozytenzahlen vor Transplantation konnten als Risikofaktor für die Entwicklung akuter Transplantatabstoßungen beobachtet werden. In der Zeit nach Transplantation konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen Zellzahlen der CD2+, CD3+, CD4+ und CD8+ Zellen und der Entwicklung von Abstoßungskrisen beschrieben werden (THERVET et al., 1997).

Die Untersuchung pädiatrischer Nierentransplantationspatienten ergab während der Gabe von Antilymphozytenseren durchschnittlich höhere Zellzahlen CD2+ und CD3+ Zellen bei Patienten, die später Abstoßungsreaktionen erlitten, jedoch waren die Unterschiede nicht signifikant (BELL et al., 1997; BRUN et al., 1995).

MAZAHERI et al. (1986) konnten bei Patienten mit einem stabilen Nierentransplantat (Totspender) zeigen, dass unter Ciclosporin-Immunsuppression eine progressive Reduktion der CD4+ Zellen bei gleichzeitiger Zunahme der CD8+ Zellen erfolgte, was zu einer signifikanten Reversion der CD4/CD8-Ratio führte. Bei der akuten Transplantatabstoßung konnte hingegen eine Umkehr dieser Veränderungen der CD4/CD8-Ratio (<1) beobachtet werden. Des Weiteren konnte ein erhöhter Anteil der 4F2+ Zellen, CD4+ Zellen, CD28-Zellen, die HLA-DR, Transferrin und IL-2-Rezeptoren exprimieren, beobachtet werden. (BRANDO et al., 1989).

BURTON et al. veröffentlichte 1982 Ergebnisse von sequentiellen Untersuchungen der Lymphozytensubsets bei Nierentransplantationspatienten und einer gesunden Kontrollgruppe. Monitoring der CD4+ und CD8+ Lymphozyten zeigte, dass eine normale oder erhöhte CD4/CD8-Ratio, besonders bei gleichzeitigem Vorliegen von erhöhten Zellzahlen CD4+ Zellen, prädiktiv für den späteren Transplantatverlust war.

- Erkennen und Vermeiden anderer möglicher Komplikationen nach Transplantation

In Hinsicht auf mögliche Komplikationen nach Organtransplantation (Infektion, Sepsis, akute Abstoßung, chronische Abstoßung, Organtoxizität von Immunsuppressiva) hat sich die durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets im Rahmen des sog. multiparametrischen Immunmonitoring als wirkungsvolles Hilfsmittel bei der Interpretation anderer Laborparameter und klinischer Zustände erwiesen. Beim multiparametrischen Immunmonitoring kombiniert man die Bestimmung der Lymphozytensubsets mit Zytokinmessung, Nachweis transplantationsmedizinisch relevanter Erreger und Blutspiegelbestimmung von Immunsuppressiva (ERREN, 1996; DÖCKE et al., 1994).

1.7 Ziele und Fragestellungen der vorliegenden Arbeit

Mit der vorliegenden Arbeit sollen die Veränderungen von Lymphozytensubsets bei Patienten nach Inselzelltransplantation untersucht werden. Dabei hat sich die Durchflusszytometrie mit Hilfe fluoreszenzmarkierter monoklonaler Antikörper als besonders zuverlässige Methode erwiesen. Im Speziellen sind vier Fragestellungen hinsichtlich der beobachteten Veränderungen von besonderem Interesse:

- Wie verändern sich Lymphozytensubsets nach Inselzelltransplantation und Induktionsimmunsuppression mit polyklonalen Antilymphozytenseren?
- Hat die Ausprägung bestimmter Spender-, Empfänger -und Transplantateigenschaften einen nachweislichen Einfluss auf das Inselzelltransplantatüberleben in der vorliegenden Patientengruppe?
- Kann man durch Bestimmung von Lymphozytensubsets und Inselzell-Autoantikörpern den immunologischen Einfluss auf das Inselzelltransplantatüberleben nachvollziehen?
- Kann man durch durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets eine mögliche immunologische Abstoßung von Inselzelltransplantaten erkennen?

2. Material und Methoden

2.1 Patientenkollektive

2.1.1 Inselzelltransplantierte Patienten

Das untersuchte Patientenkollektiv besteht aus 20 Patienten, die vor Transplantation C-Peptid-negativ waren und sich im Zeitraum von Januar 1997 bis August 1998 an der Universitätsklinik in Gießen einer intraportalen Inselzelltransplantation unterzogen. Dabei wurden 14 simultane Insel-Nierentransplantationen (SIK), fünf Inselzelltransplantationen nach Nierentransplantation (IAK) und eine simultane Insel-Lebertransplantation (SIL) durchgeführt.

2.1.2 Nierentransplantierte Patienten

Das Patientenkollektiv der Nierentransplantierten besteht aus zehn terminal niereninsuffizienten Patienten, denen im Zeitraum von Oktober 1998 bis Mai 1999 an der

Universitätsklinik in Gießen eine Niere transplantiert wurde. Keiner der Patienten erhielt polyklonale Antilymphozytenserum.

2.1.3 Gesunde Kontrollgruppe

Die gesunde Kontrollgruppe besteht aus zehn gesunden Nierenspendern, die im Zeitraum Oktober 1998 bis Mai 1999 an der Universitätsklinik in Gießen nephrektomiert wurden. Die Probenentnahme lag zeitlich jeweils vor der Nephrektomie.

	Inselzelltransplantierte	Nierentransplantierte
Patienten (n)	20	10
Geschlecht (w/m)	11/9	4/6
	Median (25 % - 75 % Perzentil)	Median (25 % - 75 % Perzentil)
Gewicht (kg)	61 (58 - 69)	65 (56 - 81)
Alter (Jahre)	38 (35 - 42)	56 (33 - 64)
Dialysedauer (Monate)	17 (4 - 39)	62 (31 - 72)

Abb. 2: Charakteristika der Inselzelltransplantationspatienten und Nierentransplantationspatienten der vorliegenden Untersuchung

2.1.4 Einverständniserklärung und Ethikkommission

Jeder Patient bzw. Proband wurde ausführlich schriftlich und mündlich von dem betreuenden Arzt über die Untersuchungen, das Ziel der Studie, den zu erwartenden Nutzen und die zusätzlichen Belastungen und möglichen Risiken aufgeklärt. Von jedem Patienten oder Probanden wurde eine schriftliche Einverständniserklärung erhoben. Über das Verweigerungsrecht bzw. die Möglichkeit jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für die Behandlung der Patienten von der Studie zurückzutreten, wird ebenfalls aufgeklärt. Jeder Patient erhält ein Exemplar der Patientenaufklärung und der Einverständniserklärung. Ein positives Votum der Ethikkommission der Universität Gießen liegt vor.

2.1.5 Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren bei Inselzelltransplantation

Allen 20 Inselzelltransplantationspatienten aus der vorliegenden Untersuchung wurden innerhalb der ersten zehn Tage nach Inselzelltransplantation polyklonale Antilymphozytenseren (ATG) verabreicht. Die mittlere Dosis des ATG betrug dabei 240 ± 39 mg/Patient/Tag (Mittelwert \pm Standardabweichung), ATG wurde im Mittel über 9 ± 1.1 Tage (Mittelwert \pm Standardabweichung) verabreicht, mindestens aber über sieben Tage. Jeder Patient erhielt ATG in individueller, von den behandelnden Ärzten festgesetzter Dosierung, die im Verlauf der Behandlung nicht verändert wurde.

2.2 Parameter der Transplantatfunktion

2.2.1 Inselzellfunktion

Eine Inselzellfunktion lag in der vorliegenden Untersuchung definitionsgemäß dann vor, wenn an drei aufeinander folgenden Messungen ein C-Peptid > 0.5 ng/ml gemessen werden konnte.

2.2.2 Insulinunabhängigkeit

Insulinunabhängigkeit im ersten Jahr nach Transplantation lag in der vorliegenden Untersuchung definitionsgemäß dann vor, wenn an mehr als sieben Tagen im ersten Jahr nach Transplantation keine Insulinsubstitutionstherapie erfolgen musste.

2.2.3 Transplantatverlust

Der Transplantatverlust lag in der vorliegenden Untersuchung definitionsgemäß dann vor, wenn an drei aufeinander folgenden Messungen ein C-Peptid Wert < 0.5 ng/ml bestimmt wurde, bei vorher bestehender Inselzelltransplantatfunktion.

2.2.4 Zeitpunkt des Transplantatverlustes

Der Zeitpunkt des Transplantatverlustes ist in der vorliegenden Untersuchung definiert als Zeitpunkt zwischen der ersten von minimal drei aufeinander folgenden Messungen, bei denen C-Peptid < 0.5 ng/ml lag, bei vorher bestehender Inselzelltransplantatfunktion.

2.3 Indikationen und Kontraindikationen der Inselzelltransplantation

2.3.1 Indikationen

- Niereninsuffizienz im prä-urämischen Stadium oder Endstadium
- Vorausgegangene (> 6 Monate) Nierentransplantation

2.3.2 Kontraindikationen

- Alter < 18 Jahre oder > 65 Jahre
- Diabetesdauer < 10 Jahre
- Rest-C-Peptid-Sekretion (Plasma-C-Peptid > 0.2 ng/ml gemessen 6 min nach i.v. Gabe von 1 mg Glucagon oder wenn die Basal-Sekretion bei 0.2 - 0.3 ng/ml liegt)
- Kreatininclearance < 45ml/min (trifft nicht beim Vorliegen der Indikation: Alter < 18 Jahre oder > 65 Jahre zu).
- Unbehandelte proliferative Retinopathie
- Unbehandelte koronare Herzerkrankung mit signifikanter Stenose und Linksventrikelversagen, außer erfolgreich behandelt durch Medikation, Bypass-Operation oder Dilatation
- Portaler Hochdruck
- Aktive Infektionen, im speziellen Hepatitis B und C
- Aktive peptische Ulzera
- Psychiatrische Erkrankungen
- Noncompliance
- Substanzmissbrauch
- Krebserkrankungen, außer Heilung ohne Rezidiv für > 5 Jahre

Die Indikationen zur Inselzelltransplantation waren in 19 von 20 Fällen erfüllt. Die Ausnahme war ein Patient, bei dem eine Inselzelltransplantation nach einer Lebertransplantation durchgeführt wurde. Eine Kontraindikation war in keinem der 20 Fälle erfüllt.

2.4 Empfängerbedingungen

Folgende Empfängerbedingungen wurden bestimmt und ihr Einfluss auf Transplantatfunktion und Transplantatüberleben überprüft.

2.4.1 Diabetesdauer

Die Dauer des insulinpflichtigen Diabetes mellitus in Jahren.

2.4.2 Insulinbedarf vor Transplantation

Insulinbedarf vor Transplantation pro Tag in internationalen Einheiten (IE), wobei alle Insuline addiert werden.

2.4.3 Histokompatibilität

Die Antigene der Genorte HLA -A, -B, und -DR wurden bei Spender und Empfänger des Inselzelltransplantats bestimmt. Die Histokompatibilität zwischen Organspender und Empfänger bezüglich der HLA (A, -B, -DR) wurde durch drei einzelne Scores angegeben, ein Gesamtscore für alle drei Genorte wurde zusätzlich erstellt. Bei Verwendung von mehr als einem Transplantat oder unvollständiger Bestimmung der Antigene erfolgt ein Ausschluss der Daten von der Untersuchung.

- Histokompatibilitäts-Score für HLA-A

Für jede Inselzelltransplantation wurde ein Score erstellt, der die Histokompatibilität für den Genort HLA-A von Spender und Empfänger der Inselzellen abbilden soll. Jedem Inselzelltransplantationspatient wird ein Score von 0-2 zugeordnet. Ein Score von 0 entspricht dem mismatch (Nichtübereinstimmen) in beiden Antigenen von HLA-A zwischen Spender und Empfänger. Ein Score von 1 entspricht dem mismatch von einem Antigen, ein Score von 2 dem mismatch von null Antigenen.

- Histokompatibilitäts-Score für HLA-B und HLA-DR

Für die Antigene von HLA-B und HLA-DR wurden korrespondierende Scores nach der oben für HLA-A beschriebenen Methode erstellt.

- Gesamtscore für die Histokompatibilität von HLA-A und HLA-B und HLA-DR

Für jede Inselzelltransplantation wurde ein Score erstellt, der die Histokompatibilität für die drei Genorte HLA-A, -B, und -DR von Spender und Empfänger der Inselzellen abbilden soll. Jedem Inselzelltransplantationspatient wird ein Score von 0-6 zugeordnet. Ein Score von 0 entspricht dem mismatch (Nichtübereinstimmen) in sechs Antigenen von HLA-A, -B und -DR zwischen Spender und Empfänger. Ein Score von 1 entspricht dem mismatch von fünf Antigenen, ein Score von 2 einem mismatch von vier Antigenen, ein Score von 3 dem mismatch von drei Antigenen, ein Score von 4 dem mismatch von zwei Antigenen, ein Score

von 5 dem mismatch von einem Antigen und ein Score von 6 dem mismatch von null Antigenen.

2.4.4 Immunologische Parameter

Als immunologische Marker dienen die vom Labor der Universitätsklinik Gießen bestimmten Differentialblutbilder sowie die durchflusszytometrisch gewonnenen Lymphozytensubpopulationen mit Aktivierungsmarkern, angegeben in Zellzahl/ μ l Blut.

- Leukozytenzahl
- Lymphozytenzahl
- Zellzahl CD3+ Zellen
- Zellzahl CD19+ Zellen
- Zellzahl CD56+ CD3- Zellen
- Zellzahl CD4+ Zellen
- Zellzahl CD4+ HLA-DR+ Zellen
- Zellzahl CD4+ CD122+ Zellen
- Zellzahl CD4+ CD45RO+ Zellen
- Zellzahl TCR alpha/beta+ Zellen
- Zellzahl TCR gamma/delta+ Zellen
- Monozytenzellzahl
- Zellzahl CD14+ HLA-DR+ Zellen

2.5 Spenderkriterien

2.5.1 Transplantierte Inselmenge

Die Menge der transplantierten Inselzellen wird mit dem Inselzelläquivalent (IEQ = Isletequivalent) pro Kilogramm Körpergewicht angegeben. Die Kalkulation erfolgt entsprechend international festgelegten Richtlinien.

2.5.1.1 Inselzelläquivalent

Die Inselzahl und das Inselvolumen werden zur Bestimmung des Inseläquivalents (IEQ) benutzt. Die Inselzahl und das Volumen werden dabei auf ein entsprechendes Äquivalent von Inseln mit einem Durchmesser von 150 μ m umgerechnet. Ein Inselzelläquivalent (IEQ) entspricht einer idealisierten Standardinsel mit einem Durchmesser von 150 μ m.

2.5.1.2 Inselzellvolumen

Zur Bestimmung des Inselvolumens wird eine Kugelform angenommen. Mit folgender Formel wird dann aus dem lichtmikroskopisch bestimmten Durchmesser (2r) das Inselvolumen bestimmt: Inselvolumen= $\frac{4}{3} \times \pi \times r^3$

2.5.1.3 Inselzellzahl

Die Inselanzahl wird unter dem Lichtmikroskop ausgezählt. Dabei werden die ausgezählten Inselzellen nach ihrer Größe klassifiziert.

2.5.1.4 Inselzellgröße

<u>Klasse</u>	<u>Durchmesser</u>
1	50-100 μm
2	100-200 μm
3	200-300 μm
4	300-400 μm
5	400-500 μm
<u>6</u>	<u>>500 μm</u>

Tab. 3: Klassifizierung der Inselgröße

2.6 Organkriterien

2.6.1 Kalte Ischämiezeit

Die Gewinnung der Pankreata aus denen man die Inselzellen gewinnt, wird wie bei der Geamtorgantransplantation vorgenommen. Unmittelbar nach Aussetzen der Herzfunktion werden die abdominalen Organe mit einer 4° C kalten Lösung perfundiert und anschließend entnommen. Das Pankreas wird dann bei 4° C unter sterilen Bedingungen gelagert. Die Zeit nach dem Aussetzen der physiologischen Organperfusion bis zur Transplantation wird als Kalte Ischämiezeit (KIZ) bezeichnet.

2.6.2 Inselviabilität

Die Viabilität von Inselzellen wird in Anlehnung an die Methoden von LONDON et al. festgestellt. Hierbei werden mittels einer fluoreszenzmikroskopischen Analyse lebende und tote Inselzellen bestimmt.

2.6.3 Inselstimulationsindex

Es wird die Insulinsekretion nach 90 Minuten statischer Inkubation bei 30 bzw. 300 mg/dl Glucosekonzentration bestimmt. Der Inselstimulationsindex errechnet sich aus dem Quotienten der Insulinsekretion bei 300 mg/dl zu der Insulinsekretion bei 30 mg/dl.

2.7 Fluoreszenzmarkierung von Blutzellen mit monoklonale Antikörper

2.7.1 Materialien

- EDTA 5 ml Blutabnahmeröhrchen
- Facs-Probenröhrchen: Falcon 5 ml round bottom tube (Katalog Nr. 352054)
- PBS Puffer
- Facs Lysing Solution 1:10 mit sterilem Aqua dest. verdünnt
- Becton&Dickinson Maus IgG1 FITC (Katalog Nr. 349041)
- Becton&Dickinson Maus IgG1 Pe (Katalog Nr. 349043)
- Becton&Dickinson Maus IgG2 FITC (Katalog Nr. 349051)
- Becton&Dickinson Maus IgG2 Pe (Katalog Nr. 349053)
- Becton&Dickinson CD3 FITC (Katalog Nr. 349201)
- Becton&Dickinson CD3 PE (Katalog Nr. 347347)
- Becton&Dickinson CD 4 FITC (Katalog Nr. 3473232)
- Becton&Dickinson CD 14 IgG2b FITC (Katalog Nr. 347493)
- Becton&Dickinson CD 19 IgG1 PE (Katalog Nr. 349209)
- Becton&Dickinson CD45 RO IgG2a PE (Katalog Nr. 347967)
- Becton&Dickinson CD56 PE IgG1 (Katalog Nr. 347747)
- Becton&Dickinson CD 71 FITC IgG1 (Katalog Nr. 347513)
- Becton&Dickinson CD122 PE IgG1 (Katalog Nr. 3402454)
- Becton&Dickinson HLA DR IgG2a PE (Katalog Nr. 346367)
- Becton&Dickinson TCR gamma/delta IgG1 PE (Katalog Nr. 347907)
- Becton&Dickinson TCR alpha/beta IgG1 FITC (Katalog Nr. 347773)

- Zentrifuge: Hettich Rotana
- Vortex Mixer

2.7.1.1 Fluoreszenzfarbstoffe

Es werden zwei unterschiedliche Farbstoffe verwendet.

- FITC-Farbstoff (Fluorescein Isothiocyanate) mit einem Fluoreszenzmaximum im Bereich 520 nm.
- PE-Farbstoff (R-Phycoerythrin) mit einem Fluoreszenzmaximum im Bereich 578 nm.

2.7.1.2 Antikörperprotokoll

- IgG1 FITC und IgG1 Pe
- IgG2 FITC und IgG2 Pe
- CD3 FITC und CD19 Pe
- CD3 FITC und CD56 Pe
- CD4 FITC und CD3 Pe
- CD4 FITC und CD122 PE
- CD4 FITC und CD45RO
- CD4 FITC und HLA-DR PE
- CD71 FITC und CD3 PE
- CD14 FITC und HLA-DR PE
- TCR alpha/beta FITC und TCR gamma/delta PE

2.7.2 Probenarten

- Nativprobe

Hierbei werden der Probe keine Antikörper zugegeben.

- Isotypenkontrolle

Es werden an Mausantikörper gebundene Fluoreszenzfarbstoffe verwendet. Die Mausantikörper weisen keine spezifische Bindungsfähigkeit gegen Epitope der menschlichen Blutzellen auf, es kommt über unspezifische Mechanismen dennoch zu einer Bindung der Mausantikörper an die humanen Blutzellen. Es werden die gleichen Antikörpersubklassen wie im Antikörperprotokoll verwendet (IgG1, IgG2) und die gleichen Fluoreszenzfarbstoffe.

- Doppelfärbung der spezifische Antikörperproben

Es werden bei jeder Probe zwei verschiedene Antikörper, konjugiert an unterschiedliche Fluoreszenzfarbstoffe, verwendet. Die Antikörper sind gegen Oberflächenantigene der Blutzellen gerichtet.

2.7.3 Probengewinnung

Die Blutabnahme erfolgte im Rahmen der Nachsorgeuntersuchungen in der Nierentransplantationsambulanz oder der Inselzelltransplantationsambulanz der Universitätsklinik Gießen. Die Patienten wurden, wenn möglich, nach einem festgesetzten Zeitplan untersucht. Das Probenschema sieht eine Probenentnahme vor Transplantation und am 1. Tag, 7. Tag, 21. Tag und 30. Tag nach Transplantation sowie anschließend in jeweils einmonatigen Abständen vor. Die Gesamtuntersuchungsdauer bei Inselzelltransplantationspatienten beträgt ein Jahr und bei Nierentransplantationspatienten sechs Monate. In den Diagrammen und Tabellen der vorliegenden Arbeit wird die Probe vor Transplantation mit Tag -1 bezeichnet und die Proben nach Transplantation mit Tag +1, Tag +7 usw..

2.7.4 Probenverarbeitung

Die Verarbeitung der Blutproben erfolgt in den ersten 24 Stunden nach Probenentnahme. Die Proben werden bei 4° C und Dunkelheit gelagert.

Die Verarbeitung gliedert sich im Wesentlichen in drei Arbeitsschritte: Inkubation der Probe mit monoklonalen Antikörpern, Lysierung der Erythrozyten und Herauswaschen der Erythrozyten.

2.7.4.1 Inkubation der Blutprobe mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern

- Pipettieren von 100 µl EDTA-Vollblut in die Facs-Probenröhrchen
- Zugabe von jeweils 10 µl von zwei monoklonalen Antikörpern nach Antikörperprotokoll
- Durchmischen der Lösung für ca. 10 Sekunden bei mittlerer Intensität auf dem Vortex-Mixer
- Inkubation der Proben für 30 Minuten bei 4°C und Dunkelheit

2.7.4.2 Lysierung der Erythrozyten

- Hinzufügen von 1 ml 1:10 verdünnter Facs Lysing Solution
- Durchmischen für ca. 10 Sekunden bei mittlerer Intensität auf einem Vortex-Mixer
- Inkubation für 5 Minuten bei 4° C und Dunkelheit
- Zentrifugieren der Proben für 7 Minuten bei 1600 U/min
- Zügiges Abschütten des Probenröhrchens über dem Abwurf. Der dabei durch Kohäsion und Adhäsion im Röhrchen verbleibende Resttropfen der Lösung wird weiter bearbeitet

2.7.4.3 Waschen der Proben

- Hinzufügen von 1 ml PBS-Puffer und Durchmischen der entstandenen Lösung auf dem Vortex-Mixer für 5 Sekunden bei mittlerer Intensität
- Zentrifugieren der Lösung mit 1600 Umdrehungen/min für insgesamt 5 Minuten.
- Abschütten der Lösung über dem Abwurf wie in 2.7.4.2
- Zweimaliges Wiederholen der ersten beiden Arbeitsschritte von 2.7.4.3. Man erhält so einen Tropfen einer klaren Lösung
- Hinzufügen von 1 ml PBS-Puffer. Die so erhaltene Lösung wird dann im Durchflusszytometer untersucht.

2.8 Durchflusszytometrische Analyse

2.8.1 Materialien

- Durchflusszytometer: Becton & Dickinson Facs-Scan
- Durchflusszytometrielösung: Becton & Dickinson Facs-Flow Lösung (Katalog Nr. 342003)

2.8.2 Arbeitsschritte

- Hinzufügen von 1ml Facs-Flow Lösung zu den vorbereiteten Proben
- Befestigen des Probenröhrchens im Facs-Scan Durchflusszytometer
- Starten des Durchflusszytometers

Es werden pro Probe 100.000 Zellen bearbeitet. Die Daten werden mit dem Hewlett Packard Programm Lysis II auf einem IBM kompatiblen Personal Computer Hewlett Packard 9153C gespeichert.

2.9 Auswertung durchflusszytometrischer Daten

2.9.1 Dot Plot Darstellung

Hierbei werden die Zellen als einzelne Punkte (dots) in ein Koordinatensystem (plot) eingetragen. Die Koordinatenachsen können mit Zellmaßen oder Fluoreszenzintensitäten skaliert werden. Folgenden Arbeitsschritte müssen durchgeführt werden:

- Darstellung der Zellen anhand ihrer Größe

In der Dot-Plot-Darstellungsweise werden die Achsen des Koordinatensystems mit Querdurchmesser (SSC) und Längsdurchmesser (FSC) skaliert. Auf der X-Achse ist die Zelllänge, auf der Y-Achse die Zellbreite dargestellt.

- Darstellung der Fluoreszenz einer Probe

In der Dot-Plot Darstellungsweise werden die Achsen des Koordinatensystems mit Fluoreszenzintensitäten skaliert. Es werden für die Achsen die spezifischen Spektrumsbereiche der verwandten Fluoreszenzfarbstoffe gewählt.

2.9.2 Gaten

Hiermit kann man Zellgruppierungen durch Setzen von Grenzlinien innerhalb des Koordinatensystems von den restlichen Zellen abtrennen und unabhängig von den übrigen Zellen darstellen.

2.9.3 Backgaten

Hierbei überspielt man die eingezäunten (gategeten) Zellen in eine andere Darstellungsweise. Eine übliche Methode ist es, die Zellen zuerst aufgrund ihrer Größe zu gaten und dann in ein Fluoreszenz-Koordinatensystem zu überspielen und so die Fluoreszenz einer bestimmten Zellgruppierung z.B. der Lymphozyten darstellen zu können. Dies bezeichnet man als Backgaten.

2.9.4 Quadrants

Mit den Quadrants kann man durch ein Gitter das Dot-Plot-Koordinatensystem in vier Quadranten aufteilen, deren Inhalt man quantitativ erfassen kann.

2.9.5 Arbeitsschritte

2.9.5.1 Bestimmung der unspezifischen Bindung

- Dot-Plot-Darstellung der Fluoreszenz der Isotypenkontrolle. Die Fluoreszenzintensität entspricht der Stärke der Antikörperbindung an die Zellen durch unspezifische Bindungsmechanismen. Die Fluoreszenzintensität der Isotypenkontrolle dient als Schwellenwert für die spezifische Bindung.
- Lymphozytengate bestimmen: Färben der Lymphozyten mit dem Panlymphozytenmarker CD45 oder durch die Kombination CD3, CD19 und CD56
- Backgaten der markierten Lymphozyten in das FSC-SSC Dot Plot
- Gaten der markierten Zellen. Mit dem Panlymphozytenmarker CD14 kann man auf die gleiche Weise das Monozytengate erstellen und dadurch das Lymphozytengate kontrollieren

2.9.5.2 Erfassen der Subsets über die spezifische Fluoreszenz

- Setzen des Lymphozytengates.
- DOT-PLOT Darstellung der Fluoreszenz.
- Einsetzen der Quadranten.

Die Ausrichtung der Quadranten erfolgt unter Zuhilfenahme der Isotypenkontrolle. Der rechte untere Quadrant enthält die Isotypenkontrolle und stellt den Schwellenwert der spezifischen Bindung dar. Fluoreszenzen außerhalb dieses Quadranten stellen deshalb spezifische Bindungen dar. Im rechten oberen Quadranten sind Doppelbindungen repräsentiert. Mit Hilfe der Quadranten können die Zellzahlen der antikörperbindenden Zellen bestimmt werden.

2.9.5.3 Berechnung absoluter Zellzahlen

Die in der Durchflusszytometrie erhaltenen Zellzahlen beziehen sich auf 100 000 durchflusszytometrisch bestimmte Zellen und werden mit der folgenden Formel einer Maßeinheit zugeordnet.

a = Zellzahl CD56+ CD3- Zellen in der Durchflusszytometrie

b = Zellzahl CD3+ Zellen in der Durchflusszytometrie

c = Zellzahl CD19+ Zellen in der Durchflusszytometrie

d= Zellzahl des gesuchten Subsets in Durchflusszytometrie

X = Prozentsatz des gesuchten Subsets an der Gesamtlymphozytenzahl

Y = absolute Lymphozytenzahl/ μ l Vollblut

Z= Zellzahl des gesuchten Lymphozytensubsets/ μ l Vollblut

$$X = 100 \times \frac{d}{a + b + c}$$

$$Z = X \times Y$$

2.10 Statistische Auswertung

2.10.1 Deskriptive Statistik

Zur Beschreibung der Verteilung der untersuchten Parameter werden Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen angegeben. Die Range (Wertebereich) wird anstatt der Perzentilen angegeben, wenn nur wenige verschiedene Ausprägungen des Parameters vorkommen, so dass die Angabe der Perzentile nicht sinnvoll ist. Die Darstellung von Medianen mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen erfolgt für die verschiedenen Patientengruppen entweder als Säulendiagramm, wenn die Zellzahlen zu einem Zeitpunkt bestimmt wurden, oder als verbundene Stabdiagramme im Sinne einer Verlaufskurve, wenn die Bestimmung der Zellzahlen zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb eines Zeitraums erfolgte. Die Berechnung und Darstellung erfolgt mit Hilfe eines IBM-kompatiblen Personal Computers und des Programms Microsoft Excel 4.0.

2.10.2 Analytische Statistik

Der Mann-Whitney U-Test wurde eingesetzt, um Unterschiede zwischen zwei unabhängigen Stichproben nicht-normalverteilter Daten zu testen. Der Fisher's Exact Test wurde eingesetzt, um Unterschiede zwischen zwei unabhängigen Stichproben dichotomer Daten zu testen. Die Darstellung der Ergebnisse der analytischen Statistik erfolgt als Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit p . Die Irrtumswahrscheinlichkeit der statistischen Aussage wird wie folgt bewertet.

$p > 0.05$	nicht signifikant
$0.05 \geq p$	signifikant

Zur Berechnung der analytischen Statistik wurden das Macintosh Statistikprogramm In-Stat und ein Macintosh Personal Computer verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Transplantatfunktion in der untersuchten Patientengruppe

Von den 20 untersuchten Inselzelltransplantationspatienten war im ersten Monat nach Inselzelltransplantation (ITX) bei 19 Patienten eine Inselzellfunktion nachweisbar, 14 Patienten hatten ein Jahr nach Inselzelltransplantation noch eine nachweisbare Inselzellfunktion. Zwei Patienten waren im ersten Jahr nach Transplantation insulinunabhängig. Bei einem Patienten lag zu keinem Zeitpunkt nach Transplantation eine Inselzellfunktion vor.

Somit ergeben sich drei Patientenkollektive:

- 14 Patienten (70 %) mit Transplantatfunktion im ersten Jahr nach Transplantation.
- Fünf Patienten (25 %), die nach anfänglicher Transplantatfunktion im ersten Monat diese bis zum Ende des ersten Jahres nach Transplantation wieder verloren hatten.
- Ein Patient (5 %), der zu keinem Zeitpunkt nach Transplantation eine Transplantatfunktion hatte.

Der Zeitpunkt des Transplantatverlustes lag bei allen fünf Patienten zwischen dem 27. und 82. Tag nach Inselzelltransplantation (Abb. 3).

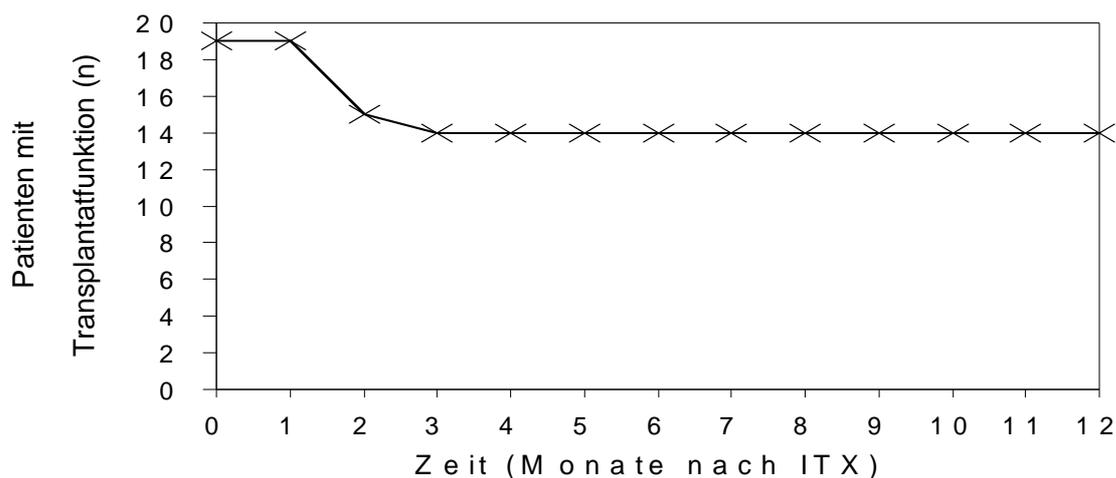


Abb. 3: Vorliegen einer Inselzelltransplantatfunktion nach Inselzelltransplantation (ITX), Verlauf über 12 Monate nach ITX bei 19 Patienten.

3.2 Leukozyten und Lymphozytensubsets bei Inselzelltransplantierten

In den Abb. 4 - Abb. 17 sind die Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen pro μl Vollblut von Leukozyten und Lymphozytensubsets bei 20 Patienten, über einen Zeitraum von sieben Tagen vor Inselzelltransplantation bis zwölf Monaten nach Inselzelltransplantation, dargestellt.

a) Leukozyten

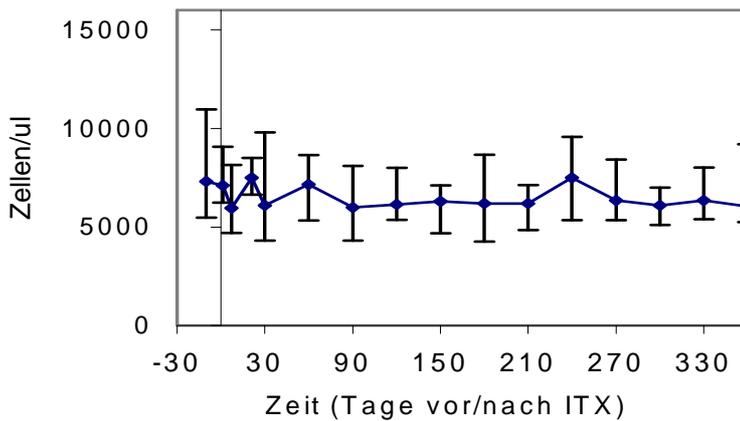


Abb. 4: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von Leukozyten/ μl Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

b) Monozyten

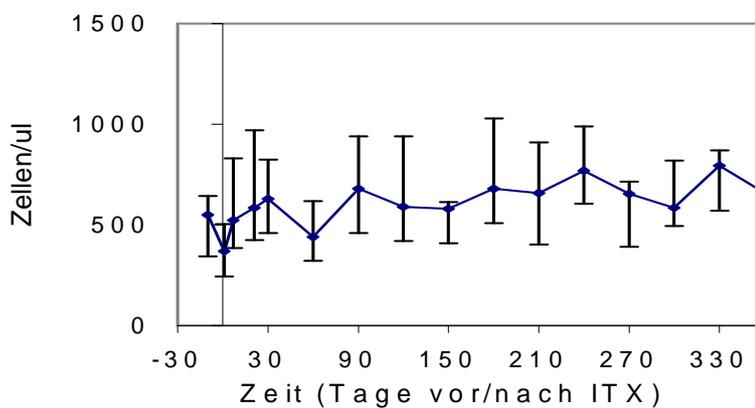


Abb. 5: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von Monozyten/ μl Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

c) **Lymphozyten**

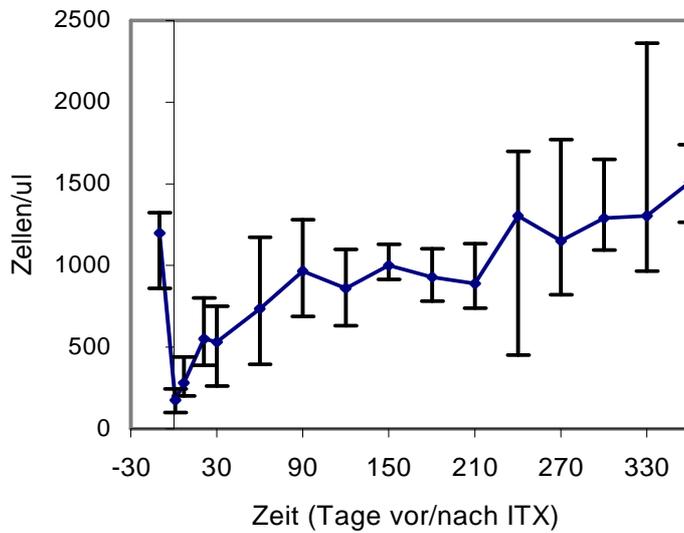


Abb. 6: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von Lymphozyten/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

d) **CD3+ Zellen**

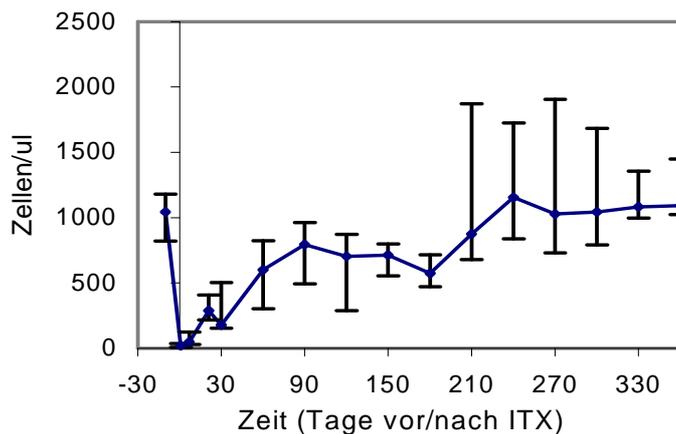


Abb. 7: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD3+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

e) **CD19+ Zellen**

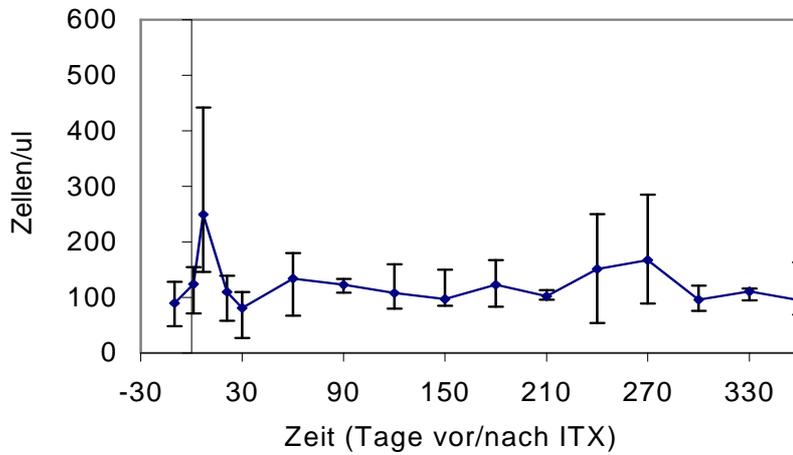


Abb. 8: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD19+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

f) **CD56+ CD3- Zellen**

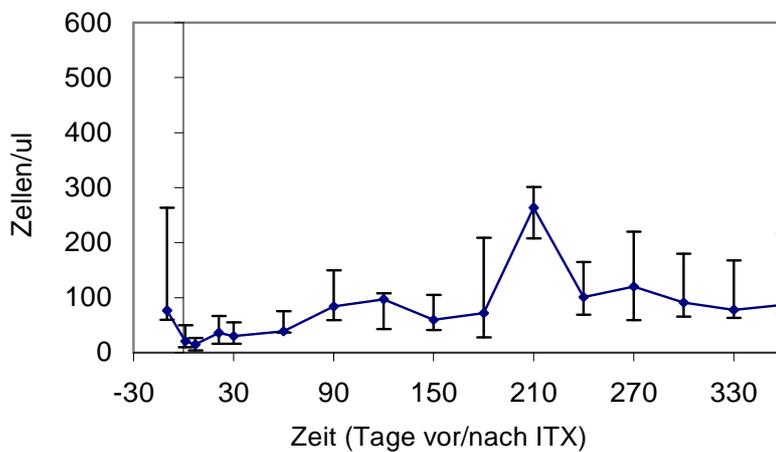


Abb. 9: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD56+ CD3- Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

g) CD4+ Zellen

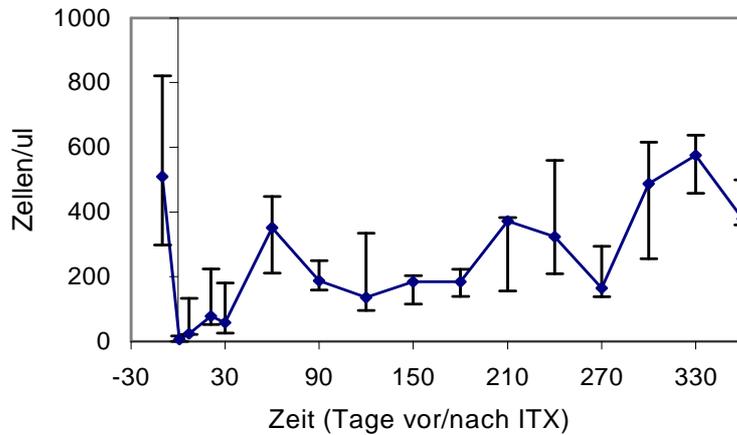


Abb. 10: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

h) CD4+ HLA-DR+ Zellen

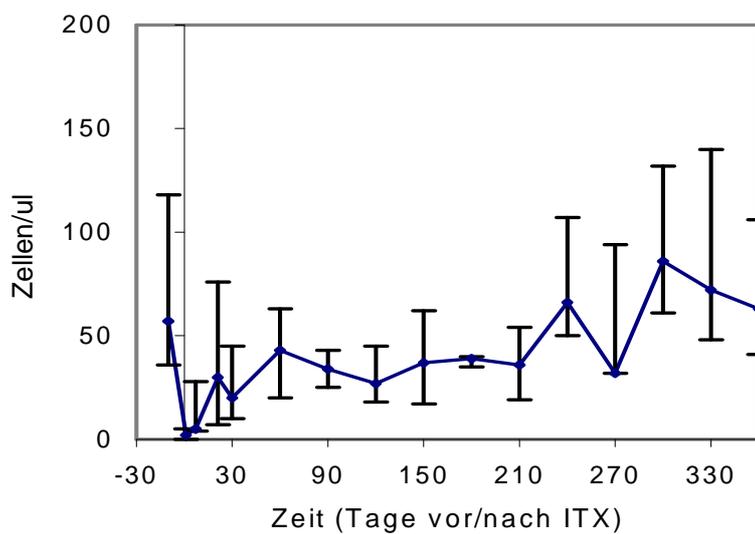


Abb. 11: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ HLA-DR+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

i) CD4+ CD45 RO+ Zellen

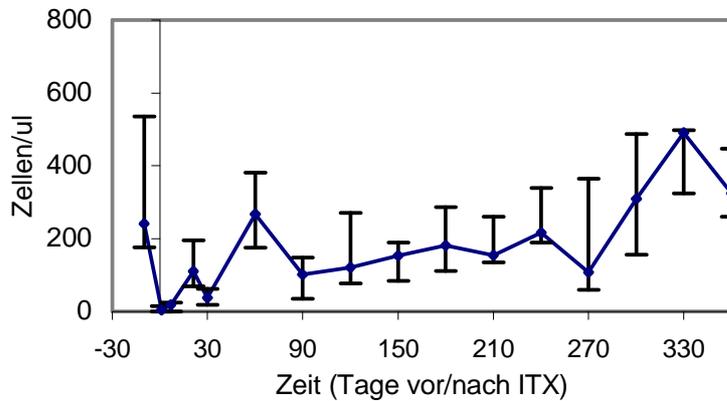


Abb. 12: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ CD45 RO+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

j) CD4+ CD122+ Zellen

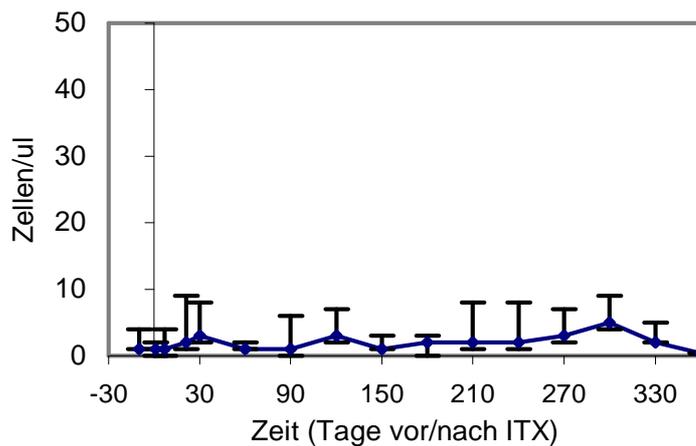


Abb. 13: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ CD122+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

k) TCR alpha/beta+ Zellen

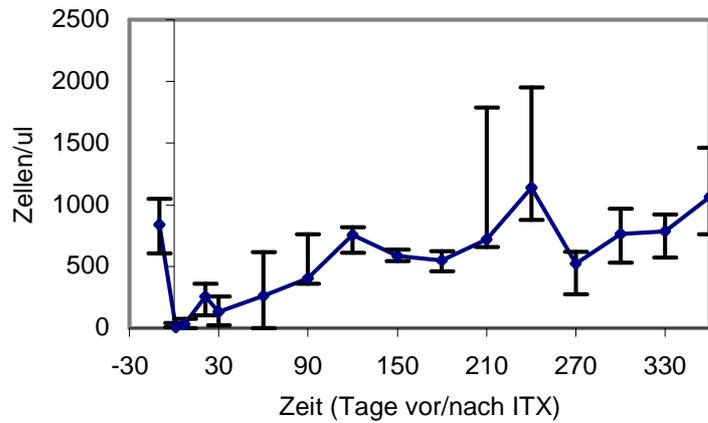


Abb. 14: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von TCR alpha/beta+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

l) TCR gamma/delta+ Zellen

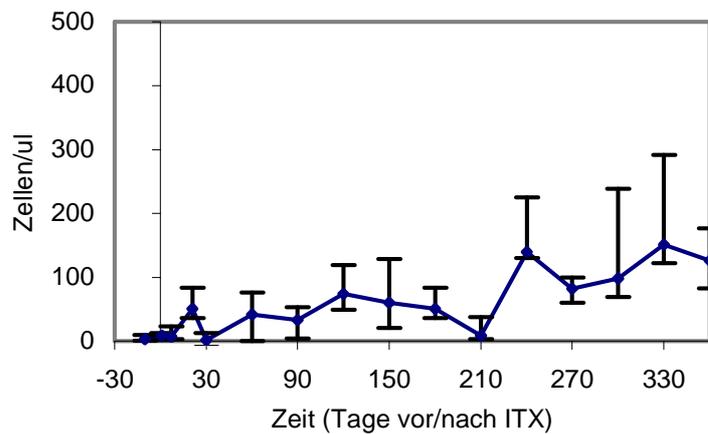


Abb. 15: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von TCR gamma/delta+ Zellen/ μ l Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

m) CD3+ CD71+ Zellen

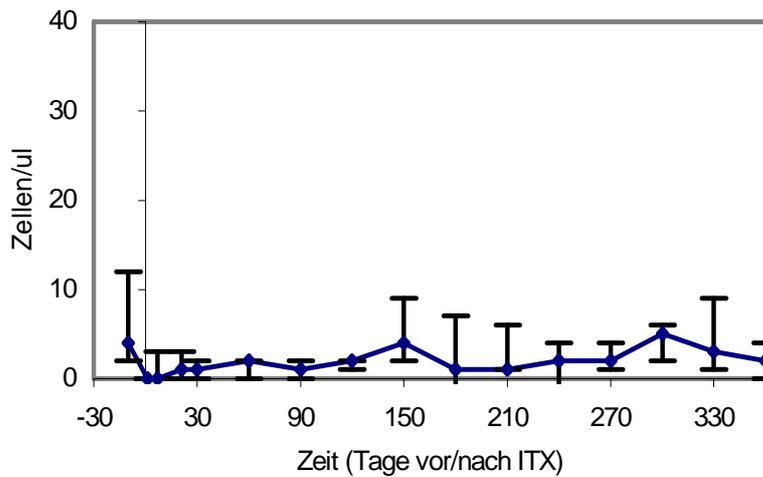


Abb. 16: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD3+ CD71+ Zellen/μl Blut bei 20 Patienten vor und nach Inselzelltransplantation (ITX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Inselzelltransplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

3.3 Lymphozytensubsets bei gesunder Kontrollgruppe

	Median	25 % - 75 % Perzentile
Lymphozyten	3120	2204-3497
CD3+	2260	1763-2725
CD19+	404	265-510
CD56+ CD3-	224	171-292
CD4+	1279	839-1528
CD4+ CD45 RO+	675	367-756
CD4+ CD122+	0	0-3
TCR alpha/beta+	3055	2389-3402
TCR gamma/delta+	139	85-210
CD3+ CD71+	1	0-5

Tab. 4: Mediane mit 25% Perzentilen und 75% Perzentilen der Zellzahlen/μl Blut von Lymphozyten und Lymphozytensubsets bei zehn Probanden einer gesunden Kontrollgruppe.

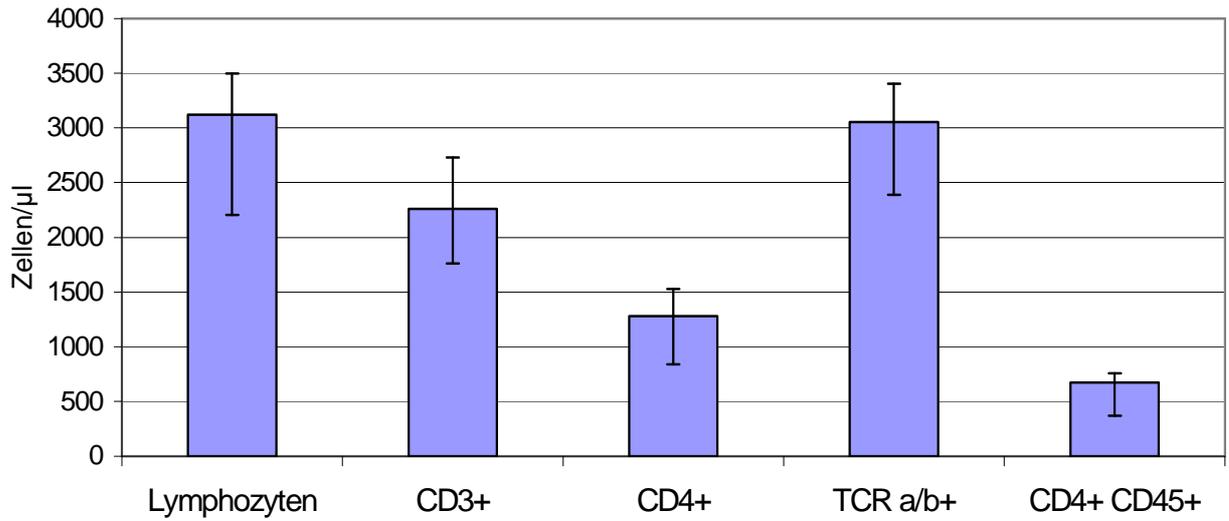


Abb. 17: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen/µl Blut von Lymphozyten und Lymphozytensubsets bei zehn Probanden bei einer gesunden Kontrollgruppe.

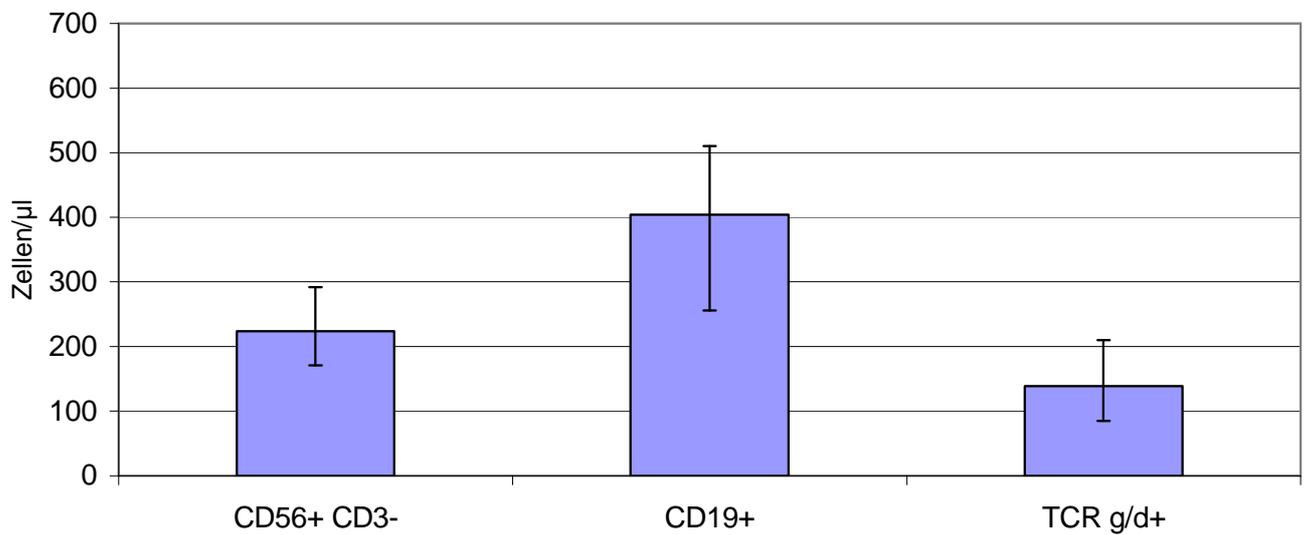


Abb. 18: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen/µl Blut von Lymphozytensubsets bei zehn Probanden einer gesunden Kontrollgruppe.

3.4 Lymphozytensubsets bei Nierentransplantierten

In den Abb. 19 - Abb. 27 sind die Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen/ μl Vollblut von Leukozyten und Lymphozytensubsets bei zehn Patienten über einen Zeitraum von sieben Tagen vor Nierentransplantation (NTX) bis sechs Monaten nach NTX dargestellt.

a) Lymphozyten

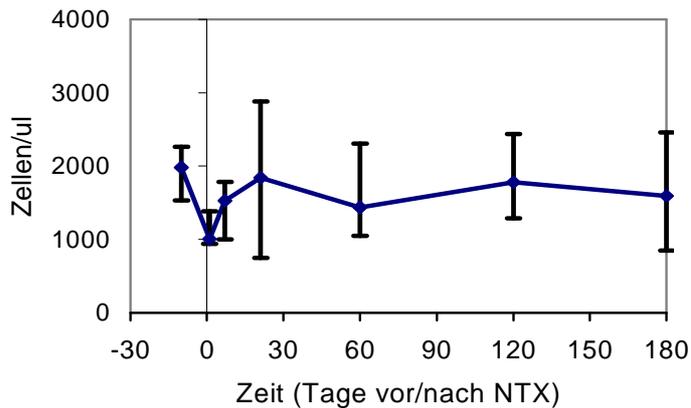


Abb. 19: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von Lymphozyten/ μl Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

b) CD3+ Zellen

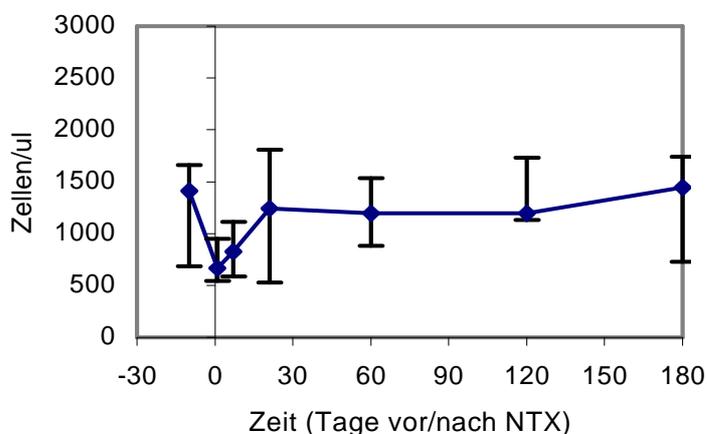


Abb. 20: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD3+ Zellen/ μl Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

c) **CD19+ Zellen**

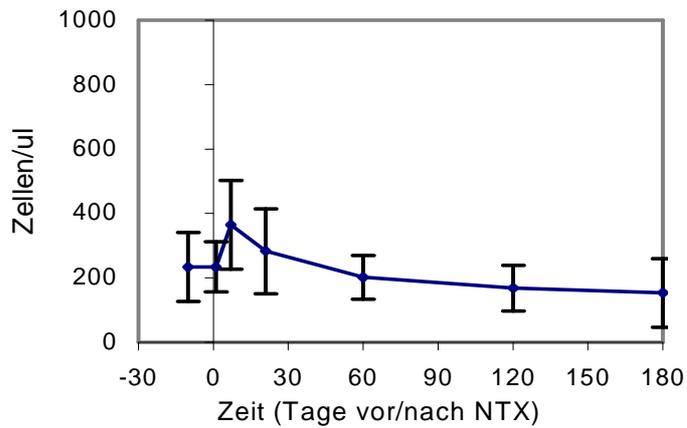


Abb. 21: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD19+ Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

d) **CD56+ CD3- Zellen**

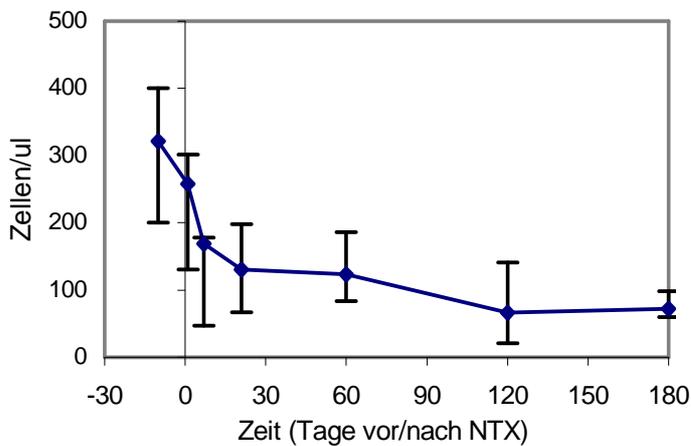


Abb. 22: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD56+ CD3- Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

e) **CD4+ Zellen**

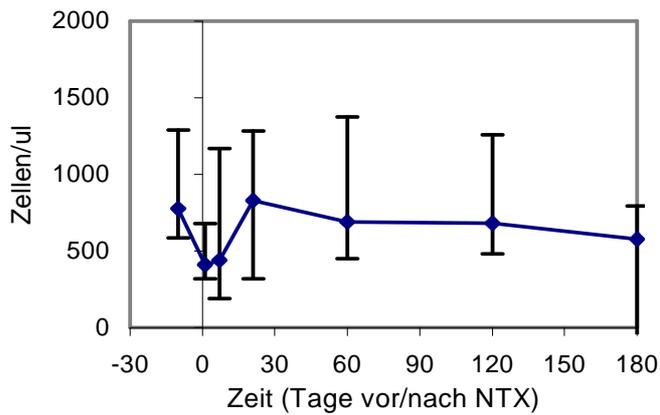


Abb. 23: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

f) **CD4+CD45 RO+ Zellen**

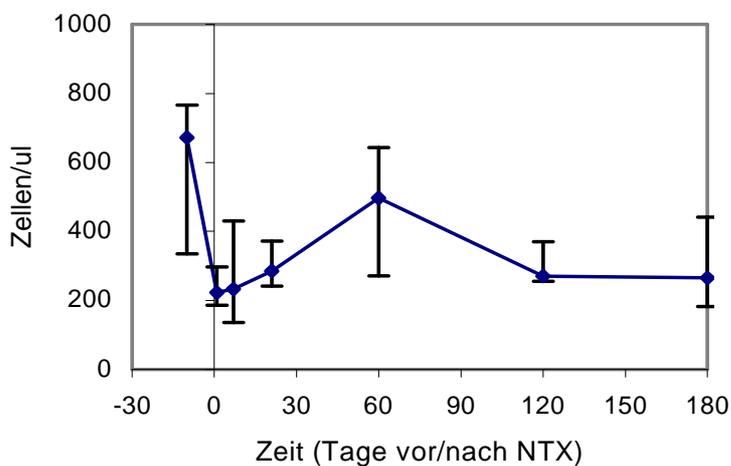


Abb. 24: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ CD45 RO+ Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

g) CD4+ CD122+ Zellen

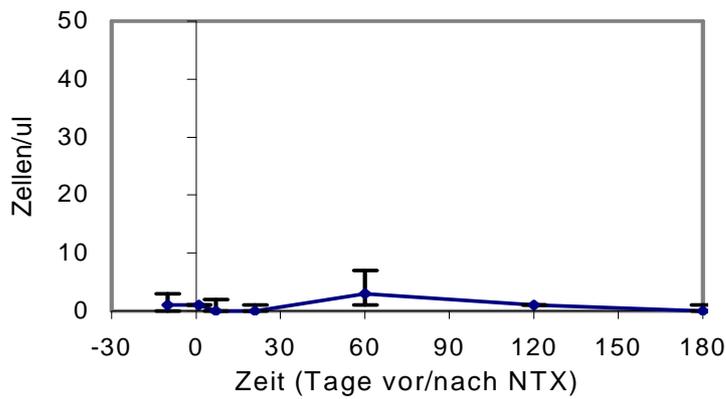


Abb. 25: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von CD4+ CD122+ Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

h) TCR alpha/beta+ Zellen

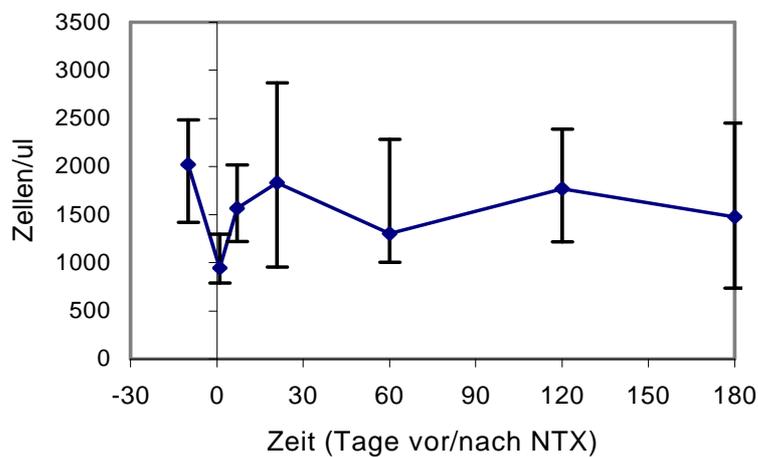


Abb. 26: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von TCR alpha/beta+ Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Die Zeit in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

i) TCR gamma/delta+ Zellen

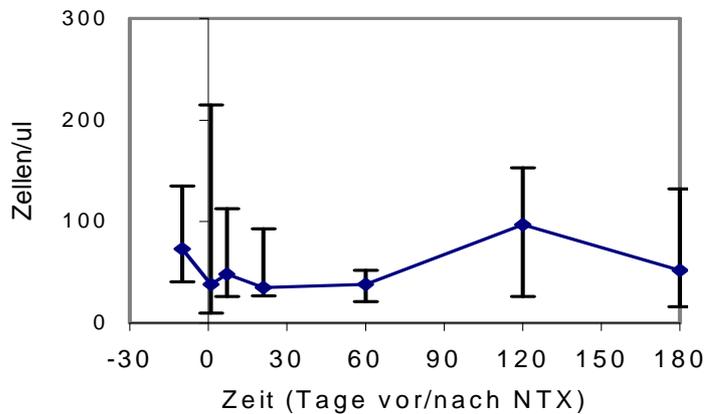


Abb. 27: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von TCR gamma/delta+ Zellen/ μ l Blut bei zehn Patienten vor und nach Nierentransplantation (NTX). Zeit ist in Tagen vor bzw. nach Transplantation angegeben, Zeitpunkt der Transplantation ist Tag 0.

3.5 Ciclosporinblutspiegel bei Patienten im ersten Jahr nach Inselzelltransplantation

Ciclosporinblutspiegel (in ng/ml) wurden bei den Inselzelltransplantationspatienten zu mehreren Zeitpunkten im Verlauf des ersten Jahres nach Transplantation bestimmt. Zwei Patientengruppen werden verglichen: 13 Inselzelltransplantationspatienten mit Transplantatfunktion nach einem Jahr und sechs Patienten ohne Transplantatfunktion nach einem Jahr.

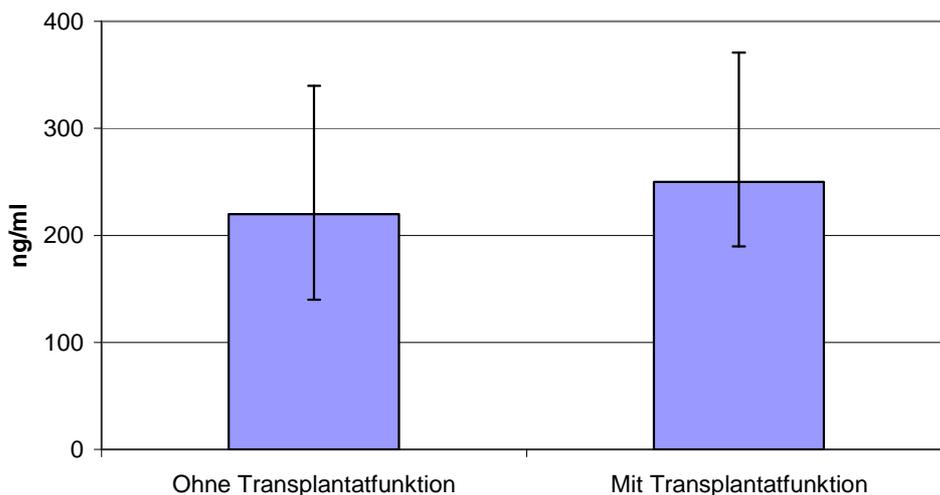


Abb. 28: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der im Verlauf des ersten Jahres nach ITX gemessenen Ciclosporinblutspiegel (in ng/ml) bei Patienten mit Inselzelltransplantatfunktion ein Jahr nach ITX und Patienten ohne Inselzelltransplantatfunktion ein Jahr nach ITX.

Ein statistischer Vergleich der Ciclosporinblutspiegel, gemessen an verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf des ersten Jahres nach Inselzelltransplantation, ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe der Patienten mit Inselzelltransplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation und der Gruppe der Patienten ohne Inselzelltransplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

3.6 Vergleich der Patienten mit Inselzellfunktion gegen Patienten, die ihre Inselzellfunktion im Verlauf des ersten Jahres verloren haben

Die Zellzahlen von Leukozyten und Lymphozytensubsets von Patienten, die eine Inselzellfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation hatten, werden mit den Zellzahlen der Patienten, die die Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Inselzelltransplantation verloren hatten, an je einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und je fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1; +7; +21; +30; +60) verglichen. Die Zeit ist in Tagen skaliert. Unterschiede zwischen den Patientengruppen werden auf statistische Signifikanz getestet. In den Tabellen 5 - 16 sind die Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen pro μl Vollblut für beide Patientengruppen zu den entsprechenden Zeitpunkten angegeben sowie die P-Werte der statistischen Vergleiche zwischen den beiden Gruppen.

- Gruppe A: Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (n = 14)
- Gruppe B: Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (n = 5)

a) Leukozyten

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	6800 (5400-9022)	7100 (5750-8400)	5300 (4800-7500)	7300 (5300-1000)	5500 (4300-8600)	6750 (5300-9032)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	7900 (5500-8600)	6650 (5143-8000)	4600 (4150-8750)	6100 (4500-7000)	8600 (6625-10625)	7150 (6350-8950)
P-Wert	1.0	0.32	0.57	0.39	0.30	0.86

Tab. 5: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der Leukozyten. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75% P) der Zellzahlen/ μ l Blut für die beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

b) Monozyten

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	560 (383-656)	360 (238-458)	490 (220-810)	585 (413-970)	520 (400-656)	780 (380-865)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	550 (470-560)	375 (285-480)	700 (538-863)	425 (358-560)	680 (508-865)	600 (570-638)
P-Wert	0.82	0.95	0.23	0.21	0.52	0.85

Tab. 6: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der Monozyten. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

c) **Lymphozyten**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	1240 (945-1568)	195 (123-260)	420 (353-520)	525 (373-800)	350 (253-570)	900 (625-1140)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	1200 (940-1250)	140 (130-190)	190 (185-225)	490 (400-610)	675 (583-830)	810 (373-1180)
P-Wert	0.96	0.84	0.05	0.86	0.08	0.75

Tab. 7: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der Lymphozyten. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

d) **CD3+ Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	1013 (581-1171)	7 (1-14)	36 (35-92)	52 (10-123)	155 (124-249)	1035 (537-1060)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	1043 (932-1699)	26 (13-41)	52 (10-123)	35 (35-92)	504 (342-690)	646 (520-709)
P-Wert	0.68	0.60	0.95	1.0	0.17	0.52

Tab. 8: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD3+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

e) **CD19+ Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	81 (46-123)	143 (105-180)	378 (231-445)	122 (97-178)	54 (26-100)	162 (67-180)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	119 (89-581)	108 (73-114)	132 (72-142)	166 (130-178)	107 (35-240)	122 (88-128)
P-Wert	0.32	0.14	0.82	0.62	0.26	0.52

Tab. 9: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD19+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

f) **CD56+ CD3- Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	82 (50-271)	21 (14-29)	24 (6-31)	40 (10-55)	fehlende Werte	57 (38-98)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	72 (67-74)	21 (14-28)	9 (6-11)	21 (14-29)	fehlende Werte	3 (3-27)
P-Wert	0.57	0.77	0.38	0.70		0.16

Tab. 10: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD56+ CD3- Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

g) CD4+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	437 (239-774)	1 (0-4)	24 (22-200)	115 (41-281)	40 (21-53)	216 (106-337)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	688 (437-880)	9 (2-24)	32 (21-49)	79 (60-147)	128 (50-505)	477 (415-593)
P-Wert	0.53	0.17	0.87	1.00	0.35	0.10

Tab. 11: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

h) CD4+ HLA-DR+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	56 (13-197)	2 (-3-29)	5 (-27-24)	34 (9-117)	16 (5-44)	39 (21-73)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	62 (-281-405)	1 (-3-7)	3 (-122-200)	5 (-16-61)	21 (-23-76)	46 (-38-111)
P-Wert	0.99	0.66	0.77	0.15	0.9	0.78

Tab. 12: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ HLA-DR+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

i) CD4+ CD45 RO+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	239 (134-496)	6 (1-17)	16 (0-31)	137 (66-209)	fehlende Werte	262 (142-368)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	512 (382-704)	1 (0-1)	20 (15-25)	54 (47-132)	fehlende Werte	262 (199-349)
P-Wert	0.33	0.13	0.84	0.52		1.00

Tab. 13: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ CD45 RO+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

j) CD4+ CD122+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	2 (0-8)	1 (0-2)	1 (0-7)	1 (0-3)	fehlende Werte	1 (1-2)
Gruppe B						
Median (25-75%P)	1 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-2)	2 (0-17)	fehlende Werte	1 (1-2)
P-Wert	0.33	0.95	0.54	0.68		1.00

Tab. 14: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ CD122+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

k) TCR alpha/beta+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	834 (403-919)	16 (1-32)	46 (21-74)	174 (18-363)	fehlende Werte	fehlende Werte
Gruppe B						
Median (25-75%P)	1028 (892-1644)	1 (1-2)	15 (8-76)	268 (256-280)	fehlende Werte	fehlende Werte
P-Wert	0.38	0.37	0.63	0.65		

Tab. 15: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der TCR alpha/beta+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

l) TCR gamma/delta+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+30	+60
Gruppe A						
Median (25-75%P)	27 (10-62)	4 (0-10)	7 (0-9)	21 (10-40)	fehlende Werte	fehlende Werte
Gruppe B						
Median (25-75%P)	65 (40-80)	1 (1-6)	6 (0-14)	4 (1-26)	fehlende Werte	fehlende Werte
P-Wert	0.38	0.86	0.68	0.32		

Tab. 16: Vergleich von Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (Gruppe A) vs. Patienten mit Verlust der Inselzellfunktion im ersten Jahr nach Transplantation (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der TCR gamma/delta+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut der beiden Patientengruppen sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1 Tag) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation angegeben (Zeit: +1 bis +60 Tage) und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

3.7 Vergleich der Inselzelltransplantierten mit gesunder Kontrollgruppe

Zellzahlen von Leukozyten und Lymphozytensubsets der Inselzelltransplantierten werden zu einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und 15 Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +360) mit den Zellzahlen einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Die Zeit ist in Tagen skaliert. Bei der gesunden Kontrollgruppe wurden nur zu einem Zeitpunkt die Zellzahlen bestimmt. Unterschiede zwischen den Patientengruppen werden auf statistische Signifikanz getestet. In den Tabellen 17 - 26 sind die Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen pro μl Vollblut in beiden Patientengruppen zu den entsprechenden Zeitpunkten angegeben sowie die P-Werte der statistischen Vergleiche zwischen den beiden Gruppen.

- Gruppe A: Inselzelltransplantationspatienten (n = 20)
- Gruppe B: Gesunde Kontrollgruppe (n = 10)

a) Lymphozyten

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A Median (25-75%P)	1190 (850-1315)	175 (100-245)	275 (198-435)	550 (390-800)	530 (260-750)	735 (395-1173)	965 (688-1280)	860 (630-1100)	1000 (915-1130)	930 (780-1103)	890 (740-1133)	1305 (1220-1700)	1150 (820-1770)	1290 (1095-1650)	1305 (965-2360)	1510 (1265-1740)
Gruppe B Median (25-75%P)	3120 (2204-3497)															
P-Wert	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.001	<0.0 01	<0.001	0.01	0.001

Tab. 17: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der Lymphozyten. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μl Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

b) CD3+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A																
Median (25-75%P)	1043 (820-1181)	18 (5-37)	49 (28-124)	288 (217-409)	179 (152-504)	599 (273-767)	794 (293-825)	704 (289-872)	714 (553-797)	574 (471-718)	877 (806-1870)	1155 (839-1724)	1029 (384-2093)	1044 (792-1683)	1082 (995-1355)	1093 (1024-1448)
Gruppe B																
Median (25-75%P)	2260 (1763-2725)															
P-Wert	0.005	<0.001	<0.001	0.002	0.003	0.001	0.02	<0.001	0.004	0.008	0.06	0.02	0.04	0.65	0.02	0.008

Tab. 18: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD3+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

c) CD19+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A																
Median (25-75%P)	90 (47-127)	124 (72-155)	249 (147-443)	110 (23-245)	81 (27-110)	134 (67-180)	123 (110-133)	108 (80-160)	97 (85-150)	123 (84-168)	102 (96-113)	151 (54-256)	167 (89-285)	96 (77-127)	111 (96-117)	95 (69-163)
Gruppe B																
Median (25-75%P)	404 (265-510)															
P-Wert	<0.001	<0.001	0.13	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	0.003	0.006	0.22	0.001	0.004	<0.001

Tab. 19: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD19+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

d) CD56+ CD3- Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A																
Median (25-75%P)	77 (60-264)	21 (9-49)	15 (4-27)	36 (16-67)	30 (16-55)	39 (37-75)	84 (59-150)	97 (43-108)	60 (41-105)	72 (29-209)	264 (209-302)	101 (69-165)	120 (39-301)	91 (65-180)	78 (63-168)	87 (73-218)
Gruppe B																
Median (25-75%P)	224 (171-292)															
P-Wert	0.18	<0.001	<0.001	<0.001	0.006	0.01	0.001	0.04	0.03	0.33	0.83	0.09	0.19	0.27	0.28	0.36

Tab. 20: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD56+ CD3- Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

e) CD4+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A																
Median (25-75%P)	510 (298-823)	5 (0-16)	24 (22-133)	77 (52-224)	58 (26-181)	352 (211-448)	187 (160-249)	135 (114-352)	184 (115-203)	193 (149-232)	372 (156-383)	324 (227-577)	165 (138-294)	487 (256-616)	575 (459-638)	379 (360-499)
Gruppe B																
Median (25-75%P)	1279 (839-1528)															
P-Wert	0.02	<0.001	<0.001	0.004	0.001	0.006	0.05	<0.001	0.003	0.008	0.02	0.02	0.06	0.03	0.01	0.01

Tab. 21: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

f) CD4+ CD45 RO+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A Median (25-75%P)	241 (176-535)	4 (0-13)	18 (0-25)	89 (47-174)	38 (18-61)	267 (174-370)	101 (35-148)	121 (77-272)	153 (85-190)	181 (111-286)	154 (134-260)	216 (189-339)	107 (59-364)	310 (155-487)	490 (325-497)	323 (261-446)
Gruppe B Median (25-75%P)	675 (367-756)															
P-Wert	0.03	<0.001	<0.001	0.009	<0.001	0.013	0.004	0.003	0.002	0.07	0.03	0.03	0.09	0.1	0.26	0.14

Tab. 22: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ CD45 RO+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

g) CD4+ CD122+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A Median (25-75%P)	1 (1-8)	1 (0-1)	1 (1-4)	1 (0-8)	3 (2-7)	1 (0-3)	1 (0-6)	3 (2-7)	1 (1-3)	2 (0-3)	2 (1-8)	2 (2-3)	3 (0-8)	5 (4-9)	2 (2-5)	1 (1-1)
Gruppe B Median (25-75%P)	0 (0-3)															
P-Wert	0.12	0.93	0.51	0.37	0.10	0.33	0.44	0.03	0.23	0.41	0.13	0.23	0.46	0.007	0.28	0.54

Tab. 23: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ CD122+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

h) TCR alpha/beta+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A Median (25-75%P)	842 (610-1048)	8 (1-31)	34 (2-74)	256 (103-363)	133 (25-256)	264 (0-616)	405 (363-761)	755 (4613-821)	588 (544-635)	551 (462-624)	718 (658-1787)	1140 (876-1951)	523 (273-616)	767 (533-971)	787 (576-924)	1063 (560-1226)
Gruppe B Median (25-75%P)	3055 (2389-3402)															
P-Wert	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	<0.0 01	0.00 4	0.00 9	0.00 4	0.004	<0.0 01	0.00 1	0.00 1

Tab. 24: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der TCR alpha/beta+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

i) TCR gamma/delta+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A Median (25-75%P)	3 (1-10)	9 (5-25)	7 (0-10)	51 (36-84)	2 (1-13)	42 (0-76)	33 (4-53)	74 (49-119)	60 (22-130)	51 (36-84)	9 (3-38)	140 (135-225)	82 (0-156)	98 (20-198)	151 (123-293)	126 (83-177)
Gruppe B Median (25-75%P)	139 (85-210)															
P-Wert	0.03	<0.0 01	<0.0 01	0.18	<0.0 01	0.04	<0.0 01	0.31	0.14	0.17	0.00 7	0.55	0.35	0.59	0.78	0.95

Tab. 25: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der TCR gamma/delta+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

j) CD3+ CD71+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	1	7	21	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360
Gruppe A Median (25-75%P)	4 (2-13)	0 (0-0)	0 (0-3)	1 (0-4)	1 (0-2)	2 (0-2)	1 (1-1)	2 (1-2)	4 (2-9)	1 (1-6)	2 (1-4)	2 (1-4)	4 (2-5)	5 (2-6)	3 (1-10)	2 (0-4)
Gruppe B Median (25-75%P)	1 (0-5)															
P-Wert	0.15	0.19	0.5	0.9	0.96	0.83	0.72	0.63	0.13	0.52	0.77	0.78	0.66	0.41	0.57	0.9

Tab. 26: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. gesunde Kontrollgruppe (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD3+ CD71+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind für Gruppe A zu einem Zeitpunkt vor Inselzelltransplantation (Zeit: -1 Tag) und an 15 Zeitpunkten nach Inselzelltransplantation (Zeit: +1 bis +360 Tag) angegeben und die P-Werte der jeweiligen statistischen Vergleiche zu den Zellzahlen der Kontrollgruppe (Gruppe B).

3.8 Vergleich der Inselzelltransplantierten mit Nierentransplantierten

Zellzahlen von Lymphozyten und Lymphozytensubsets von Inselzelltransplantierten werden mit den Zellzahlen von Nierentransplantierten an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit:-1) und sieben Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1; +7; +21; +60; +120; +180) verglichen. Die Zeit ist in Tagen skaliert. Unterschiede werden auf statistische Signifikanz getestet. In den Tabellen 27 - 35 sind die Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen pro μ l Vollblut in beiden Patientengruppen zu den entsprechenden Zeitpunkten angegeben sowie die P-Werte der statistischen Vergleiche zwischen den beiden Gruppen.

- Gruppe A: Inselzelltransplantationspatienten (n = 20)
- Gruppe B: Nierentransplantationspatienten (n = 10)

a) **Lymphozyten**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median	1190	175	275	550	735	860	930
25-75%P	(850-1315)	(100-245)	(198-435)	(390-800)	(395-1173)	(630-1100)	(780-1103)
Gruppe B							
Median	1981	1005	1528	1840	1440	1779	1593
(25-75%P)	(1534-2261)	(936-1381)	(998-1784)	(746-2879)	(1049-2305)	(1290-243)	(849-2458)
Zeit (Tage)	0.008	<0.001	<0.001	0.004	0.02	0.001	0.18

Tab. 27: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der Lymphozyten. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

b) **CD3+ Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median	1043	18	49	288	599	704	574
(25-75%P)	(820-1181)	(5-37)	(28-124)	(217-409)	(273-767)	(289-872)	(471-718)
Gruppe B							
Median	1411	665	826	1243	1196	1196	1443
(25-75%P)	(687-725)	(543-951)	(584-1113)	(528-1808)	(779-1435)	(1136-1735)	(733-1711)
Zeit (Tage)	0.24	<0.001	<0.001	0.03	0.001	0.001	0.02

Tab. 28: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD3+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (in Klammern) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

c) **CD19+ Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	81 (46-125)	132 (101-135)	266 (116-443)	130 (97-177)	122 (58-168)	108 (79-108)	123 (84-167)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	224 (142-362)	234 (128-433)	365 (227-694)	283 (166-708)	202 (134-341)	368 (97-168)	153 (47-501)
Zeit (Tage)	0.005	0.08	0.24	0.009	0.06	0.29	0.85

Tab. 29: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD19+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

d) **CD56+ CD3- Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	77 (60-264)	21 (9-49)	15 (4-27)	15 (4-27)	30 (16-55)	97 (43-108)	72 (29-209)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	321 (129-610)	258 (129-300)	169 (47-178)	130 (66-193)	125 (85-188)	66 (49-100)	71 (59-97)
Zeit (Tage)	0.013	<0.001	0.002	0.003	0.017	0.66	0.94

Tab. 30: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD56+ CD3- Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

e) **CD4 + Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	510 (298-823)	5 (0-16)	24 (22-133)	77 (52-224)	352 (211-448)	135 (114-352)	193 (149-232)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	776 (585-1290)	410 (318-697)	440 (189-1170)	831 (318-1283)	690 (449-1375)	682 (481-1258)	578 (263-801)
Zeit (Tage)	0.03	<0.001	0.005	0.005	0.04	<0.001	0.006

Tab. 31: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

f) **CD4+ CD45 RO+ Zellen**

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	241 (176-535)	4 (0-13)	18 (0-25)	89 (47-174)	267 (174-370)	121 (77-272)	181 (111-286)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	672 (335-766)	234 (187-296)	233 (137-430)	285 (242-372)	497 (272-642)	270 (265-370)	265 (183-442)
Zeit (Tage)	0.15	<0.001	0.002	0.08	0.10	0.05	0.25

Tab. 32: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ CD45 RO+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/µl Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

g) CD4+ CD122+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	1 (1-8)	1 (0-1)	1 (1-4)	1 (0-8)	1 (0-3)	3 (2-7)	2 (0-3)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	1 (0-3)	1 (1-1)	0 (0-2)	0 (0-1)	3 (1-7)	1 (1-1)	0 (0-1)
Zeit (Tage)	0.5	0.15	0.4	0.2	0.14	0.11	0.18

Tab. 33: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der CD4+ CD122+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

h) TCR alpha/beta+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	842 (610-1048)	8 (1-31)	34 (2-74)	256 (103-363)	264 (0-616)	755 (4613-821)	551 (462-624)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	2020 (1419-2486)	946 (812-1318)	1596 (1252-2047)	1831 (958-2873)	1305 (1009-2282)	1771 (1217-2388)	1480 (737-2454)
Zeit (Tage)	0.02	<0.001	<0.001	0.009	<0.001	<0.001	0.03

Tab. 34: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der TCR alpha/beta+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

i) TCR gamma/delta+ Zellen

Zeit (Tage)	-1	+1	+7	+21	+60	+120	+180
Gruppe A							
Median (25-75%P)	3 (1-10)	9 (5-25)	7 (0-10)	51 (36-84)	42 (0-76)	74 (49-119)	51 (36-84)
Gruppe B							
Median (25-75%P)	73 (30-125)	38 (11-215)	48 (26-113)	35 (27-92)	38 (32-49)	97 (26-153)	52 (16-132)
Zeit (Tage)	0.21	0.09	<0.001	0.03	0.90	0.72	0.94

Tab. 35: Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten (Gruppe A) vs. Nierentransplantationspatienten (Gruppe B) hinsichtlich der Zellzahl der TCR gamma/delta+ Zellen. Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor Transplantation (Zeit: -1) und an fünf Zeitpunkten nach Transplantation (Zeit: +1 bis +180) für beide Gruppen angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche zu diesen Zeitpunkten.

3.9 Vergleich von Leukozyten und Lymphozytensubsets bei Inselzelltransplantierten vor und nach Transplantation

Zellzahlen von Leukozyten und Lymphozytensubsets bei 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation („vor TX“) werden mit den Zellzahlen an 15 Zeitpunkten (Zeit: +1 bis +360) nach Transplantation („nach TX“) verglichen. Die Zeit ist in Tagen skaliert. Unterschiede werden auf statistische Signifikanz getestet.

In den Tabellen 36 - 48 sind die Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen pro μ l Vollblut zu den unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach Inselzelltransplantation angegeben sowie die P-Werte der statistischen Vergleiche zwischen den Zellzahlen vor und nach Inselzelltransplantation.

a) Leukozyten

Vor TX Median (25- 75%P)	7300 (5477-10975)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25- 75%P)	7100 (6250- 9715)	5950 (4760 - 8150)	6400 (5650 - 7400)	6100 (4300 - 9800)	7150 (5325 - 8650)	6000 (4300 - 8100)	7500 (5375- 8000)	6300 (4675 - 7100)	6200 (4250 - 8675)	6190 (4850 - 7125)	7500 (5350- 9575)	6350 (5350 - 8425)	6100 (5100 - 7000)	6350 (5406 - 8025)	6050 (5250 - 9200)
P-Wert	0.92	0.13	0.56	0.28	0.64	0.23	0.79	0.16	0.32	0.40	0.80	0.51	0.23	0.30	0.50

Tab. 36: Vergleich der Leukozytenzellzahlen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

b) Monozyten

Vor TX Median (25- 75%P)	550 (385-685)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	370 (245- 505)	523 (388- 833)	585 (425- 970)	630 (460- 825)	440 (323- 618)	680 (460- 940)	590 (434- 874)	580 (434- 874)	680 (400- 910)	659 (434- 911)	770 (605- 990)	655 (393- 715)	585 (495- 820)	795 (550- 855)	660 (608- 763)
P-Wert	0.06	0.95	0.40	0.34	0.45	0.15	0.45	0.56	0.06	0.09	0.06	0.78	0.40	0.06	0.06

Tab. 37: Vergleich der Monozytenzellzahlen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

c) **Lymphozyten**

Vor TX Median (25-75%P)	1190 (850-1315)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	175 (100-245)	275 (198-435)	550 (390-800)	530 (260-750)	735 (395-1173)	965 (688-1280)	860 (630-1100)	1000 (915-1130)	930 (780-1103)	890 (740-1133)	1305 (1220-1700)	1150 (820-1770)	1290 (1095-1650)	1305 (965-2360)	1510 (1265-1740)
P-Wert	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.08	0.43	0.14	0.14	0.15	0.41	0.22	1	0.42	0.29	0.09

Tab. 38: Vergleich der Lymphozytenzellzahlen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

d) **CD3+ Zellen**

Vor TX Median (25-75%P)	2260 (1763-2725)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	18 (5-37)	49 (28-124)	288 (217-409)	179 (152-504)	599 (273-767)	794 (293-825)	704 (289-872)	714 (553-797)	574 (471-718)	877 (806-1870)	1155 (839-1724)	1029 (384-2093)	1044 (792-1683)	1082 (995-1355)	1093 (1024-1448)
P-Wert	<0.001	<0.001	0.008	0.004	0.04	0.19	0.03	0.06	0.03	0.82	0.45	0.45	0.67	0.76	0.40

Tab. 39: Vergleich der Zellzahlen CD3+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

e) **CD19+ Zellen**

Vor TX Median (25-75%P)	90 (47-127)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	124 (72-155)	249 (147-443)	110 (23-245)	81 (27-110)	134 (67-180)	123 (110-133)	108 (80-160)	97 (85-150)	123 (84-168)	102 (96-113)	151 (54-256)	167 (89-285)	96 (77-127)	111 (96-117)	95 (69-163)
P-Wert	0.42	0.02	0.23	0.32	0.46	0.30	0.40	0.58	0.58	0.60	0.66	0.17	0.72	0.81	0.82

Tab. 40: Vergleich der Zellzahlen C19+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

f) **CD56+ CD3- Zellen**

Vor TX Median (25-75%P)	77 (60-264)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	21 (9-49)	15 (4-27)	36 (16-67)	30 (16-55)	39 (37-75)	84 (59-150)	97 (43-108)	60 (41-105)	72 (29-209)	264 (209-302)	101 (69-165)	120 (39-301)	91 (65-180)	78 (63-168)	87 (73-218)
P-Wert	<0.001	<0.001	0.009	0.02	0.06	0.9	0.87	0.38	0.71	0.14	0.92	0.82	1	1	0.8

Tab. 41: Vergleich der Zellzahlen CD56+ CD3- Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

g) CD4+ Zellen

Vor TX Median (25-75%P)	510 (298-823)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	5 (0-16)	24 (22-133)	77 (52-224)	58 (26-181)	352 (211-448)	187 (160-249)	135 (114-352)	184 (115-203)	193 (149-232)	372 (156-383)	324 (227-577)	165 (138-294)	487 (256-616)	575 (459-638)	379 (360-499)
P-Wert	<0.0 01	0.00 6	0.01	0.01	0.31	0.20	0.09	0.02	0.5	0.3	0.5	0.6	0.2	0.7	0.6

Tab. 42: Vergleich der Zellzahlen CD4+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

h) CD4+ CD45 RO+ Zellen

Vor TX Median (25-75%P)	241 (176-535)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	4 (0-13)	18 (0-25)	89 (47-174)	38 (18-61)	267 (174-370)	101 (35-148)	121 (77-272)	153 (85-190)	181 (111-286)	154 (134-260)	216 (189-339)	107 (59-364)	310 (155-487)	490 (325-497)	323 (261-446)
P-Wert	<0.00 1	<0.0 01	0.03	0.00 9	0.79	0.07	0.1	0.06	0.50	0.35	0.71	0.42	0.76	0.88	0.49

Tab. 43: Vergleich der Zellzahlen CD4+ CD45 RO+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

i) CD4+ HLA-DR+ Zellen

Vor TX Median (25- 75%P)	57 (36-118)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25- 75%P)	2 (0-5)	5 (1- 23)	30 (7- 76)	20 (10- 45)	43 (20- 63)	34 (25- 43)	27 (18- 45)	37 (18- 62)	39 (35- 39)	36 (19- 54)	66 (50- 107)	32 (0- 62)	86 (25- 46)	72 (48- 140)	63 (41- 106)
P-Wert	<0.00 1	0.00 6	0.03	0.01	0.31	0.23	0.09	0.29	0.47	0.27	0.47	0.61	0.18	0.65	0.60

Tab. 44: Vergleich der Zellzahlen CD4+ HLA-DR+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

j) CD4+ CD122+ Zellen

Vor TX Median (25-75%P)	1 (1-8)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	1 (0-1)	1 (1-4)	1 (0-8)	3 (2-7)	1 (0-3)	1 (0-6)	Feh- lende Werte	1 (1-3)		2 (1-8)	2 (2-3)	3 (0-8)	5 (4-9)	2 (2-5)	1 (1-1)
P-Wert	0.1	0.42	0.6	0.59	0.64	0.87		0.78	0.62	0.5	0.94	0.89	0.26	0.65	0.52

Tab. 45: Vergleich der Zellzahlen CD4+ CD122+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

k) TCR alpha/beta+ Zellen

Vor TX Median (25-75%P)	842 (610-1048)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	8 (1-31)	34 (2-74)	256 (103-363)	133 (25-256)	264 (0-616)	405 (363-761)	755 (4613-821)	588 (544-635)	551 (462-624)	718 (658-1787)	1140 (876-1951)	523 (273-616)	767 (533-971)	787 (576-924)	1063 (560-1226)
P-Wert	0.00 1	0.00 1	0.1	0.00 6	0.81	0.64	0.17	0.31	0.41	0.006	0.00 5	0.24	0.1	0.00 6	0.02

Tab. 46: Vergleich der Zellzahlen TCR alpha/beta+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

l) TCR gamma/delta+ Zellen

Vor TX Median (25-75%P)	3 (1-10)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX Median (25-75%P)	9 (5-25)	7 (0-10)	51 (36-84)	2 (1-13)	42 (0-76)	33 (4-53)	74 (49-119)	60 (22-130)	51 (36-84)	9 (3-38)	140 (135-225)	82 (0-156)	98 (20-198)	151 (123-293)	126 (83-177)
P-Wert	<0.0 01	<0.0 01	0.03	0.00 2	0.03	0.38	0.31	0.13	0.17	0.21	0.26	0.44	0.84	0.75	0.4

Tab. 47: Vergleich der Zellzahlen TCR gamma/delta+ Zellen von 20 Inselzelltransplantationspatienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

m) CD3+ CD71+ Zellen

Vor TX															
Median (25- 75%P)	4 (3-9)														
Zeit (Tage)	+1	+7	+21	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240	+270	+300	+330	+360
Nach TX															
Median (25-75%P)	0 (0-0)	0 (0-3)	1 (0-4)	1 (0-2)	2 (0-2)	1 (1-1)	2 (1-2)	4 (2-9)	1 (1-6)	2 (1-4)	2 (1-4)	4 (2-5)	5 (2-6)	3 (1-10)	2 (0-4)
P-Wert	<0.0 01	0.00 7	0.06	0.16	0.00 8	0.08	0.05	0.95	0.27	0.09	0.23	0.42	0.42	0.76	0.11

Tab. 48: Vergleich der Zellzahlen CD3+ CD71+ Zellen von 20 Inselzelltransplantations-patienten vor Inselzelltransplantation (vor TX) mit den Zellzahlen nach Inselzelltransplantation (nach TX). Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Zellzahlen/ μ l Blut sind an einem Zeitpunkt vor TX und an 15 Zeitpunkten nach TX (Zeit: +1 bis +360 Tage) angegeben und die P-Werte der statistischen Vergleiche.

3.10 Einfluss von Spender-, Empfänger- und Transplantateigenschaften auf das Transplantatüberleben

Zwei Gruppen von Inselzelltransplantationspatienten werden hinsichtlich verschiedener kritischer Parameter auf das Transplantatüberleben statistisch verglichen. Die Parameter waren nicht für alle Patienten vollständig erhoben worden, die minimale Gruppengröße beträgt fünf.

- Patienten mit Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (n = 14)
- Patienten ohne Inselzellfunktion ein Jahr nach Transplantation (n = 6)

3.10.1 Histokompatibilität in HLA-A

Für jede Inselzelltransplantation wurde ein Score erstellt, der die Histokompatibilität für den Genort HLA-A von Spender und Empfänger der Inselzellen abbilden soll. Jedem Inselzelltransplantationspatient wird ein Score von 0 - 2 zugeordnet. Ein Score von 0 entspricht dem mismatch (Nichtübereinstimmen) in beiden Antigenen von HLA-A zwischen Spender und Empfänger. Ein Score von 1 entspricht dem mismatch von einem Antigen, ein Score von 2 dem mismatch von 0 Antigenen.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr (n %)

Pat. ohne Inselfunktion nach 1 Jahr (n %)

Score 0	4 (29 %)		Score 0	1 (17 %)
Score 1	10 (71 %)		Score 1	5 (83 %)
Score 2	0		Score 2	0

Tab. 49: Verteilung der Punktzahlen des Histokompatibilitäts-Scores für HLA-A bei 20 Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich des Histokompatibilitäts-Scores für HLA-A, ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.2 Histokompatibilität in HLA-B

Für jede Inselzelltransplantation wurde ein Score erstellt, der die Histokompatibilität für den Genort HLA-B von Spender und Empfänger der Inselzellen abbilden soll. Jedem Inselzelltransplantationspatient wird ein Score von 0 - 2 zugeordnet. Ein Score von 0 entspricht dem mismatch (Nichtübereinstimmen) in beiden Antigenen von HLA-B zwischen Spender und Empfänger. Ein Score von 1 entspricht dem mismatch von einem Antigen, ein Score von 2 dem mismatch von 0 Antigenen.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr (n %)

Pat. ohne Inselfunktion nach 1 Jahr (n %)

Score 0	10 (71 %)		Score 0	4 (80 %)
Score 1	4 (29 %)		Score 1	1 (20 %)
Score 2	0		Score 2	0

Tab. 50: Verteilung der Punktzahlen des Histokompatibilitäts-Scores für HLA-B bei 19 Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich des Histokompatibilitäts-Scores für HLA-B, ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.3 Histokompatibilität in HLA-DR

Für jede Inselzelltransplantation wurde ein Score erstellt, der die Histokompatibilität für den Genort HLA-DR von Spender und Empfänger der Inselzellen abbilden soll. Jedem Inselzelltransplantationspatient wird ein Score von 0 – 2 zugeordnet. Ein Score von 0 entspricht dem mismatch (Nichtübereinstimmen) in beiden Antigenen von HLA-DR zwischen Spender und Empfänger. Ein Score von 1 entspricht dem mismatch von einem Antigen, ein Score von 2 dem mismatch von 0 Antigenen.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr (n %)

Pat. ohne Inselfunktion nach 1 Jahr (n %)

Score 0	11 (92 %)		Score 0	5 (100 %)
Score 1	1 (8 %)		Score 1	0 (0 %)
Score 2	0		Score 2	0

Tab. 51: Verteilung der Punktzahlen des Histokompatibilitäts-Scores in HLA-DR bei 17 Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich des Histokompatibilitäts-Score für HLA-DR, ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.4 Histokompatibilität in HLA-A und HLA-B, und HLA-DR

Für jede Inselzelltransplantation wurde ein Score erstellt, der die Histokompatibilität für die drei Genorte HLA-A, -B, -DR von Spender und Empfänger abbilden soll. Jedem Inselzelltransplantationspatienten wird ein Score von 0 - 6 zugeordnet. Ein Score von 0 entspricht dem mismatch (Nichtübereinstimmen) von sechs Antigenen von HLA -A, -B, und -DR zwischen Spender und Empfänger. Ein Score von 1 entspricht dem mismatch von fünf Antigenen, ein Score von 2 einem mismatch von vier Antigenen, ein Score von 3 dem mismatch von drei Antigenen, ein Score von 4 dem mismatch von zwei Antigenen, ein Score von 5 dem mismatch von einem Antigen und ein Score von 6 dem mismatch von null Antigenen.

Pat. mit Inselnktion nach einem Jahr

Pat. ohne Inselnktion nach einem Jahr

Median	1.0		Median	1.0
Range	0 - 2		Range	0 - 2

Tab. 52: Mediane und Range der Punktzahlen des Scores der Histokompatibilität für HLA -A, -B, und -DR für 17 Patienten mit und ohne Inselzellfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselnktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselnktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich des Histokompatibilitäts-Scores für HLA -A, -B, und -DR ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.5 Insulinverbrauch vor Transplantation

Der Insulinverbrauch vor Transplantation wurde für jeden Patienten bestimmt (in IE/Tag) und Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Transplantation wurden hinsichtlich des Insulinverbrauchs vor Transplantation verglichen und Unterschiede statistisch auf Signifikanz getestet.

Pat. mit Inselnktion nach einem Jahr

Pat. ohne Inselnktion nach einem Jahr

Median	32		Median	45
25-75%P	29 - 42		25-75%P	43 - 58

Tab. 53: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) des Insulinverbrauchs vor Inselzelltransplantation für 19 Patienten mit und ohne Inselzellfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselnktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselnktion ein Jahr nach Transplantation bezüglich des Insulinverbrauchs vor Inselzelltransplantation ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.6 Body Mass Index

Der Body Mass Index wurden für jeden Patienten vor Transplantation bestimmt und die Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Transplantation wurden hinsichtlich der Verteilung des Body Mass Index verglichen und Unterschiede statistisch auf Signifikanz getestet.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr

Pat. ohne Inselfunktion nach einem Jahr

Median	23.1		Median	22.6
25-75%P	21.6 - 24.5		25-75%P	21.7 - 24.4

Tab. 54: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) des Body Mass Index für 20 Patienten mit und ohne Inselzellfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation bezüglich des Body Mass Index vor Inselzelltransplantation ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.7 Inselstimulationsindex

Der Inselstimulationsindex wurde für jedes Transplantat bestimmt und die Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Transplantation wurden hinsichtlich der Verteilung des Inselstimulationsindex ihrer Transplantate verglichen. Unterschiede wurden statistisch auf Signifikanz getestet.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr

Pat. ohne Inselfunktion nach einem Jahr

Median	15		Median	29
25-75%P	9 - 51		25-75%P	19 - 69

Tab. 55: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) des Inselstimulationsindex für 16 Patienten mit und ohne Inselzellfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich des Inselstimulationsindex vor Inselzelltransplantation, ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.8 Inselzellviabilität

Die Inselzellviabilität wurde für jedes Transplantat bestimmt und die Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Transplantation wurden hinsichtlich der Inselzellviabilität ihrer Transplantate verglichen und Unterschiede statistisch auf Signifikanz getestet.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr

Pat. ohne Inselfunktion nach einem Jahr

Median	90		Median	90
25-75%P	89 - 96		25-75%P	88 - 92

Tab. 56: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen (25-75%P) der Inselzellviabilität für 20 Patienten mit und ohne Inselzellfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich der Inselzellviabilität, ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.10.9 Kalte Ischämiezeit

Die Kalte Ischämiezeit wurde für jedes Transplantat bestimmt und die Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Transplantation wurden hinsichtlich der Kalten Ischämiezeit größer acht Stunden oder kleiner acht Stunden ihrer Transplantate verglichen und Unterschiede statistisch auf Signifikanz getestet.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr (n)

Pat. ohne Inselfunktion nach 1 Jahr (n)

CIT<8h	9 (69 %)		2 (40 %)
CIT>8h	4 (31 %)		3 (60 %)

Tab. 57: Verteilung der Kalten Ischämiezeit größer oder kleiner als acht Stunden bei 18 Patienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation, bezüglich der Kalten Ischämiezeit größer oder kleiner als acht Stunden, ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

3.10.10 Inseläquivalent

Es wurde für jedes Inselzelltransplantat bestimmt, ob die Menge der transplantierten Inselzellen größer oder kleiner als 6.000 IEQ/kg/Körpergewicht ist. Die Patientengruppen mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Transplantation wurden hinsichtlich dieses Parameters statistisch verglichen.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr (n)

Pat. ohne Inselfunktion nach einem Jahr (n)

IEQ<6000/kg/KG	7 (39 %)		2 (11%)	Total: 9 (50 %)
IEQ>6000/kg/KG	6 (33 %)		3 (17%)	Total: 9 (50 %)

Tab. 58: Verteilung hinsichtlich der Menge der transplantierten Inselzellen (< oder > 6000 IEQ/kg/Körpergewicht) bei 18 Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation bezüglich Menge der transplantierten Inselzellen größer oder kleiner 6.000 IEQ/kg/Körpergewicht) ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

3.10.11 Kombination von Kalter Ischämiezeit <8h und Inseläquivalent >6.000 IEQ/kg/Körpergewicht

Es wurde für jeden Patienten bestimmt, ob die Kriterien Kalte Ischämiezeit kleiner acht Stunden und Inseläquivalent größer 6.000/IEQ/kg/Körpergewicht beide erfüllt waren. Die beiden Patientengruppen mit und ohne Transplantatfunktion nach einem Jahr wurden hinsichtlich des Vorhandenseins der Kombination dieser beiden Kriterien verglichen.

Pat. mit Inselfunktion nach einem Jahr (n)

Pat. ohne Inselfunktion nach einem Jahr (n)

Beide erfüllt	6 (33 %)		1 (6 %)	Total: 7 (39 %)
<2 Kriterien erfüllt	7 (39 %)		4 (22 %)	Total: 11(61 %)

Tab. 59: Verteilung hinsichtlich der Kombination Kalte Ischämiezeit < 8h und Inseläquivalent >6.000 IEQ/kg/Körpergewicht bei 18 Inselzelltransplantationspatienten mit und ohne Transplantatfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation.

Der statistische Vergleich der Patienten mit Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation vs. Patienten ohne Inselfunktion ein Jahr nach Inselzelltransplantation hinsichtlich der Kombination der beiden Parameter: Kalter Ischämiezeit größer acht Stunden und Inseläquivalent größer 6.000 IEQ/kg/Körpergewicht, ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

4. Diskussion

4.1 Welche Veränderungen von Lymphozytensubsets treten nach Inselzelltransplantation und Induktionsimmunsuppression mit polyklonalen Antilymphozytenseren auf?

4.1.1 Kurzfristige Effekte

Nach Inselzelltransplantation konnte in den ersten 30 Tagen nach Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren ein signifikanter und schnell einsetzender Abfall der Zellzahl von CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und CD56+CD3- Zellen beobachtet werden (Abb. 29), die Zahl der Gesamtlymphozyten sank ebenfalls signifikant in diesem Zeitraum. Monozyten, CD19+ Zellen und Leukozyten werden nicht signifikant in ihrer Zellzahl reduziert. Diese Ergebnisse der vorliegenden Arbeit entsprechen den Erfahrungen bezüglich der Gabe polyklonaler Antikörper bei Nierentransplantation (MÜLLER et al., 1997 und 1999; CLARK et al., 1993; THERVET et al., 1997). Die unterschiedlich ausgeprägte Depletion der verschiedenen Zellpopulationen lässt sich aus der polyklonalen Zusammensetzung der verwandten Antilymphozytenseren erklären (REBELLATO et al., 1994; BONNEFOY-BERARD, 1991). Die unterschiedliche Expression von Oberflächenantigenen durch die verwandten immunogenen Substrate ist für die unterschiedliche Konzentration der Antikörper in den Seren verantwortlich. Die Seren enthalten hauptsächlich Antikörper, die gegen T-Zellantigene und NK-Zellantigene gerichtet sind, weshalb wahrscheinlich diese Zellpopulationen am stärksten reduziert werden.

Auch ein signifikanter Abfall der Zellzahlen von Zellen, die TCR alpha/beta exprimieren und Zellen, die als Doppelexpression CD4 und HLA-DR bzw. CD4 und CD45 RO exprimieren, wird in den ersten 30 Tagen nach Inselzelltransplantation beobachtet (Abb. 30). Für diese Lymphozytensubsets gibt es bisher keine vergleichbaren veröffentlichten Untersuchungen bezüglich der Veränderungen nach Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren. Die in dieser Untersuchung festgestellte Reduktion dieser Zellen scheint jedoch nachvollziehbar, da sie Teilpopulationen der T-Lymphozyten und NK-Zellen darstellen. Alle Subsets der CD3+ und CD4+ Zellen werden dabei auf Zellzahlen unter 50 Zellen/ μ l in der ersten Woche reduziert.

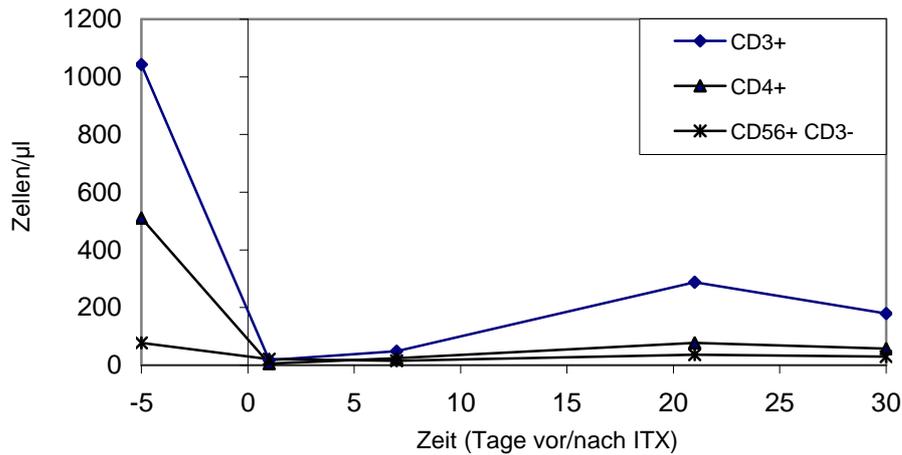


Abb. 29: Mediane der Zellzahlen von Lymphozytensubsets bei 20 Patienten vor Inselzelltransplantation (ITX) und im Verlauf des ersten Monats nach ITX mit Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren. Tag 0 ist Zeitpunkt der ITX, die Gabe der Antilymphozytenseren erfolgt innerhalb der ersten zehn Tage nach Transplantation.

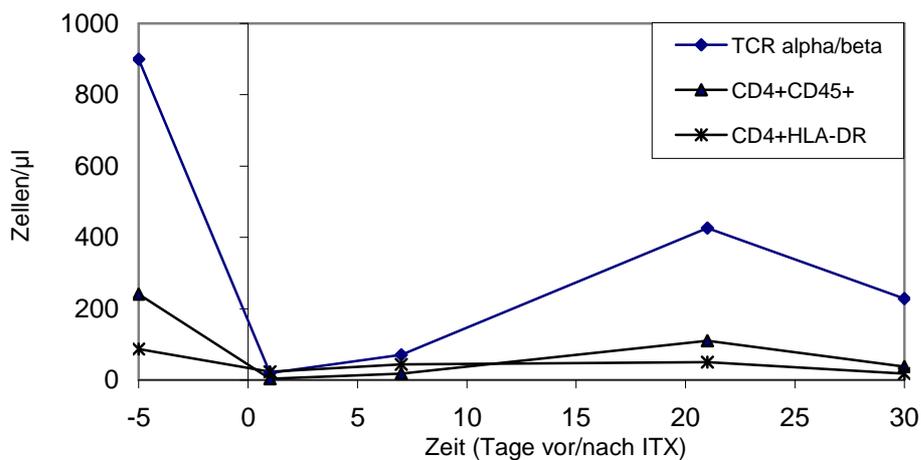


Abb. 30: Mediane der Zellzahlen von Lymphozytensubsets bei 20 Patienten vor Inselzelltransplantation (ITX) und im Verlauf des ersten Monats nach ITX mit Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren. Tag 0 ist Zeitpunkt der ITX, die Gabe der Antilymphozytenseren erfolgt innerhalb der ersten zehn Tage nach Transplantation.

4.1.2 Längerfristige Effekte

In der vorliegenden Untersuchung finden sich im gesamten Untersuchungszeitraum von zwölf Monaten bei Inselzelltransplantationspatienten signifikant niedrigere Zellzahlen für Lymphozyten, CD3+ Zellen, CD4+ Zellen, CD19+ Zellen und TCR alpha/beta+ Zellen als bei

einer gesunden Kontrollgruppe. Allerdings findet man bei den Inselzelltransplantierten zu je einem Zeitpunkt im Verlauf der zwölf Monate Zellzahlen für CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und CD19+ Zellen, die nicht signifikant kleiner sind als in der Kontrollgruppe. Die Zellzahlen von CD56+ CD3- Zellen und CD4+ CD45 RO+ Lymphozyten sind bis einschließlich Tag 150 bzw. Tag 240 nach Inselzelltransplantation signifikant kleiner als in der gesunden Kontrollgruppe.

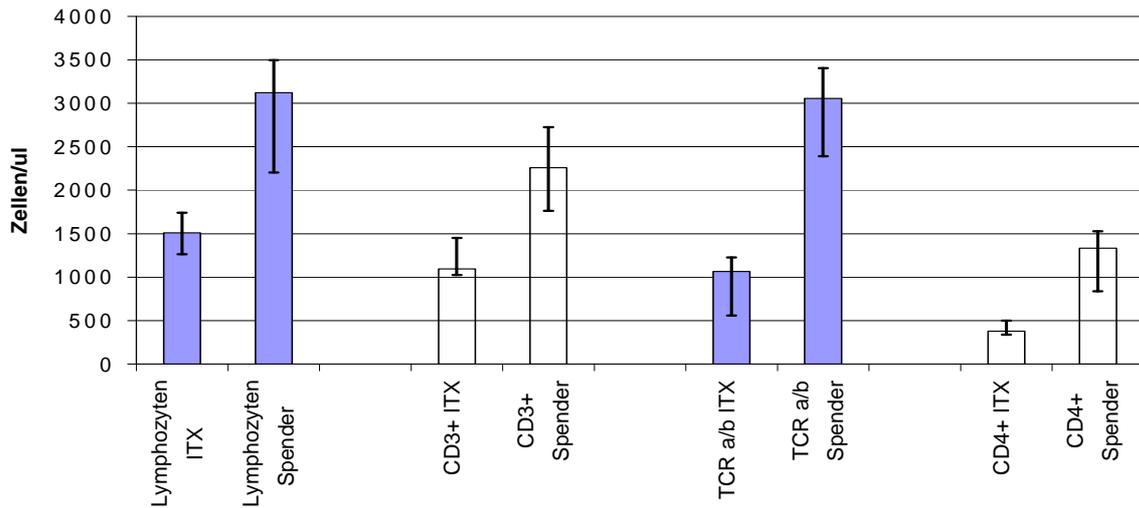


Abb. 31: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von Lymphozytensubsets bei 20 Patienten zwölf Monate nach Inselzelltransplantation (ITX) und bei 10 gesunden Spendern.

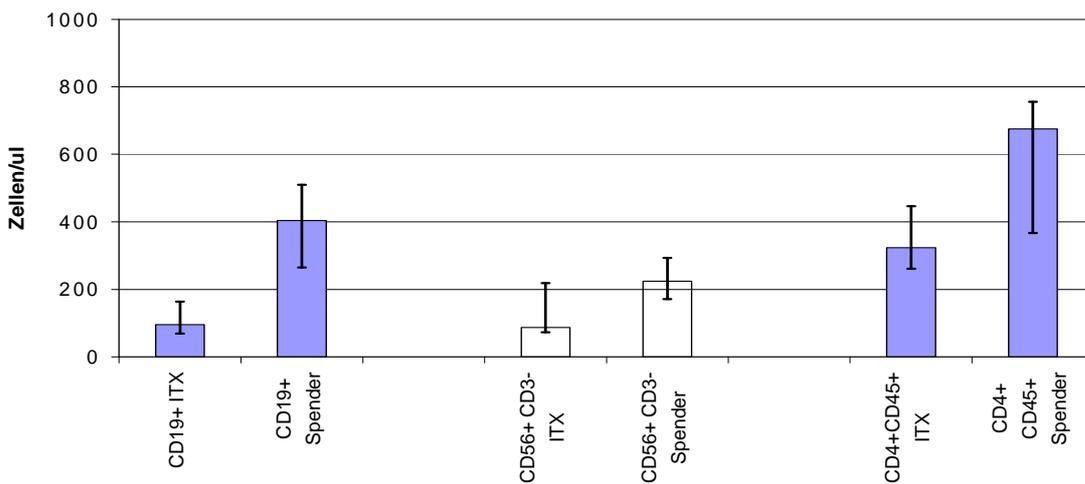


Abb. 32: Mediane mit 25 % Perzentilen und 75 % Perzentilen der Zellzahlen von Lymphozytensubsets bei 20 Patienten zwölf Monate nach Inselzelltransplantation (ITX) und bei 10 gesunden Spendern.

Ähnliche Ergebnisse erhält man, wenn man Inselzelltransplantationspatienten mit Nierentransplantationspatienten vergleicht. Bei Patienten nach Inselzelltransplantation waren im gesamten Untersuchungszeitraum von sechs Monaten nach Transplantation signifikant niedrigere Zellzahlen der CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und TCR alpha/beta+ Zellen nachweisbar, als bei Patienten nach Nierentransplantation; bei Lymphozyten und CD56+ CD3- Zellen sind signifikant niedrigere Zellzahlen bei den Inselzelltransplantierten bis zu 120 bzw. 60 Tage nach Transplantation nachweisbar.

Der Einsatz polyklonaler Antikörper erfolgte nur in der Patientengruppe der Inselzelltransplantierten und nicht bei den Nierentransplantierten oder der gesunden Kontrollgruppe. Er kann als Ursache für die dauerhafte Depletion der Lymphozytensubsets vermutet werden. Es muss jedoch angenommen werden, dass andere Faktoren ebenfalls Einfluss auf die Leukozytenpopulationen bei Inselzelltransplantation haben, da Inselzelltransplantierte bereits vor Transplantation gegenüber der gesunden Kontrollgruppe signifikant niedrigere Zellzahlen von Lymphozyten, CD3+ Zellen, CD4+ Zellen, CD19+ Zellen und TCR alpha/beta+ Zellen aufweisen. Die beiden Patientenkollektive unterscheiden sich also auch schon vor Transplantation signifikant hinsichtlich wichtiger Lymphozytensubsets. Die Gruppe der Inselzelltransplantationspatienten weist eine Reihe von Besonderheiten auf, die den Immunstatus beeinflussen können:

- Alle Inselzelltransplantationspatienten waren langjährige insulinpflichtige Diabetiker.
- Die SIK Patienten (n = 14) waren vor der SIK-Transplantation dialysepflichtig.
- Die IAK Patienten (n = 5) haben bereits immunsuppressive Medikamente (Steroide und Ciclosporin) im Rahmen der vorausgehenden Nierentransplantation erhalten.

Wie diese Einflussgrößen tatsächlich die Ausprägung der Lymphozytensubsets beeinflussen, kann jedoch nicht anhand der vorliegenden Daten weiter spezifiziert werden. Ein Vergleich der Zellzahlen CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und CD8+ Zellen zeigte keine signifikanten Unterschiede bei diabetischen und nicht-diabetischen Nierentransplantationspatienten sowohl vor als auch nach Nierentransplantation (DELMONICO et al., 1983).

Zur Verlaufsbeurteilung der Lymphozyten und Lymphozytensubsets in der Gruppe der Inselzelltransplantationspatienten scheint deshalb der Vergleich vor und nach Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren sinnvoller, als der Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe oder den Nierentransplantierten.

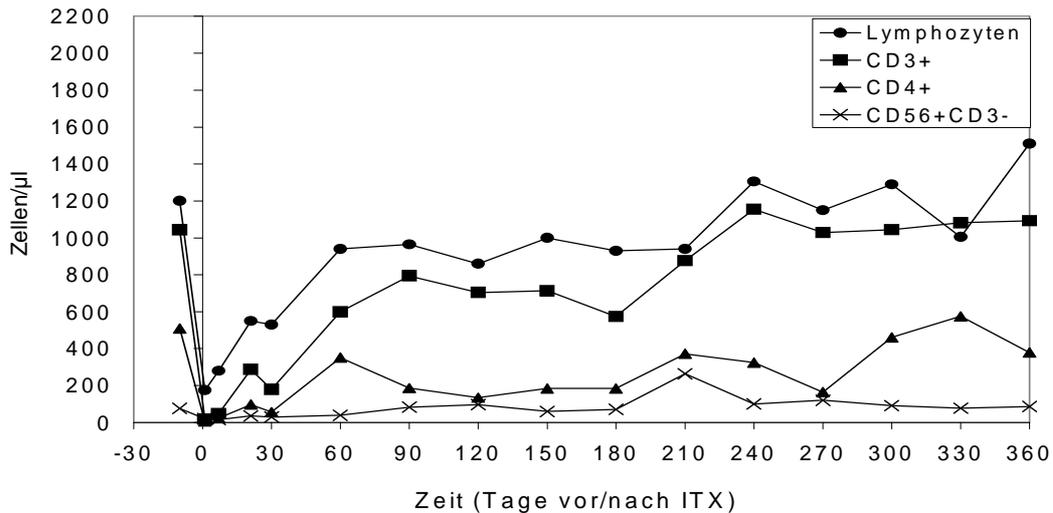


Abb. 33: Mediane der Zellzahlen von Lymphozyten und Lymphozytensubsets bei 20 Patienten vor Inselzelltransplantation (ITX) und im Verlauf des ersten Jahres nach ITX mit Induktionsimmunsuppression durch polyklonale Antilymphozytenseren. Tag 0 ist Zeitpunkt der Inselzelltransplantation, die Gabe der Antilymphozytenseren erfolgt innerhalb der ersten zehn Tage nach Transplantation.

In der Gruppe der Inselzelltransplantierten waren die Zellzahlen der CD4+ Zellen, CD56+ CD3- Zellen, CD4+ CD45 RO+ Zellen, CD4+ HLA-DR+ Zellen und der Lymphozyten bis zum 30. Tag nach Transplantation signifikant niedriger im Vergleich zu vor Transplantation; die Zellzahl der CD3+ Zellen war im Vergleich zu vor Transplantation bis zum 60. Tag nach Transplantation signifikant niedriger und bei den TCR alpha/beta+ Zellen bis zum 7. Tag nach Transplantation. Keine signifikanten Unterschiede waren für die Gesamtleukozytenzahl, die Monozytenzahl und die Zahl der CD19+ Zellen nachweisbar.

Es kommt in der Gruppe der Inselzelltransplantierten, in welcher alle Patienten polyklonale Antikörperseren erhielten, zu einem schnellen und ausgeprägten Abfall der Zellzahlen von Lymphozyten, CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und CD56+CD3- Zellen (Abb. 33) sowie der CD4+ CD45 RO+ Zellen, CD4+ HLA-DR+ Zellen, TCR alpha/beta+ Zellen und TCR gamma/delta+ Zellen. Nach 7 bis 60 Tagen werden in diesen Lymphozytenpopulationen bei Inselzelltransplantationspatienten wieder Zellzahlen wie vor Transplantation erreicht, die jedoch bereits vor Inselzelltransplantation signifikant niedriger waren, als etwa im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Noch nach fünf bis sechs Monaten lassen sich signifikant niedrigere Zellzahlen für Lymphozyten, CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und TCR alpha/beta+ Zellen bei den Inselzelltransplantationspatienten im Vergleich zu den Nierentransplantationspatienten

nachweisen, die in der vorliegenden Untersuchung keine polyklonalen Antilymphozytenseren erhielten.

Bei 33 Nierentransplantationspatienten, die eine Induktionsimmunsuppression mit ATG (Thymoglobulin n = 22, ATG-Fresenius n = 11) erhielten, konnte noch nach 24 Monaten eine Reduktion der CD3+ Zellen auf Zellzahlen < 1000/ μ l und eine Reduktion CD4+ Zellen auf Zellzahlen < 250/ μ l nachgewiesen werden (MÜLLER et al., 1997 und 1999).

Die bei Patienten mit Nierentransplantationen nach Gabe von polyklonalen Antilymphozytenseren beschriebenen Veränderungen der Lymphozytensubsets sind also länger anhaltend, als sie bei den Inselzelltransplantationspatienten zu beobachten sind. Wo können die Gründe für diese vergleichsweise länger dauernde Depletion liegen?

THERVET und MÜLLER konnten in zwei unabhängigen Untersuchungen zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen ATG-Gesamtdosis und der Geschwindigkeit der Regeneration der Lymphozytensubsets besteht. Eine Ursache für die kürzerfristigen Veränderungen der Lymphozytensubsets nach ATG-Gabe bei den Inselzelltransplantierten der vorliegenden Untersuchung könnte also die tatsächlich niedrigere Dosierung und Verabreichungsdauer des ATG bei diesen Patienten sein (Mittelwerte und Standardabweichung: 240 ± 39 mg/Patient/Tag für 9 ± 1.1 Tage), im Vergleich zu der von Müller untersuchten Gruppe von Nierentransplantationspatienten (271 ± 73 mg/Patient/Tag für 10.7 ± 5.3 Tage).

Unterschiede lagen nicht nur in der Menge der verabreichten Antilymphozytenseren vor, sondern auch hinsichtlich der Dosierungsart. Bei den von MÜLLER untersuchten Nierentransplantationspatienten wurde, nach Verabreichung einer ATG-Startdosis von 2 mg/kg Körpergewicht, die Dosis des ATG auf der Grundlage täglicher Bestimmungen der CD3+ Zellzahl angepasst und nicht, wie bei den Patienten der vorliegenden Untersuchung, in täglich gleichen Dosen verabreicht.

Es konnte in einer anderen Untersuchungen gezeigt werden, dass mit dieser Methode der Dosierungsanpassung gegenüber starren Dosierungen, die Häufigkeit und Schwere der Nebenwirkungen, die Anzahl viraler Infekte und die Gesamtdosis der Antilymphozytenseren bei gleichem Transplantaterfolg signifikant reduziert werden kann (THERVET et al., 1997). Die Wirkung des ATG wird also unter T-Zell-Monitoring und Dosisanpassung optimiert, was sich auch in einer länger dauernden Depletion der CD3+ und CD4+ Zellen mit dieser Dosierungsmethode zeigen könnte.

Ein weiterer Faktor, der für die länger dauernde Depletion verantwortlich sein könnte, ist die unterschiedliche Zytotoxizität und Antikörperbindung von verschiedenen polyklonalen Antilymphozytenseren, wie sie von SHENTON et al. 1994 beschrieben wurde.

Es besteht Variabilität hinsichtlich Konzentration und Spezifität von polyklonalen Antilymphozytenseren, sowohl hinsichtlich der verschiedenen kommerziellen Produkte als auch der verschiedenen Chargen eines Produktes (MÜLLER et al., 1999). Ein grundlegendes Problem ist, die tatsächliche biologische Potenz der verschiedenen polyklonalen Lymphozytenseren zu bestimmen und zu standardisieren. Außerdem treten aus unbekannter Ursache große interindividuelle Unterschiede in vivo bei verschiedenen Patienten hinsichtlich der Wirkung polyklonaler Antilymphozytenseren auf. SHENTON et al. konnten diese beiden grundlegenden Beobachtungen durch in vitro Testung von Lymphozyten zweier unterschiedlicher Patientengruppen (gesunde Kontrollgruppe; Patientengruppe mit terminaler Niereninsuffizienz) mit verschiedenen ATG-Produkten nachvollziehen. Dabei wurden folgende Beobachtungen gemacht:

- Signifikante Unterschiede hinsichtlich Zytotoxizität und Bindungsfähigkeit verschiedener kommerzieller ATG-Produkte auf Lymphozyten konnten festgestellt werden.
- Es bestehen Unterschiede bei verschiedenen ATG-Produkten hinsichtlich des Bindungsverhaltens an unterschiedliche CD-Antigene.
- Eine signifikant größere Zytotoxizität und Bindungsfähigkeit aller untersuchten ATG-Produkte auf die Lymphozyten von terminal niereninsuffizienten Patienten im Vergleich zu Lymphozyten einer gesunden Kontrolle konnte beobachtet werden.

Welche Mechanismen für die größere zytotoxische Wirkung und Bindungsfähigkeit der polyklonalen Antilymphozytenseren bei den Nierentransplantierten verantwortlich sein können, ist dabei noch größtenteils unklar. Im Rahmen von Hämodialyse konnten bei Monozyten nach Kontakt zu Dialysemembranen eine Hochregulierung von Oberflächenantigenen und Aktivierungsmarkern sowie eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine beobachtet werden. In der frühen Phase einer Hämodialysetherapie wird eine Depletion der Leukozyten beobachtet (SESTER et al., 2001). Die Möglichkeit von Veränderungen der Lymphozytensubpopulationen, z. B. einer erhöhten Expression von Aktivierungsmarkern nach Kontakt mit Dialysemembranen auch bei Lymphozyten, kann theoretisch in Betracht gezogen werden. In der Gruppe der Nierentransplantierten war die Dauer der Hämodialyse länger als in der Gruppe der Inselzelltransplantierten (Mittelwerte und Standardabweichung: 60 ± 38 Monate

vs. 27 ± 26 Monate). Dies könnte auch für eine erhöhte Wirksamkeit der ATG-Medikation im Sinne einer längerdauernden Depletion der Lymphozytensubsets, verantwortlich sein.

Neben den bereits genannten Lymphozytensubsets wurden auch T-Helferzellen, die CD122 exprimieren und T-Lymphozyten, die CD71 exprimieren, untersucht. Die Zellzahlen lagen im gesamten Untersuchungszeitraum unter 20 Zellen/ μ l. In der Beurteilung sehr kleiner Lymphozytensubsets ergeben sich mit der angewandten Methode messtechnische Probleme, die in einer relativ großen Streuung der Zellzahlen resultieren. In den genannten Lymphozytenpopulationen mit geringen Zellzahlen wurden zwar mit statistischen Methoden Vergleiche der Patientengruppen durchgeführt, die Aussagekraft solcher Vergleiche ist jedoch eingeschränkt, auch vor dem Hintergrund der teilweise geringen Gruppengrößen. Eine Bewertung der beobachteten Veränderungen dieser Subsets wird deshalb nicht vorgenommen.

Die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Veränderungen von Lymphozytensubsets, speziell die signifikanten Veränderungen der Zellen die CD3 und CD4 exprimieren, sind am ehesten durch die Gabe von Antilymphozytenseren im Rahmen der Inselzelltransplantation zu erklären. Eine weiterführende Beurteilung der Dauer und Ausprägung der beobachteten Veränderungen ist aber kaum möglich, vor allem aufgrund der Tatsache, dass es bisher keine vergleichbaren Veröffentlichungen zur Beschaffenheit von Lymphozytensubset bei Inselzelltransplantationspatienten gibt oder zur Wirkung von ATG bei Patienten nach Inselzelltransplantation.

4.2 Hat die Ausprägung bestimmter Spender-, Empfänger- und Transplantateigenschaften einen nachweislichen Einfluss auf das Inselzelltransplantatüberleben in der vorliegenden Patientengruppe?

In den Jahren 1990 bis 1997 wurden der Internationalen Inselzellregistrierung 200 adulte allogene Inselzelltransplantationen beim Typ-1-Diabetiker mit kompletten Datensätzen gemeldet. In dieser gut dokumentierten Patientengruppe betrug das 1-Jahres-Patientenüberleben 96%, das 1-Monats-Transplantatüberleben 68 % und das 1-Jahres-Transplantatüberleben 35 %. Die Insulin-Unabhängigkeit (>7 Tage) im ersten Jahr nach Transplantation lag bei 10 % (BRENDDEL et al., 1999).

Es wurde der Einfluss verschiedener Größen auf das Überleben der Inselzellen in dieser Patientengruppe untersucht. Es konnte anhand statistischer Methoden gezeigt werden, dass die einzelnen Einflussfaktoren:

- Empfängergeschlecht

- Empfängeralter
- Diabetesdauer > 20 Jahre
- Anzahl der Spenderpankreatia
- transplantierte Inselmenge, IEQ > 6000/kg Körpergewicht (kg/KG)
- Inselreinheit (Islet Purity > 90%)

keinen signifikanten Einfluss auf das 1-Jahres-Transplantatüberleben und die Insulinunabhängigkeit der Patienten hatten.

Die Induktionsimmunsuppression mit polyklonalen Antikörpern (ATG), der Transplantationsort Leber und eine Kalte Ischämie Zeit von weniger als acht Stunden zeigten einzeln einen signifikant positiven Einfluss auf das 1-Jahres-Transplantatüberleben in dem untersuchten Patientenkollektiv. Hochsignifikant war der Einfluss dieser drei Faktoren kombiniert mit der transplantierten Inselmenge (IEQ größer 6000/kg KG) auf die Insulinunabhängigkeit ein Jahr nach Transplantation (BRENDEL et al., 1999). Die transplantierte Inselmenge alleine hatte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf das Transplantatüberleben. Das 1-Jahres-Transplantatüberleben betrug 47 % in der Subgruppe von Patienten, die alle vier oben genannten Kriterien erfüllt.

Bei den Patienten der vorliegenden Untersuchung, die von 1997 bis 1998 an der Universitätsklinik in Gießen eine Inselzelltransplantation erhielten, war das 1-Jahres-Transplantatüberleben mit 70 % signifikant größer als in der Vergleichsgruppe aller von 1990 bis 1997 Inselzelltransplantierten (n = 200). Es ist von Interesse zu prüfen, welche der oben genannten Faktoren in dieser, wenn auch weniger umfangreichen, Patientengruppe mit hohem Transplantatüberleben vorhanden sind und welchen Einfluss sie auf das Transplantatüberleben ausüben.

Die Patientengruppe aus der vorliegenden Untersuchung erfüllt in allen Fällen mindestens zwei der oben genannten, auf das Transplantatüberleben positiv wirkenden, Kriterien. Die Leber ist in allen Fällen Transplantationsort und in allen Fällen wurden polyklonale T-Zell-Antikörper im Rahmen einer Induktionsimmunsuppression verabreicht. Eine kalte Ischämiezeit von weniger als acht Stunden sowie mehr als 6000 transplantierte Inselzelläquivalente/kg/Körpergewicht liegen jedoch nicht in allen Fällen vor.

In der Patientengruppe der vorliegenden Untersuchung konnte für die kalte Ischämiezeit von weniger als 8 Stunden und für die Menge transplantierte Inselzellen von mehr als 6000 IEQ/kg

Körpergewicht, sowohl einzeln als auch in Kombination, kein signifikanter Einfluss auf das Transplantatüberleben nachgewiesen werden. Hinsichtlich des Empfängergeschlechts, des Insulinverbrauchs vor Transplantation, des Stimulationsindex, der Inselzellviabilität und der Kompatibilität der HLA-Antigene (HLA- A; B; DR) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit und Patienten ohne 1-Jahres-Transplantatüberleben festgestellt werden.

Die Wirksamkeit einer ausreichenden Immunsuppression mit Ciclosporin auf das Transplantatüberleben und zur Prävention von frühem Transplantatversagen bei Inselzelltransplantation wurde von HERING et al. 1994 ausgeführt. In der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen Ciclosporinblutspiegel, die im Verlauf des ersten Jahres nach Transplantation gemessen wurden und der Transplantatfunktion gefunden werden. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit Transplantatfunktion im ersten Jahr und Patienten ohne Transplantatfunktion im ersten Jahr nach Transplantation bezüglich der Ciclosporinblutspiegel festgestellt werden. Die Aussagekraft dieses Vergleichs ist jedoch dadurch eingeschränkt, dass die Ciclosporinspiegel in unterschiedlichen zeitlichen Abständen bestimmt wurden. Des Weiteren besteht die grundsätzliche Problematik, dass nicht zu klären ist, ob es sich bei dem Verlust der Transplantatfunktion tatsächlich um einen immunologisch bedingten Transplantatverlust handelt und ob und wann dieser mit Ciclosporinblutspiegel zu korrelieren ist.

Die unter 4.2 diskutierten Ergebnisse müssen stets vor dem Hintergrund einer relativ geringen Patientenzahl betrachtet werden, die die Aussagekraft der gemachten Beobachtungen statistisch begrenzt. So betrug die Zahl der Patienten mit Transplantatfunktion 14, sechs Patienten hatten keine Transplantatfunktion nach einem Jahr bzw. fünf Patienten hatten eine vorhandene Transplantatfunktion im ersten Jahr nach Transplantation wieder verloren, ein Patient erlangte niemals eine Transplantatfunktion. Ein eventuell tatsächlich vorliegender Einfluss einzelner Parameter auf das Transplantatüberleben kann vorliegen, sich aufgrund der geringen Fallzahl in der statistischen Untersuchung aber als nicht signifikant darstellen.

4.3 Kann man durch Bestimmung von Lymphozytensubsets und Inselzell-Autoantikörpern den immunologischen Einfluss auf das Inselzelltransplantatüberleben nachvollziehen?

4.3.1 Einfluss immunologischer Faktoren auf das Transplantatüberleben allogener Inselzelltransplantate

Welche Faktoren beeinflussen das Transplantatüberleben allogener Inselzellen? HERING und RICORDI beschreiben 1999 als drei Haupthindernisse für die Etablierung einer dauerhaften Transplantatfunktion eine niedrige Masse von überlebenden Inseln nach Transplantation („engrafted Islets“), eine hohe metabolische Nachfrage und den immunologischen Transplantatverlust. Neben autoimmunen Hindernissen beim „engraftment“ allogener Inselzellen sind auch allogene Immunreaktionen an der Verhinderung einer dauerhaften Transplantatfunktion beteiligt, neben spezifischen Immunreaktionen auch unspezifische Prozesse im Sinne einer Wundreaktion direkt nach Transplantation. Im folgenden Kapitel 4.3.1 - 4.3.3 sollen die verschiedenen immunologischen Mechanismen, die zum Versagen von Inselzelltransplantaten führen können, dargestellt werden.

4.3.2 Antigenunabhängige Immunprozesse

Antigenunabhängige Prozesse und unspezifische inflammatorische Immunreaktionen sind an der Schädigung des Inselzelltransplantats beteiligt. Besonders in der initialen Phase nach Transplantation ist dies der Fall. Inselzelltransplantate benötigen ca. zehn Tage, bevor eine Revaskularisierung beendet ist (MENGER et al., 1992). Es kommt deshalb wahrscheinlich zu einem hypoxämisch verursachten Verlust transplantierte Inselzellen direkt nach Transplantation (DAVALLI et al., 1996). Eine unspezifische Wundreaktion wird durch die Transplantationsprozedur ausgelöst und durch proinflammatorische Zytokine (IL-1, IFN-gamma, TNF-alpha) und freie Sauerstoff-Radikale vermittelt (DAVALLI et al., 1996.; RABINOVITCH et al., 1996). Autoimmunität kann diese Prozesse verstärken. (NOMIKOS et al., 1986). Die Zytokine rekrutieren und aktivieren neutrophile Granulozyten und Makrophagen in dieser frühen Phase der immunologischen Transplantatschädigung. Experimentelle Studien bestätigen den Einfluss der unspezifischen Wundreaktion auf die Etablierung einer Transplantatfunktion auch bei der Inselzelltransplantation. So konnte durch die Depletion von Makrophagen und durch die Blockierung der Zytokin-Synthese in Makrophagen (BOTTINO et al., 1998; HYON et al., 1998) die Etablierung einer Inselzellfunktion beschleunigt werden und auch mit grenzwertig niedrigen Inselmassen eine Insulinunabhängigkeit erreicht werden. Das geringe Vorhandensein von

Antioxidantien in der Umgebung von Inselzelltransplantaten erhöht die Verletzlichkeit von transplantierten Inselzellen (LENZEN et al., 1996), deshalb läßt sich durch die Gabe von Radikalfängern (Nikotinamide, Desferroxamine) ebenfalls die Etablierung von Inselzelltransplantaten unterstützen (NOMIKOS et al., 1986 und 1989).

An der Aktivierung und Steuerung antigenunabhängiger Immunprozesse sind hauptsächlich zwei Botenstoffkaskaden, bestehend aus verschiedenen Chemokinen, beteiligt. Chemokine sind heparinbindende Proteine, die die Rekrutierung und Steuerung von Leukozytenpopulationen bei inflammatorischen und immunologischen Reaktionen vermitteln. Es existiert eine frühe Chemokinkaskade (KIC; MP-1-alpha; MP-1-beta; JE), die im Sinne einer unspezifischen Wundreaktion sowohl bei Iso- als auch Allotransplantation vorkommt und die Rekrutierung von Granulozyten (KIC; MP1 alpha) und Makrophagen (JE; MP1-beta) in der Frühphase nach Transplantation vermittelt. Später tritt eine zweite Chemokinkaskade (IP-10; MIG) in Kraft, die alloantigen geprägte T-Zellen aktiviert und in das Transplantat dirigiert (FAIRCHILD et al., 2000).

Überdies zeigen zahlreiche Untersuchungen im Zusammenhang mit Organtransplantation, dass die unspezifische Reaktion in der Initialphase nach Transplantation chronische Abstoßungsreaktionen und späteren Transplantatverlust auslösen und verstärken kann. HALLORAN entwickelte dieses Konzept des „injury response“. Es besagt, dass Verletzungen eine stereotyp ablaufende unspezifische Immunreaktion bewirken. Diese löst die immunologische Erkennung von Transplantaten aus, speziell durch T-Helferzellen und kann so auch spätes Transplantatversagen und chronische Transplantatabstoßung bewirken. Die funktionelle Verbindung der beiden verschiedenen immunologischen Reaktionen scheint hierbei durch die Verbindung der zwei Botenstoffkaskaden zu erfolgen. Durch die frühen unspezifischen Immunreaktionen entstehen inflammatorische Foci, die durch Chemokine (Mig, IP-10) antigengeprägte CD4+ Zellen in das Transplantat locken. Die CD4+ Zellen sind vorher in lymphatischen Geweben gereift. Die CD4+ Zellen erkennen das allogene Transplantat und zerstören es über Zytokinausschüttung und Zytolyse (HALLORAN et al., 1997; FAIRCHILD et al., 2000). Es erscheint deshalb wahrscheinlich, dass die Verhinderung der frühen unspezifischen Immunreaktionen durch eine spezielle Induktionsimmunsuppression nicht nur die Implantation der Inseln in der Frühphase fördert, sondern auch längerfristig positive Effekte auf Transplantationsergebnisse ausübt. Chemokinneutralisation und Rezeptorantagonismus könnten zukünftig wirkungsvolle Strategien zur Reduktion von Gewebsinflammation zu sein.

4.3.3 Alloimmunität

Als wichtigste zelluläre Bestandteile der allogenen Transplantatabstoßung sind T-Helferzellen und die Antigenpräsentierenden Zellen (APC= antigen presenting cells) zu nennen (CHANDLER und PESSARO, 1993; CUTURI et al., 1994). APC sind spezialisierte Zellen, die in der Lage sind Antigen aufzunehmen, zu verarbeiten und in immunogener Form den CD4+ Lymphozyten zu präsentieren. Diese APC weisen Major Histocompatibility Complex (MHC)-II-Moleküle und Adhäsionsmoleküle auf, deren Expression durch IFN-gamma und IL-4 gesteigert werden kann. Zu den bekannten APC gehören die dendritischen Zellen, die Langerhanszellen, Monozyten/Makrophagen, B-Lymphozyten, aktivierte T-Lymphozyten und follikulär dendritische Zellen. Sie unterscheiden sich in der Ausprägung ihrer Fähigkeiten Antigen aufzunehmen, zu verarbeiten und zu präsentieren. So sind dendritische Zellen in der Lage, naive T-Lymphozyten zu aktivieren. Monozyten und Makrophagen agieren eher als Effektorzellen der Immunantwort. Sie zerstören aufgenommenes Antigen über lysosomale Enzyme und Bildung von Radikalen. Monozyten stellen dabei die zirkulierende Form, Makrophagen die gewebsständige Form dar. B-Lymphozyten sind spezialisierte APC, sie sind in der Lage, über membranständige Antikörper auch geringe Mengen spezifisches Antigen zu erkennen. Follikulär dendritische Zellen präsentieren Antigen in nicht-prozessierter Form für eine längere Zeit den B-Lymphozyten in der Milz, dem Gastrointestinaltrakt und den Keimzellen der Lymphknoten (PETER und PICHLER, 1996).

T-Zell-vermittelte Abstoßung allogener Transplantate ist gerichtet gegen den Major Histocompatibility Complex (MHC), dessen Gene auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 lokalisiert sind. Der MHC-Komplex besteht aus insgesamt vier Untergruppen, wobei MHC-I und -II maßgeblich an der allogenen Transplantatabstoßung beteiligt sind. MHC-I-Antigene werden von allen Zellen des menschlichen Körpers, mit Ausnahme der Erythrozyten, exprimiert. MHC-II-Antigene werden unter normalen Umständen von B-Lymphozyten, dendritischen Zellen, Monozyten und Makrophagen exprimiert. Eine Induktion von MHC-II-Antigenen kann durch IFN-gamma erfolgen, wobei dann auch andere Zellen diese Antigene exprimieren können. Dem T-Zell-Rezeptor (TCR) kommt in diesem Zusammenhang eine entscheidende Rolle in der allogenen Transplantatabstoßung zu. Der TCR besteht aus zwei Polypeptidketten, die je einen konstanten proximalen und einen variablen distalen Anteil enthalten. Zwei Arten von TCR lassen sich unterscheiden, TCR alpha/beta und der TCR gamma/delta. Der TCR alpha/beta macht 95 % der zirkulierenden bzw. im Lymphknoten lokalisierten T-Lymphozyten aus. Sie können Antigen zusammen mit MHC-Komplexen erkennen. Die genaue Funktionsweise der T-Zellen mit TCR

gamma/delta hingegen ist immer noch nicht vollständig geklärt (PETER und PICHLER, 1996). Während der Reifung der T-Zellen im Thymus werden die TCR-Gene neu arrangiert, wobei verschiedene T-Zellpopulationen entstehen, die sich durch die unterschiedliche Spezifität ihres Rezeptors auszeichnen. Es kommt zu einer positiven Selektion. Hierbei werden nur die T-Zellen selektiert, die in der Lage sind fremdes Antigen, assoziiert mit eigenem MHC-Komplexen, zu erkennen. Damit können diese T-Zellen z. B. virusinfizierte Körperzellen oder maligne entartete Zellen erkennen, auf denen fremdes Antigen zusammen mit körpereigenen MHC-Komplexen präsentiert wird. Aufgrund der Spezifität der T-Zell-Rezeptoren können dabei weniger als 1 % der T-Zell-Klone reagieren. Im Gegensatz dazu agiert bei der Allotransplantation der MHC-Komplex sowohl als fremdes Antigen als auch als präsentierendes Molekül. Deshalb wird ein höheres Maß an T-Zell-Klonen stimuliert.

Akzessorische Oberflächenmoleküle sind ebenfalls entscheidend an der Interaktion zwischen TCR und MHC-Komplexen beteiligt. Das CD3-Molekül wird von allen T-Zellen exprimiert. Es setzt intrazelluläre Mechanismen nach der Bindung des TCR an einen geeigneten Liganden in Gang, die zu einer Aktivierung der T-Zellen führen. Wird das CD3-Molekül z. B. durch Antikörper zerstört, so wird dieser Prozess verhindert. CD4 wird von T-Helfer/Inducer Zellen exprimiert, wobei CD4 an MHC-II-Moleküle bindet. CD8 wird von T-Suppressor/Zytotoxische Zellen exprimiert, diese binden an Antigene, die in Zusammenhang mit MHC-I-Molekülen präsentiert werden. Da der Alpha/Beta TCR nur geringe Affinität zu HLA-Komplexen besitzt, wird durch die akzessorischen Oberflächenmoleküle eine stabile Interaktion zwischen den Lymphozyten und APC ermöglicht.

Allogene MHC-Antigene, die auf dem allogenen Transplantat exprimiert werden, sind die entscheidenden Strukturen, die als fremd von den Rezeptoren der T-Helferzellen des Empfängers erkannt werden. T-Helferzellen können dabei auf zwei Arten fremdes Antigen erkennen. Zum einen als intaktes MHC-II-Antigen auf APC des Spenders. Dabei findet in erster Linie eine Reaktion von T-Helferzellen des Empfängers auf fremdes MHC-II-Antigen statt, das von dendritischen Leukozyten des Spenders exprimiert wird. Diese Leukozyten befinden sich im Transplantat und werden als sogenannte „Passagier Leukozyten“ (passenger leucocytes) bezeichnet. Dieser Mechanismus der direkten T-Zell Aktivierung scheint zu einem großen Teil an akuter Transplantatabstoßung beteiligt zu sein, aber nur eine geringe Rolle bei der chronischen Transplantatabstoßung zu spielen (BRAUN et al, 1993; LECHLER und BATCHELOR, 1982; BATCHELOR und LECHLER, 1982 ; LIU et al; 1993). Dieser

sogenannte „direkte Weg“ (CUTURI et al., 1994) wird auch als „frühe T-Zell-Antwort“ bezeichnet (CHANDLER und PESSARO, 1993).

Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass eine APC-Depletion von allogenen Nierentransplantaten eine niedrigere Immunität zur Folge hat und dass eine akute Abstoßung der Nierentransplantate nach Verabreichung von dendritischen Zellen der Spender erfolgt (ROAKE und AUSTYN, 1994).

Der andere Mechanismus, mit dem T-Zellen fremde MHC-Moleküle erkennen, wird als „indirekter Weg“ (CUTURI, et al. 1994) oder als „späte T-Zell-Antwort“ (CHANDLER und PESSARO, 1993) bezeichnet. Hierbei nehmen Empfänger-APC fremdes Antigen auf, prozessieren es und präsentieren es mit MHC-II-Komplexe den Empfänger-T-Zellen.

T-Zellen, die über den direkten Weg mit fremdem MHC geprimt werden, sind für einen Großteil der zytotoxischen T-Zell-Reaktion verantwortlich. T-Zellen, die über den indirekten Weg geprimt werden, sind für einen Großteil der T-Helferzell-Funktion verantwortlich (CUTURI et al, 1994). Der direkte Weg scheint eine entscheidende Rolle in der akuten Transplantatabstoßung, der indirekte Weg die entscheidende Rolle in der chronischen Transplantatabstoßung zu spielen, zumindest deuten darauf Erfahrungen aus dem Tiermodell hin (BRAUN et al., 1993). Die Anzahl der T-Zellen, die an der direkten Antigenerkennung beteiligt sind, ist etwa 100-mal höher als bei der indirekten Antigenerkennung (LIU et al., 1993).

Zusammenfassend kann man sagen, dass allogene MHC-Antigene, die auf dem allogenen Transplantat oder auf „Passagier Leukozyten“ im Transplantat exprimiert werden, von T-Helferzellen (CD4+) erkannt werden. In der Folge führen transmembrane Signale zur intrazellulären Aktivierung, Vermehrung und Differenzierung der T-Lymphozyten. Die Enzymsysteme der Phospholipase-C und Tyrosinkinase spielen dabei eine wichtige Rolle als second-messenger-Systeme. Sie vermitteln die calciumabhängige Veränderung von nukleären Regulator-Proteinen, die die Gen-Expression der T-Lymphozyten steuern. Es kommt zu einer vermehrten transkriptionalen Aktivierung und Expression von Genen, die eine zentrale Rolle im T-Zell-Wachstum besitzen (z.B. IL-2 und IL-2 Rezeptor) (SUTHANITRIAN, 1993; STROM und KELLEY, 1989). So kann eine T-Zell-Aktivierung und Differenzierung erreicht werden (KRENSKY et al., 1990).

Die Signalgebung der T-Zellen über den TCR/CD3-Komplex ist nicht in der Lage alleine eine T-Zell-Proliferation zu induzieren. Eine volle Aktivierung hängt sowohl von antigenabhängigen Signalen, als auch von kostimulierenden Signalen ab. Hierbei sind Interaktionen zwischen den

CD2-Molekülen auf T-Zellen mit den CD58-Molekülen (LFA-3) auf den APC zu nennen. Außerdem sind Interaktionen von CD11a/CD18-Proteinen (LFA-1) auf T-Zellen mit CD54-Proteinen (ICAM-1) auf APC und Interaktionen von CD5-Proteinen auf T-Zellen mit CD72-Proteinen auf APC zu nennen. Nur das Zusammenspiel des antigenabhängigen Signals und der kostimulatorischen Signale ermöglichen eine stabile Transkription von IL-2 und anderen T-Zell-Aktivierungsgenen (SCHWARTZ, 1993; SUTHANITHRIAN, 1993). Akzessorische Moleküle auf der Oberfläche von T-Zellen und ihre Rezeptoren auf den APC könnten also auch als Ziele einer Therapie gegen allogene Transplantatabstoßung genutzt werden. Im Tiermodell konnte eine Therapie, die gegen Oberflächenmoleküle von Zellen gerichtet ist, bereits eine Transplantationstoleranz induzieren (ISOBE et al., 1992; LISLEY et al., 1992).

Das zweite Signal der T-Zell-Aktivierung wird durch die IL-1-Sekretion der Makrophagen ausgelöst. Neben eine Reihe von Effekten auf andere Zellpopulationen triggert IL-1 auch die T-Zell-Proliferation. Die aktivierten T-Zellen sezernieren IL-2 und exprimieren verstärkt IL-2 Rezeptoren, dies wirkt als eine Art von „positiver Feedback Schleife“, um die IL-2-Produktion zu erhöhen. IL-2 verstärkt die Wirkung anderer Chemokine und fördert die Rekrutierung und Proliferation von T-Helferzellen, B-Lymphozyten und zytotoxischen T-Zellen (CANTRELL und SMITH, 1984). IL-2 stimulierte T-Zellen produzieren außerdem die B-Zell-aktivierenden Faktoren IL-4 und IL-6, die die Produktion von antigenspezifischen Antikörpern durch B-Lymphozyten fördern (HOWARD et al., 1983).

Unter dem Einfluss von IL-2 produzieren die T-Lymphozyten das IFN-gamma. IFN-gamma fördert die Expression von MHC-I und -II-Komplexen, auch auf Zellen, die normalerweise kein MHC-II produzieren, wie z. B. Endothelzellen. IFN-gamma fördert des Weiteren die Ausschüttung von Tumor Nekrose Faktor (TNF). TNF hat eine Reihe von Effekten im Zusammenhang mit allogener Transplantatabstoßung: die Induktion von chemotaktischen Faktoren, die Granulozyten und Monozyten in das Transplantat dirigieren und die Steigerung der Expression von MHC-Komplexen in Synergie mit IFN-gamma. Ein weiterer Effekt von TNF ist die Aktivierung von Makrophagen. Die Ausschüttung von IFN-gamma verstärkt sowohl die Erkennung als auch die Zerstörung des allogenen Transplantats.

Die spezifische Zerstörung des allogenen Transplantats wird durch T-Zellen ausgelöst und durch zytotoxische T-Zellen mittels Zellyse ausgeführt. Die Zellyse wird durch Ausschüttung von Perforin in direktem Kontakt der zytotoxischen T-Zellen mit den Zellen des allogenen Transplantats ausgeübt. Sie stellt den Effektormechanismus der spezifischen allogenen Transplantatzerstörung dar (CHANDLER und PASSARO, 1993; CUTURI et al., 1994).

Die Methoden der Medizin, um eine Abstoßung allogener Transplantate zu vermeiden, haben sich von anfänglich globaler und unspezifischer Immunsuppression wie der Ganzkörperirradiation, zu immer spezifischeren Methoden entwickelt. Nicht nur die zellulären Bestandteile der Immunreaktion, sondern auch die Funktion humoraler Faktoren im Ablauf der allogenen Transplantatabstoßung werden zunehmend erkannt. Das zunehmende Wissen über Zytokine und Chemokine und ihr Zusammenspiel im Rahmen von Transplantatabstoßungsreaktionen eröffnet die Möglichkeit, neben den bereits bekannten monoklonalen und polyklonalen Antikörpern gegen T-Lymphozyten, spezifische Antikörper gegen Chemokinrezeptoren und Chemokine herzustellen.

33B3.1 ist ein Antikörper gegen den IL-2-Rezeptor und bindet an proliferierende T-Zellen, die diesen Rezeptor exprimieren. Subtherapeutische Dosen von Ciclosporin kombiniert mit 33B3.1 führen zum Verlust von IL-2 und dem IL-2-Rezeptor im Transplantat und konnten im Rattenmodell den Verlust von Herztransplantaten und Inselzelltransplantaten verhindern. (TELLIDES et al., 1988).

Experimentelle Antikörper gegen Zytokine der akuten Abstoßungsreaktion können besonders in der Induktionssuppression und in der Therapie der akuten Abstoßungsreaktion eingesetzt werden. Für Antikörper gegen TNF und IFN-gamma konnte im Tierexperiment an Ratten bereits eine signifikante Verlängerung des Transplantatüberlebens gezeigt werden (IMAGAWA et al., 1990).

Durch genetische Rekombinationstechniken ist es heute möglich Antikörper herzustellen, die aus Fab-Anteilen von Nagetieren und menschlichen Fc-Anteilen bestehen. Diese kombinierten Antikörper besitzen eine deutlich reduzierte Antigenität (JONES et al., 1986; REICHMANN et al., 1988). Es besteht die Möglichkeit Gene, die für spezifische Fab-Portionen kodieren, mit Toxin-Genen zu kombinieren und Antikörper-Toxin-Konjugate herzustellen (CHAUDHARY et al., 1989). Interleukin-2-Toxin ist Produkt dieser Gen-Fusion, wobei IL-2-DNA an DNA eines Strukturproteins des Diphtherie Toxins gebunden ist. In-vitro-Studien zeigen, dass Interleukin-2-Toxin selektiv an T-Zellen bindet, die IL-2-Rezeptoren exprimieren und diese funktionsuntüchtig macht. Im Tiermodell konnte Interleukin-2-Toxin ohne weitere Immunsuppression eine Abstoßung von Inselzelltransplantaten und Herztransplantaten im Mäusemodell verhindern (STROM et al., 1989). Eine weitere Therapiemöglichkeit könnte in Zukunft die Verabreichung löslicher Rezeptoren sein, um an Liganden zu binden. In-vitro-Studien zeigten, dass die systemische Verabreichung des extrazellulären Anteils des IL-1-Rezeptors in löslicher Form das heterotope Überleben von Herztransplantaten bei Mäusen erhöht (FANSLOW et al., 1990).

Um den möglichen Zusammenhang von Lymphozytensubsets und dem immunologischen Einfluss auf die Transplantatfunktion bei Inselzelltransplantation zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Untersuchung zwei Patientengruppen verglichen:

- Patienten mit 1-Jahres-Transplantatüberleben (n = 14)
- Patienten ohne 1-Jahres-Transplantatüberleben (n = 6).

Dabei konnte vor Transplantation und an 16 Zeitpunkten innerhalb eines Jahres nach Transplantation kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen festgestellt werden, hinsichtlich der untersuchten Parameter:

- Leukozytenzahl
- Lymphozytenzahl
- Monozytenzahl
- Anzahl CD3+ Zellen
- Anzahl CD19+ Zellen
- Anzahl CD56+ CD3- Zellen
- Anzahl CD4+ Zellen
- Anzahl CD4+ CD45 RO+ Zellen
- Anzahl CD4+ HLA-DR+
- Anzahl CD4+ CD122 + Zellen
- Anzahl CD3+ CD71+ Zellen

Es ist insgesamt noch unklar, inwieweit die Zellzahlen der untersuchten Lymphozytenpopulationen mit alloimmunen Einflüssen auf Inselzelltransplantate korrelieren. In der vorliegenden Untersuchung konnte mit den verwandten Methoden kein Einfluss der untersuchten Lymphozytensubsets auf die Funktion der Inselzelltransplantate nachvollzogen werden. Grundlegende methodische Probleme in diesem Zusammenhang sind, dass unklar ist, inwieweit es sich bei den Transplantatverlusten im Einzelnen tatsächlich um alloimmun vermittelte Transplantatverluste handelt und wie ein möglicher zeitlicher Zusammenhang zwischen allogenen ausgelösten Transplantatverlust und Zellzahlen der Lymphozytenpopulationen aussieht. Zusätzlich sind die Ergebnisse vor dem Hintergrund der relativ geringen Patientenzahl in den einzelnen Patientengruppen zu betrachten. Die Aussagekraft der statistischen Vergleiche ist somit zu relativieren.

4.3.4 Autoimmunität

Neben den antigenunabhängigen Mechanismen und den alloimmunen Mechanismen existiert bei der Inselzelltransplantation diabetischer Patienten ein dritter Mechanismus, der das Transplantatüberleben beeinflusst. Als Schlussfolgerung klinischer Beobachtungen und experimenteller Untersuchungen stellen HERING und RICORDI 1999 die folgende Hypothesen auf: Das häufigere Versagen von allogenen Inselzelltransplantaten bei Typ-1 Diabetikern, im Vergleich zu autologen Transplantaten nach Pankreatektomie, einen konstanten insulinunabhängigen Zustand zu etablieren, wird durch ein niedrigeres „Engraftment“ allogener Inseln in einer autoimmunen Umgebung bewirkt. Die daraus resultierende niedrigere Zellmasse des Transplantats ist nicht in der Lage, den erhöhten metabolischen Insulinbedarf zu erfüllen, der in einer Insulin-resistenten Stoffwechsellage beim Typ-1 Diabetiker vorliegt und auch durch die diabetogenen Nebenwirkungen von immunsuppressiven Medikamenten bedingt wird. Hinzu kommt, dass Autoimmunität Inselzelltransplantate zerstören kann. So konnte bei spontan diabetischen BB-Ratten und NOD-Mäusen nach syngener intraportaler Inselzelltransplantation eine autoimmune Zerstörung des Transplantats festgestellt werden (NAJI et al., 1981; MULLEN et al., 1986).

Seit SUTHERLAND et al. 1989 zeigen konnte, dass Transplantatversagen wegen wiederkehrender Autoimmunität bei Pankreastransplantaten von identischen Zwillingsspendern durch Immunsuppressiva (Ciclosporin und Azathioprin) verhindert werden kann, wird angenommen, dass die Autoimmunität keine Rolle für die Transplantatfunktion bei immunsuppressiv behandelten diabetischen Inselzelltransplantierten spielt. Eine Reihe neuerer Erkenntnisse stellt diese Annahme jedoch zunehmend in Frage:

Erstens konnte im Tierexperiment die autoimmune Zerstörung von Inselzelltransplantaten bei NOD-Mäusen durch verschieden immunsuppressive Medikamente nicht verhindert werden (TERADA et al., 1988; WANG et al., 1988; STEGALL et al., 1996). Zweitens konnte bei mit Ciclosporin behandelten, spontan diabetischen BB-Ratten, eine Wiederkehr der Autoimmunität zwar durch syngene Pankreastransplantation, nicht jedoch durch syngene Inselzelltransplantation verhindert werden (BARTLETT et al., 1997). Dies beruht wahrscheinlich auf dem Vorhandensein von Lymphknoten-Zellen im Pankreas, speziell auf immunregulatorischen T-Zellen in den pankreatischen Lymphknoten-Zellen (BARTLETT et al., 1995, NAKAI et al., 1993). Drittens konnte eine Inselitis und selektiver Verlust von Beta-Zellen in einem Inselzelltransplantat im Unterarm eines immunsupprimierten diabetischen Nierentransplantatempfängers nachgewiesen werden (STEGALL, 1996). Viertens konnte JÄGER et al. 1996

zeigen, dass Autoantikörper trotz Immunsuppression persistieren (GAD 65) und Patienten mit einem niedrige Level von Autoantikörpern (GAD 65) vor Transplantation, ein besseres 1-Jahres-Transplantatüberleben aufweisen, als Patienten mit einem hohem Level von Autoantikörpern.

In der Patientengruppe der vorliegenden Untersuchung (n = 20) kam es in fünf Fällen nach anfänglicher Transplantatfunktion im ersten Monat zu einem Verlust der Transplantatfunktion. Nur in einem Fall konnte nie eine Transplantatfunktion festgestellt werden. Der Verlust der Transplantatfunktion lag dabei zwischen dem 27. und 82. Tag nach Transplantation. In der vorliegenden Arbeit wurde bei 16 Inselzelltransplantierten GAD-65-Antikörper und ICA-Antikörper bestimmt. In zwei Fällen konnten GAD-65-Antikörper, in einem Fall konnten ICA-Antikörper innerhalb des ersten Jahres nachgewiesen werden. In zwei dieser insgesamt drei antikörperpositiven Fälle lag nach zwölf Monaten noch eine Transplantatfunktion vor. Ein Patient war antikörperpositiv und hatte die Transplantatfunktion im ersten Jahr verloren, hier trat erst nach Verlust der Transplantatfunktion einmalig ein GAD-65-Antikörper auf (GAD-AK Index = 0.9), wobei zur Zeit des erwarteten Transplantatverlustes viermal negative Antikörpertiter bestimmt wurden. Von den fünf Patienten, die eine Transplantatfunktion innerhalb des ersten Jahres wieder verloren hatten, konnten in allen fünf Fällen keine GAD-65- und ICA-Antikörper nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Patientengruppe konnte anhand der bestimmten Inselzell-Autoantikörper kein immunologischer Einfluss auf die Transplantatfunktion nachvollzogen werden. Allerdings ist hinsichtlich der insgesamt geringen Patientenzahl und dem geringen Anteil von Patienten, bei denen Autoantikörper nachgewiesen werden konnten, die Aussagekraft der vorliegenden Untersuchung begrenzt.

4.4 Kann man durch durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets eine mögliche immunologische Abstoßung von Inselzelltransplantaten erkennen?

Um den möglichen Zusammenhang von Lymphozytensubsets und Transplantatabstoßung zu untersuchen, wurden zwei Patientengruppen verglichen:

- Patienten mit 1-Jahres-Transplantatüberleben (n = 14)
- Patienten mit Transplantatverlust im ersten Jahr nach Transplantation (n = 5).

Dabei konnte vor Transplantation und an fünf Zeitpunkten innerhalb der ersten 60 Tage nach Transplantation kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen hinsichtlich der untersuchten Parameter gefunden werden. Dieser Zeitraum wurde gewählt, weil

der angenommenen Transplantatverlust in der untersuchten Patientengruppe zwischen Tag 28 und Tag 82 liegt. Die untersuchten Parameter waren:

- Leukozytenzahl
- Lymphozytenzahl
- Monozytenzahl
- Anzahl CD3+ Zellen
- Anzahl CD19+ Zellen
- Anzahl CD56+ CD3- Zellen
- Anzahl CD4+ Zellen
- Anzahl CD4+ CD45 RO+ Zellen
- Anzahl CD4+ HLA-DR+
- Anzahl CD4+ CD122 + Zellen
- Anzahl CD3+ CD71+ Zellen.

Bei Untersuchungen im Zusammenhang mit Nierentransplantation wurden Abstoßungskrisen bei niedrigen absoluten T-Lymphozytenzahlen und funktionierende Nierentransplantate bei ansteigenden und hohen absoluten T-Lymphozytenzahlen beobachtet (ELLIS et al., 1982). Auch in der hier durchgeführten Untersuchung konnte bei Patienten das Vorliegen einer Transplantatfunktion bei hohen absoluten Zellzahlen von CD3+ Zellen, CD4+ Zellen und CD56+ Zellen beobachtet werden. Andererseits beobachtet man bei Patienten nach Verlust der Transplantatfunktion niedrige Zellzahlen von Lymphozytenpopulationen im Zeitraum des vermuteten Transplantatverlustes.

Die absolute Zellzahl von Lymphozytensubsets erweist sich in der durchgeführten Untersuchung isoliert betrachtet als nicht aussagekräftiger Parameter im Zusammenhang mit Transplantatfunktion bzw. Verlust der Transplantatfunktion bei Inselzelltransplantation. Dass ein Zusammenhang zwischen den untersuchten Subsets und einer Transplantatabstoßung besteht, scheint trotzdem möglich. Zwei Hauptgründe können in der vorliegenden Untersuchung für die fehlenden signifikanten Ergebnisse mitverantwortlich sein:

- Mit den angewandten Methoden kann nicht festgestellt werden, ob es sich bei dem Verlust der Transplantatfunktion in den fünf untersuchten Fällen tatsächlich um eine allogen ausgelöste, spezifische immunologische Abstoßung handelt oder ob andere Ursachen für den Transplantatverlust verantwortlich sind.

- Der Zeitpunkt der eventuellen Transplantatabstoßung kann verpasst worden sein. Eine durchgehende Überwachung der Patienten, besonders in der nachstationären Phase ist kaum möglich. Ein Hauptproblem ist der Zeitabstand, in dem die Untersuchungen erfolgen. Es ist möglich, dass signifikante Veränderungen der Lymphozytensubsets auftreten, jedoch nicht erfasst werden. Auch ist noch unklar, in welchem zeitlichen Abstand zueinander immunologische Abstoßungsprozesse am Transplantat und der Abfall des C-Peptids in der Laboruntersuchung auftreten.

Trotzdem können die Veränderungen der Lymphozytensubsets beim einzelnen Patienten helfen, Über- und Unterimmunsuppression zu erkennen. Dies sollte aber zusammen mit anderen Faktoren im Rahmen eines immunologischen Monitorings erfolgen. Durch die Untersuchung größerer Patientenkollektive und engmaschige Bestimmung der Lymphozytensubsets, besonders in der initialen Phase nach Transplantation, steigt die Wahrscheinlichkeit, tatsächliche Transplantatabstoßungen sowohl der Inselzellen als auch der Nierentransplantate zu erfassen. Durch die häufigeren Probenbestimmungen kann man besser Abweichungen im individuellen Verlauf der Lymphozytensubsets erkennen und mit Abstoßungsereignissen korrelieren. Individuelle dynamische Referenzbereiche für Lymphozytensubsets scheinen dem Vergleich des einzelnen Patienten mit einer Kontrollgruppe hinsichtlich der Erkennung von problematischen klinischen Verläufen überlegen zu sein (ERREN, 1996). Bisher existieren noch zu wenige Daten von Inselzelltransplantierten, um unterschiedliche klinische Verläufe mit Verläufen verschiedener Lymphozytensubsets zu korrelieren und so dynamische Referenzbereiche zu erarbeiten.

Unter dem Begriff des multiparametrischen Immunmonitoring wird heute die Kombination verschiedener Parameter (Medikamentenblutspiegel, Nachweis transplantationsmedizinisch relevanter Erreger, Messung intrazellulärer Zytokine, Lymphozytenphänotypisierung und Lymphozytensubsetbestimmung, Erkennen antigenspezifischer Effektormechanismen) zur Beurteilung des Verlaufs nach Transplantation verstanden. Die Wirksamkeit eines multiparametrischen Immunmonitoring ist besonders bei Nierentransplantation nachgewiesen. Bei der Gabe von T-Zell-Antikörpern bei Nierentransplantation hat sich dieses Verfahren als erfolgreiche Methode erwiesen, um Infektionen zu vermeiden und die Dosierung von Immunsuppressiva zu reduzieren, ohne den Erfolg der Nierentransplantation zu gefährden (THERVET et al., 1997; ERREN, 1996; DÖCKE et al., 1994).

Eine Untersuchung bei 300 Patienten in der späten Phase nach Nierentransplantation (>1 Jahr) zeigte, dass ein Immunmonitoring durch durchflusszytometrische Erfassung von

Lymphozytensubsets und Monozytensubsets eine diagnostische und prädiktive Aussagekraft hinsichtlich verschiedener Komplikationen hat. Die Bestimmung der Lymphozytensubsets und Monozytensubsets kann bei Verschlechterung der Transplantatfunktion helfen, die akute Abstoßungsreaktion von anderen Ursachen (Infektion, Toxizität, Vaskulopathie) zu unterscheiden. Zusätzlich ist bei der Behandlung von akuten Abstoßungskrisen eine Vorhersage des Erfolgs einer Antiabstoßungsbehandlung möglich (REINKE und VOLK, 1992).

Deshalb sollte die durchflusszytometrische Bestimmung von Lymphozytensubsets im Rahmen eines immunologischen Monitorings nach Transplantation bei Inselzelltransplantationspatienten weiter verfolgt werden.

5. Zusammenfassung

Die Transplantatabstoßung ist im Rahmen der allogenen, intraportalen Inselzelltransplantation ein den Transplantationserfolg beschränkender Faktor. Im Rahmen der medikamentösen Immunsuppression werden Antilymphozytenserum eingesetzt. In der vorliegenden Arbeit wurden mittels Durchflusszytometrie die Veränderungen von Lymphozytensubsets bei Patienten nach allogener Inselzelltransplantation und Induktionssimmunsuppression mit polyklonalen Antilymphozytenserum untersucht. Ziel der Arbeit war es, Lymphozytensubsets bei Patienten nach allogener Inselzelltransplantation zu bestimmen und einen möglichen Zusammenhang zwischen Überleben der Inselzelltransplantate und Zellzahlen der Lymphozytensubsets sowie weiteren Spender-, Empfänger- und Transplantateigenschaften zu überprüfen.

Bei Patienten die polyklonale Antilymphozytenserum erhielten, wurde eine schnelle und signifikante Reduktion der Zellzahlen von Lymphozyten, CD3+ Zellen, CD4+ Zellen, CD4+ CD45 RO+ Zellen, CD4+ HLA-DR+ Zellen, CD56+ CD3- Zellen, TCR alpha/beta+ Zellen und TCR gamma/delta+ Zellen beobachtet. In diesen Lymphozytensubsets wurden im Zeitraum von 30 bis 60 Tagen nach Gabe der Antilymphozytenserum wieder Zellzahlen wie vor der Transplantation erreicht. Monozyten, CD19+ Zellen und Gesamtleukozyten wurden nicht signifikant in ihrer Zahl reduziert. Im Vergleich von Inselzelltransplantationspatienten nach Gabe von Antilymphozytenserum mit einer gesunden Kontrollgruppe finden sich nahezu über die gesamte Untersuchungsdauer von zwölf Monaten signifikant niedrigere Zellzahlen für Lymphozyten, CD3+ Zellen, CD4+ Zellen, TCR alpha/beta+ Zellen und CD19+ Zellen. Bereits vor Transplantation und Gabe der Antilymphozytenserum weisen die Inselzelltransplantationspatienten gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe signifikant niedrigere Zellzahlen in diesen Subsets auf. Auch im Vergleich der Inselzelltransplantationspatienten zu Patienten nach alleiniger Nierentransplantation, die keine polyklonalen Antilymphozytenserum erhielten, lassen sich in der erstgenannten Gruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum von sechs Monaten signifikant niedriger Zellzahlen in diesen Lymphozytensubsets nachweisen.

In der untersuchten Patientengruppe (n = 20) war das 1-Jahres-Transplantatüberleben mit 70 % außergewöhnlich hoch im Vergleich zu anderen Patientengruppen aus der medizinischen Literatur, die hinsichtlich wichtiger prädiktiver Faktoren für den Transplantaterfolg vergleichbar sind. In dieser Patientengruppe mit hohem Transplantatüberleben wurde überprüft, ob ein statistisch nachweisbarer Zusammenhang zwischen Spender-, Empfänger- und Transplantateigenschaften und dem Überleben der Inselzelltransplantate vorlag. Die Aussagekraft der statistischen Vergleiche zwischen Patienten mit Transplantatfunktion (n = 14)

gegen Patienten ohne Transplantatfunktion (n = 6) hinsichtlich der untersuchten Parameter sollte dabei vor dem Hintergrund der geringen Patientenzahlen betrachtet werden.

Es konnte kein signifikanter Einfluss der untersuchten Faktoren (Kalte Ischämiezeit weniger als 8 Stunden; Menge transplantiertes Inseläquivalente mehr als 6.000/kg/Körpergewicht; Histokompatibilität in HLA- A; B; DR, Insulinverbrauch vor Transplantation, Inselstimulationsindex, Inselzellviabilität, Ciclosporinblutspiegel) auf das Überleben der Inselzelltransplantate nachgewiesen werden.

Es konnte kein Zusammenhang zwischen Zellzahlen der Lymphozytensubsets und dem Überleben der Inselzelltransplantate nachgewiesen werden. Es konnte kein autoimmuner Einfluss auf das Transplantatüberleben anhand der Bestimmung von Inselzell-Autoantikörpern nachgewiesen werden, wobei nur bei wenigen Patienten Inselzell-Autoantikörper gefunden wurden.

Eine mögliche immunologische Abstoßung konnte anhand der durchflusszytometrisch bestimmten Lymphozytensubsets nicht erkannt werden. Es wurde keine Korrelation zwischen Zellzahlen der Lymphozytensubsets und einem Transplantatverlust gefunden. Dabei bestehen grundlegende Schwierigkeiten darin, dass nicht zu klären ist, ob es sich im Falle eines Verlustes der Inselzelltransplantatfunktion tatsächlich um einen immunologisch verursachten Transplantatverlust handelt und wann genau der Transplantatverlust stattfindet.

6. Summary

Graft rejection reduces success of allogenic transplantation. Antilymphocyte serum is used for immunosuppression, depleting lymphocytes. The objective was to use flow cytometry to examine changes in lymphocyte subsets after allogenic islet transplantation and inductive immunosuppression with antilymphocyte serum and to examine a possible connection between certain lymphocyte subsets and other donor-, recipient- and graft attributes and success of transplantation.

In patients receiving polyclonal lymphocyte serum a massive and rapid depletion of lymphocytes (CD3+ cells, CD4+ cells, CD4+ CD45 RO+ cells, CD4+ HLADR+ cells, CD56+ CD3- cells, TCR alpha/beta+ cells and TCR gamma/delta+ cells) can be observed. After 30-60 days a regeneration to levels prior to administration of the antilymphocyte serum was accomplished in these lymphocyte subsets. Monocytes, CD19+ cells and the leucocytes on the other hand were not reduced significantly. Comparing patients after administration of antilymphocyte serum and islet transplantation to a control group showed significantly lower cellcounts of lymphocytes and lymphocyte subsets (CD3+ cells, CD4+ cells, CD19, TCR alpha/beta+ cells) over almost the whole observational period of 12 months, the cell count was significantly lower even before transplantation. Comparing the islet transplantation patients receiving antilymphocyte serum to patients after renal transplantation (without antilymphocyte serum) showed a significantly lower cellcount in these lymphocyte subsets over the whole observational period of 6 months.

1-year-transplant survival was exceptionally good with 70 % in the examined group (n = 20), compared to patients with similar predictive factors found in the medical literature. In the examined group immunologic parameters and different donor-, recipient- and graft attributes were analysed (cold storage time <8h and transplanted islet equivalents >6.000, HLA matching in HLA-A,B,DR and Ciclosporin blood levels, insulin quantity needed prior to transplantation, islet stimulation index, islet viability) for a possible influence on graft survival. No significant influence of these donor-, recipient- and graft attributes could be found on graft survival nor a correlation between lymphocyte subsets, autoantibodies and functioning of the transplan, while only in a few cases autoantibodies were found.

It was not possible to predict a probable graft rejection by analysing lymphocyte subsets, in spite of a low number of patients in the subgroups (n = 6; n = 14). Another fundamental problem in this context is, that it cannot be clarified, if a loss of transplant function is caused by transplant rejection or other mechanisms.

7. Literaturverzeichnis

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION

Pancreas transplantation for patients with diabetes mellitus.

Diabetes Care. 1992; 15 (11):1668-72.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION

Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus.

Diabetes Care. 1997; 20 (7): 1183-97.

BALLINGERWF, LACY PE

Transplantation of intact pancreatic islets in rats.

Surgery. 1972; 72 (2):175-86.

BARTLETT ST, CHIN T, DIRDEN B , QUERESHI A, HADLEY GA

Inclusion of pancreatic lymph node cells prevents recurrent autoimmune destruction of islet transplants: evidence of donor chimerism.

Surgery. 1995; 118 (2): 392-7.

BARTLETT ST, SCHWEITZER EJ, KUO PC, JOHNSON LB, DELATORRE A, HADLEY GA

Prevention of autoimmune islet allograft destruction by engraftment of donor T cells.

Transplantation. 1997; 63 (2): 299-303.

BATCHELOR JR, LECHLER RI

Why MHC incompatible grafts induce strong primary alloimmunity.

Transplant Proc. 1982 ;14 (3): 535-7.

BELL L, GIARDIN C, SHARMA P, GOODYER P, MAZER

Lymphocyte subsets during and after rabbit anti-thymocyte globulin induction in pediatric renal transplantation: sustained T-cell depletion.

Transplant Proc. 1997; 29 (Suppl 7a); 6-9.

BHAT G, SCHROEDER TJ

Clinical role of immunologic monitoring during OKT3 treatment.

Transplant Proc. 1997; 29 (8A): 21-26.

BOCK HA, GALLATI H, ZURCHER RM, BACHOFEN M, MIHATSCH M, LANDMANN J, THIEL G

A randomized prospective trial of prophylactic immunosuppression with ATG-fresenius versus OKT3 after renal transplantation.

Transplantation. 1995; 59 (6): 830-40.

BONNEFOY-BERARD N, VINCENT C, REVILLARD J

Antibodies against functional leukocyte surface molecules in polyclonal antilymphocyte and antithymocyte globulins.

Transplantation. 1991; 51 (3): 669-73.

BOTTINO R, FERNANDEZ LA RICORDI C, LEHMANN R, TSAN MF, OLIVER R, INVERARDI L
Transplantation of allogenic islets of Langerhans in the rat liver- effects of macrophage depletion on graft survival and microenvironment activation.
Diabetes. 1998; 47 (3): 316-23.

BRANDO B, SOLMMARUGA E, CIVATI G, BUSNACH G, BROGGI ML, SEVESO M, MINETTI L
Monitoring of CDF+ CD28- T-helper cells in renal transplant recipients.
Transplant Proc. 1989; 21 (1 Pt 1): 1192-3.

BRAUN MY, Mc CORMACK A, WEBB G, BATCHELOR RJ
Mediation of acute but non chronic rejection of MHC-incompatible rat kidney grafts by alloreactive CD4 T-cells activated by the direct pathway of sensitization
Transplantation. 1993; 55 (1): 177-82.

BRENDEL MD, HERING BJ, SCHULTZ AO, BRETZEL RG (editors)
International Islet Transplant Registry, Newsletter 8, Draft 1999
on the occasion of the 7th World Congress of IPITA, Sydney August 22-25, 1999
International Islet Transplant Registry
Third Medical Department
University Hospital Giessen
Rodthol 6, 35392 Giessen, Germany

BRENDEL MD, HERING BJ, SCHULTZ AO, BRETZEL RG (eds)
International Islet Transplant Registry, Newsletter 9, Vol 8 (No 1), 2001
International Islet Transplant Registry
Third Medical Department
University Hospital Giessen
Rodthol 6, 35392 Giessen, Germany

BRETZEL RG, FEDERLIN K
Reversion of diabetic kidney lesions by islands of Langerhans transplantation in rats. Quantitative Morphology.
Verh Dtsch Ges Inn Med 1977; 17-21; 83.

BRETZEL RG, HERING BJ, STROEDTER D, ZEKORN T, and FEDERLIN F
Experimental islet transplantation in small animals
In: Ricordi C, editor. Pancreas Islet Cell Transplantation.
Austin, Georgetown: R.G. Landes, 1992.

BRETZEL RG, HERING BJ, FEDERLIN K
Islet transplant registry report 1991
Diab Nutr Metab. 1992; 5 (suppl.1); 177-181.

BRETZEL RG

Insel-und Pankreastransplantation bei Diabetes, Stand 1996.

Ther Umsch. 1996; 53 (12): 889-901.

BRETZEL RG, FEDERLIN K

Pancreas and islands of Langerhans transplantation in diabetes mellitus

Internist (Berl). 1987; 28 (4): 254-61.

BRUN P, STERKENS G, MAISAN A, BENALI K, BAUDOIN V, MACHER M, LOIRAT C

Flow-cytometry monitoring of antilymphocyte globulin therapy in pediatric renal transplantation.

Transplant Proc. 1995; 27 (2): 1744-5.

BURTON RC, COSIMI AB, COLVIN RB, RUBIN RH, DELMONICO FL, GOLDSTEIN G,
CHANDLER C and RUSSEL PS

Monoclonal antibodies to human T-cell subsets: Use for immunological monitoring and immunosuppression in renal transplantation

J Clin Immunol 1982; 2 (suppl. 3): 142-7.

CANTRELL PA, SMITH KA

The interleukin 2 T cell system: a new cell growth model.

Science 1984; 224: 1312-6.

CHANDLER C, PASSARO E jr

Transplant rejection. Mechanisms and treatment.

Arch Surg. 1993; 128 (3): 279-83.

CHATENOUD L, BACH JF

Therapeutic monoclonal antibodies in transplantation.

Transplant Proc. 1993; 25 (1 Pt 1): 473-4.

CHAUDHARY VK, QUEEN C, JUNGHANS RP, WALDMANN TA, FITZGERALD DJ, PASTAN I

A recombinant immunotoxin consistant of two antibody variable domains fused to Pseudomonas endotoxin.

Nature. 1989; 339 (6223): 394-7.

CLARK KR, FORSYTHE JL, SHENTON BK, LENNARD TW, PROUD G, TAYLOR RM

Administration of ATG according to the absolute T -lymphocyte count during therapy for steroid-resistant rejection.

Transpl Int. 1993; 6 (1): 18-21.

CUTURI MC, BLANCHO G, JOSIEN R, SOULILLOU JP

The biology of allograft rejection.

Curr Opin Nephrol Hypertens. 1994; 3 (6): 578-84.

DAVALLI AM, SCAGLIA L, ZANGEN DH et al.

Vulnerability of islets in the immediate posttransplant period. Dynamic changes in structure and function. Diabetes. 1996; 45 (9): 1161-7.

DELMONICO FL, COSIMI AB, JAFFERS GJ, SCHOOLEY RT, RUBIN RH, TOLKOFF- RUBIN N, FANG LT, RUSSEL PS

Immunological Monitoring of diabetic and nondiabetic recipients of renal allografts. J Surg Res. 1983; 35 (4) : 271-6.

DEUTSCHE DIABETES GESELLSCHAFT

Evidenzbasiert Diabetes Leitlinie DDG 2000

Deutsche Diabetes-Gesellschaft

Bürkle-de-la-Camp-Platz

44789 Bochum

DIDLAKE RH, KIM E ,SHEEAN K, SCHRIEBER RD, KAHAN BD

Effect of combined anti-gamma interferon antibody and cyclosporin therapy on cardiac allograft survival in the rat

Transplantation. 1988; 45; 222-3.

DÖCKE, WD, REINKE P, STAFFA G, SETTMACHER U, HÖGER T, GROTH J, LANG K, LOCK KU, PRÖSCH S, KIMEL V, WARNKE H, von BAEHR H,VOLK HD.

An immune monitoring program for management of immunosuppressive therapy in the early phase after transplantation.

Transplantationsmedizin. 1994; 6: 13-28.

ELLIS TM, BERRY CR, MENDEZ-PICON G, GOLDMAN MH, LOWER RR, LEE HM, MOHANAKUMAR T

Immunological monitoring of renal allograft recipients using monoclonal antibodies to human T lymphocyte subpopulations.

Transplantation. 1982; 33 (3): 317-9.

ERREN M

Multiparametrisches Immunmonitoring nach Organtransplantation.

Präsentiert auf dem Symposium und Workshop: Klinische und immunologische Aspekte nach Organtransplantation. Göttingen, 29-30.11. 1996.

FAIRCHILD RL, KOBAYASHI H, MIURA M

Chemokines and the recruitment of inflammatory infiltrates into allograft.

Graft. 2000; 3 (1); 524-31.

FANSLOW WC, SIMS JE, SASSENFELD H et al.

Regulation of alloreactivity in vivo by a soluble form of interleukin 1 receptor

Science. 1990; 248 (4956): 739-42.

FOSTER DW, UNGER RH

Diabetes mellitus. In: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, editors.
Williams Textbook of Endocrinology. 9th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998.

FRESENIUS

ATG-Fresenius: Substantial Features.
Fresenius AG, Division Immune Therapy (1998)
Am Haag 6, 82166 Gräfelfing, Germany.

GRUESSNER AC, SUTHERLAND DE

Analysis of United States (US) and non-US pancreas transplants as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of October 2001
Clin Transpl. 2001; 45-72.

GUTTMANN RD, CAUDRELIER P, ALBERICI G, TOURAINE JL

Pharmacokinetics, foreign protein immune response, cytokine release, and lymphocyte subsets in patients receiving thymoglobuline and immunosuppression.
Transplant Proc. 1997; 29 (suppl 7A): 24-6.

HALL B

Cells mediating allograft rejection
Transplantation. 1991; 51: 51-62.

HALLORAN PF, HOMIK J, GOES N, LUI SL, URMSON J, RAMASSAR V, Cockfield SM.

The "injury response"; a concept linking nonspecific injury, acute rejection, and long-term transplantation outcomes.
Transplant Proc. 1997; 29 (1-2): 79-81.

HAUNER H

Verbreitung des Diabetes mellitus in Deutschland
Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1998; 123: 777-82.

HERING BJ, BRETZEL RG, HOPT UT, BRANDHORST H, BRANDHORST D, BOLLEN CC, RAPTIS G, HELF F, GROSSMANN R, MELLERT J, et al.

New protocol toward prevention of early human islet allograft failure.
Transplant Proc. 1994 ; 26 (2): 570-1.

HERING BJ, RICORDI C

Islet transplantation for patients with type 1 diabetes.
Graft 1999; 2: 12-27

HOWARD M, MATIS L, MALEK TR, SHEVACH E, KELL W, COHEN D, NAKANISHI K, PAUL WE

Interleukin 2 induces antigen reactive T cell line to secrete BCGF-1

J Exp Med. 1983; 158 (6): 2024-39.

HIBBERD PL, TOLKOFF-RUBIN NE, CONTI D, STUART F, THISTLETHWAITE JR, NEYLAN JF, SNYDMAN DR, FREEMAN R, LORBER MI, RUBIN RH

Preemptive ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in cytomegalovirus antibody-positive renal transplant recipients. A randomized controlled trial.

Ann Intern Med. 1995; 123 (1): 18-26.

HYON SH, TRACEY KJ and KAUFMANN DB

Specific inhibition of macrophage-derived proinflammatory cytokine synthesis with a tetravalent guanylhydrazone-CNI1493 accelerates early graft function posttransplant.

Transplant Proc 1998; 30: 409-10.

IMAGAWA DK, MILLIS JM, OLTHOFF KM, OLTHOFF KM, SEU P, DEMPSEY RA, HART J, TERASAKI PI, BUSUTTIL RW

Anti-tumor necrosis factor antibody enhances allograft survival in rats.

J Surg Res. 1990; 48 (4): 345-8.

ISOBE M, YAGITA H , OKUMURA K, IHARA A

Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1.

Science 1992; 255 (5048): 1125-1127.

JAEGER C HERING BJ, DYRBERG T, FEDERLIN K, BRETZEL RG

Islet cell antibodies and glutamic acid decarboxylase antibodies in patients with insulin dependent diabetes mellitus undergoing kidney and islet-after-kidney transplantation.

Transplantation. 1996; 62 (3): 424-6.

JONES PT, DEAR PH, FOOTE J, NEUBERGER MS, WINTER G

Replacing the complimentary-determining regions in human antibody with those from a mouse.

Nature 1986; 321 (6069): 522-5.

KEOWN PA

Immunological monitoring in organ transplantation and autoimmune disease.

J Autoimmune 1992; 5 (suppl A): 343-8.

KRENSKY AM, WEISS A, CRABTREE G, DAVIS MM, PARHAM P

T-Lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection.

N Engl J Med; 1990; 322 (8): 510-7.

KRUPIN T, WALTMANN SR, SCHARP DW, OESTRICH C, FELDMANN SD, BECKER B, BALLINGER WF, LACY PE

Ocular fluorophotometry in streptozotocin diabetes mellitus in the rat: effect of pancreatic islet isografts.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 1979; 18 (11): 1185-90.

LANGERHANS P

Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse.

Inauguraldissertation, Medizinische Fakultät der Friedrich Wilhelm Universität; Berlin; 1869.

LECHLER RI BATCHELOR RJ

Restoration of immunogenicity to passenger cell depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cells

J Exp Med. 1982; 155 (1): 31-41

LENZEN D, DRINKGERN J and TIEDGE M

Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues.

Free Radical Biol Med. 1996; 20: 463-6.

LISLEY PS, WALLACE PM, JOHNSON J, GIBSON MG, GREENE JL, LEDBETTER JA, SINGH C, TEPPER MA

Immunosuppression in vivo by a soluble form of the CTLA-4 T-cell activation molecule.

Science 1992; 257 (5071): 792-5.

LIU Z, SUN YK, XI YP, MAFFEI A, REED E, HARRIS P, SUCIU-FOCA N

Contribution of direct and indirect recognition pathways to cell alloreactivity

J Exp Med. 1993; 177 (6): 1643-50.

LOSEKE C

Quality of life after transplantation.

Diab Care. 1990; 13: 541.

LONDON NJ, CONTRACTOR H, LAKE SP, AUCOTT GC, BELL PR, JAMES RF

A fluorometric viability assay for single human and rat islets

Horm Metabol. 1990; 25: 82-7.

MAZAHERI R, STILLER CR, KEOWN PA

Clinical leukocyte phenotyping by laser flow cytometry and monoclonal antibodies (immuno-cytometry) in renal transplantation.

Diagnostic Immunol. 1986; 4 (5): 257-67.

MELAMED MR

Analysis of Measurements

In: Melamed M.R Lindmo T. Mendelsohn M.L, editors. Flow Cytometry and Sorting. 2nd ed.

New York: Wiley-Liss, 1994

MENGER MD, VAJKOCZY P, LEIDERER R JAGER S, MESSMER K

Influence of experimental hyperglycemia on microvascular blood perfusion on pancreatic islet isografts.

J Clin Invest. 1992; 90 (4): 1361-9.

MICHAELIS D, JUTZI E

Epidemiologie des Diabetes mellitus in der Bevölkerung der ehemaligen DDR. Alters- und geschlechtsspezifische Inzidenz- und Prävalenzrends im Zeitraum von 1960-1987.

Z. Klin. Med. 1991; 46: 59-64.

MINKOWSKI O

Weitere Mitteilungen über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas.

Berl Klin Wochenschrift 1892; 29: 90-4.

MOREL P, GOETZ F, MOUDRY-MUNNS KC, FREIER E, SUTHERLAND DE

Long term metabolic control in patients with pancreatic transplants.

Ann Intern Med. 1991; 115 (9): 694-9.

MOSKALEWSKI S

Isolation and culture of islets of Langerhans of the guinea-pig.

Gen Comp Endocrinol. 1965; 5: 342-53.

MULLEN Y, FUJIYA H, MOTOJIMA K, HAGEMEISTER B, TAKASUGI M, BROWN J

Autoimmune destruction of syngenic pancreatic B cells in diabetic NOD mice.

Transplant Proc. 1986; 18 (4): 831-3.

MULLER TF, GREBE SO, RECKZEH B, BORUTTA A, RADSAK K, LANGE H

Short and long term effects of polyclonal antibodies.

Transplant Proc. 1999; 31 (suppl 3B): 12-5.

MULLER TF, GREBE SO, NEUMANN MC, HEYMANNS J, RADSAK K, SPRENGER H, LANGE H

Persistent long term changes in lymphocyte subsets induced by polyclonal antibodies. Transplantation.

1997; 64 (10): 1432-7.

NAKAI I, OKA T, FIELD JM, PERRY E, NAJARIAN JS, SUTHERLAND DE, BRAYMAN KL

Occurrence and prevention of graft-vs-host disease after pancreaticoduodenal transplant in BB-rat.

Transplant Proc. 1993; 25 (1 Pt 2): 965-7.

NAJARIAN JS, SIMMONS RL, CONDIE RM, TOMPSON EJ, FYRD DS, HOWARD RJ, MATAS AJ, SUTHERLAND DER, FERGUSON RM and SCHMIDKE JR

Seven years`experience with antilymphoblast globin for renal transplantation from cadaver donors.

Ann Surg. 1976; 184 (3): 352-68.

NAJI A, SILVERS WK, BELLGRAU D, BELLGRAU D, BARKER CF

Spontaneous diabetes in rats: destruction of islets prevented by immunological tolerance. Science. 1981;

213 (4514): 1390-2.

NOMIKOS IN, PROWSE SJ, CAROTENUTO O, LAFFERTY KJ

Combined treatment with nicotinamide and desferroxamine prevents allograft destruction in NOD mice.

Diabetes. 1986; 35 (11): 1302-4.

NOMIKOS IN, WANG Y, LAFFERTY KJ

Involvement of O₂ radicals in 'autoimmune' diabetes.

Immunol Cell Biol. 1989; 67 (Pt 1): 85-7.

PETER HH, PICHLER WJ (Hrsg)

In: Klinische Immunologie, 2.Auflage.

München, Urban Schwarzenberg, 1996

RABINOVITCH A, SUAREZ PINZON WL, STRYNADKA K LAKEY JR, RAJOTTE RV

Human pancreatic islet beta-cell destruction by cytokines involves oxygen free radicals and aldehyde production.

J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81 (9): 3197-202.

REBELLATO LM GROSS U VERBANAC KM THOMAS JM

A comprehensive definition of the major antibody specificities in polyclonal rabbit antithymocyte globin.

Transplantation. 1994; 57 (5): 685-94.

REINKE P, VOLK HD

Diagnostic and predictive value of an immune monitoring program for complication after kidney transplantation

Urol Inter. 1992; 49 (2): 65-75.

RIECHMANN L, CLARK M, WALDMANN H, WINTER G

Reshaping human antibodies for therapy

Nature. 1988; 322 (6162): 323-7.

RICORDI C, LACY PE, FINKE EH, OLACK BJ, SCHARP DW

Automated Method for isolation of human pancreatic islets

Diabetes. 1988; 37 (4): 413-20.

RICORDI C, LACY PE, SCHARP DW

Automated islet isolation from human pancreas.

Diabetes. 1989; 38 (Suppl 1): 140-2.

ROAKE JA, AUSTYN JM.

The role of dendritic cells and T cell activation in allograft rejection.

Exp Nephrol. 1993; 1(2): 90-101.

ROBERTSON RP, DAVIS C, LARSEN J, STRATTA R, SUTHERLAND DE, AMERICAN DIABETES ASSOCIATION

Pancreas transplantation for patients with type 1 diabetes

Diabetes Care. 2003; 26 (Suppl 1): 120.

ROSENBERG AS, SINGER A

Cellular basis of skin allograft rejection: An in vivo model of immune mediated tissue destruction.
Ann Rev Immunology. 1993; 10: 333-58.

RUBIN RJ, ALTMAN WM, MENDELSON DN

Health care expenditure for people with Diabetes mellitus, 1992.

J Clin Endocrine Metab. 1994; 78 (4): 809.

RUBIN RH, COSMI AB, HIRSCH MS, HERRIN JT, RUSSEL PS, TOLKOFF-RUBIN NE

Effects of antithymocyte globulin on cytomegalovirus infection in renal transplant recipients.

Transplantation. 1981; 31 (2): 143-5.

SCHMIDT RE, PLURAD SB, OLACK BJ, SHARP DW

The effect of pancreatic islet transplantation and insulin therapy on experimental diabetic autonomic neuropathy.

Diabetes. 1983; 32 (6): 532-40.

SCHWARTZ RH

T-Zell anergy

Sci Am. 1993; 269 (2): 62-3, 66-71.

SESTER U, SESTER M, HEINE G, KAUL H, GIRNDT M, KÖHLER H

Strong depletion of CD14+CD16+ monocytes during haemodialysis treatment

Nephrol Dial Transplant (2001) 16: 1402-1408

SHENTON BK, WHITE MD, BELL AE, CLARK K, RIGG KM, FORSYTHE JL, PROUD G, TAYLOR RM

The paradox of ATG Monitoring in renal transplantation

Transplant Proc. 1994; 26 (6): 3177-80.

STEGALL MD, LOBERMANN Z, OSTROWSKA A, COULOMBE M, GILL RG

Autoimmune destruction of islet grafts in the NOD mouse is resistant to 15 deoxyspergualin but sensitive to anti-CD4 antibody.

J Surg Res. 1996; 64 (2): 156-60.

STROM TB, KELLEY VE

Toward more selective therapies to block undesired immune responses.

Kidney Int. 1989; 35 (4): 1026-33.

SUTHANTHIRAN M

Signaling features of T-cells. Implications for the regulation of the anti-allograft response.

Kidney Int Suppl. 1993; 43: 3-11.

SUTHERLAND DE

Effect of pancreas transplants on secondary complications of diabetes: review of observations at a single institutions.

Transplant Proc. 1992; 24 (3): 859-60.

SUTHERLAND DE, GOETZ FC, SIBLEY RK

Recurrence of disease in pancreas transplants.

Diabetes. 1989; 38 (suppl. 1): 85-7.

SUTHERLAND DE, KENDALL D

Pancreas transplantation-registry report and a commentary.

West J Med. 1985; 143 (6): 845-52.

TELLIDES G, DALLMANN MJ, MORRIS PJ

Synergistic interactions of Ciclosporin A with interleukin 2 receptor monoclonal antibody therapy.

Transplant Proc. 1988; 20 (2 suppl. 2): 202-6.

TERDA M, SALZER M, LENNARTZ K, MULLEN Y

The effect of H-2 compatibility on pancreatic beta cell survival in the nonobese diabetic mouse.

Transplantation. 1988; 45(3): 622-7.

THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATION TRIAL RESEARCH GROUP.

The effect of intensive treatment of diabetes and development and progression of long term complications in insulin-dependent diabetes mellitus.

N Engl J Med. 1993; 329: 977-6.

THERVET E, CHATENOUD L, LEGENDRE C, MAMZER-BRUNEEL MF, KREIS H, BACH JF

Clinical significance of T-cell monitoring during antilymphocyte globulin induction in renal transplantation.

Transplant Proc. 1997; 29 (5): 2330-1.

TSUNODA SM, AWEEKA FT

The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy.

Clin Pharmacokinet. 1996; 30 (2): 107-40.

TYDEN G, GROTH CG

Pancreatic transplantation

Int J Technol Assess Health Care. 1986; 2 (3): 483-96.

WARNOCK GL, AO Z, CATTRAL MS

Experimental islet transplantation in large animals

In: Ricordi C, editor. Pancreas Islet Cell Transplantation.

Austin, Georgetown: R.G. Landes; 1992. p. 261-278.

WARNER NL

Human lymphocyte subpopulations: analysis by multiparameter flow cytometry and monoclonal antibodies.

Cancer Detect Prev Suppl. 1987; 1: 515-23.

WANG Y, McDUFFIE M, NOMIKOS IN, HAO L, LAFFERTY KJ

Effect of cyclosporin on immunologically mediated diabetes in nonobese diabetic mice

Transplantation. 1988; 46 (suppl. 2): 101-6.

8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADA	American Diabetes Association
ATG	Antithymozytenglobulin; polyklonales Antilymphozytenserum
DDG	Deutsche Diabetes Gesellschaft
IAK	Islet After Kidney
IDDM	Insulinabhängiger Diabetes mellitus
IEQ	Isletequivalent
ITA	Islet Transplantation Alone
ITR	International Islet Transplant Registry
ITX	Inselzelltransplantation
NIDDM	Nicht Insulinabhängiger Diabetes mellitus
NTX	Nierentransplantation
ns	nicht signifikant
PAK	Pankreas After Kidney
PTA	Pancreas Transplantation Alone
s	signifikant
SIK	Simultaneous Islet Kidney
SIL	Simultaneous Islet-Liver
SPK	Simultaneous Pankreas Kidney
Tab.	Tabelle
TCR	T-Zell Rezeptor
TNF	Tumor Nekrose Faktor
TX	Transplantation
25-75%P	25% Perzentil und 75% Perzentil

9. Anhang

9.1 Lebenslauf

Name	Gunther Döring
Geboren am	22.6.1973
In	Fulda
Eltern	Bruno und Waltraud Döring, geb. Rehberg
1979-1983	Grundschule Bad Soden
1983-1992	Ulrich von Hutten-Gymnasium, Schlüchtern
5/1992	Abitur
1992-1993	Zivildienst im Rettungsdienst
1993-1999	Studium der Humanmedizin an der Justus Liebig-Universität in Giessen
1999-2000	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
5/2000	Ärztliche Prüfung
10/2000	Beginn Tätigkeit als Arzt im Praktikum in der Kinderklinik der Technischen Universität München
5/2001	Approbation als Arzt
Seit 1.5.2001	Tätigkeit als Wissenschaftlicher Angestellter (Arzt) in der Kinderklinik der Technischen Universität München

9.2 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. R.G. Bretzel, Leiter der Medizinischen Klinik III und Poliklinik am Zentrum für Innere Medizin der Justus Liebig Universität in Giessen für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung der Arbeit. Seinem Engagement verdanke ich die Möglichkeit überhaupt diese Arbeit erstellen zu können. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Mathias Brendel für die Initiierung und Betreuung der Arbeit.

Allen Mitarbeitern der Inselzelltransplantation an der Medizinischen Poliklinik in Giessen und den Mitarbeitern der „International Islet Transplant Registry“ in Giessen danke ich herzlichst für Ihre unentbehrliche und immer freundliche Unterstützung, besonders zu erwähnen sind jedoch Frau Birte Hußmann, Frau Birgit Janzick, Herrn Andreas Schultz und Frau Ramona Vietzke.