

Aus der Bundesanstalt für Milchforschung
Institut für Biochemie und Physiologie der Ernährung
Kiel

Eingereicht über das Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Auswirkungen von Matrix- und Fällbadmodifikationen auf das
funktionelle Überleben von mikroverkapselten
Langerhans'schen Inseln in vitro**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde des Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Eingereicht von
Axel von Horsten
Tierarzt aus Heide / Holstein

Hamburg, September 2002

Journal Nr.: 2572

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. F. G. Schmidt

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Martens

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Schrezenmeir

Tag der Promotion: 29. August 2002

gewidmet
meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	9
2. Material und Methoden	12
2.1. Versuchstiere	12
2.1.1. Spendertiere	12
2.2. Gewinnung der neonatalen Ratteninseln	12
2.2.1. Inselisolierung	12
2.2.2. Explantation	12
2.2.3. Digestion	13
2.2.4. Reinigung im Dichtegradienten	14
2.3. Einkapsulierung der neonatalen Ratteninseln	16
2.3.1. Aufbau der Einkapsulierungsanlage	16
2.3.2. Kapselmodifikationen	18
2.3.3. Ansatz der Alginat-Lösung	20
2.3.4. Modifikationen der Alginat-Lösung	20
2.3.4.1. Alginat-Lösung versetzt mit Albumin	20
2.3.4.2. Alginat-Lösung versetzt mit Transferrin	21
2.3.4.3. Alginat-Lösung versetzt mit Hämoglobin	21
2.3.4.4. Alginat-Lösung versetzt mit Erythrozyten	21
2.3.4.5. Alginat-Lösung versetzt mit Erythrozytenhämolysat	22
2.3.5. Ansatz der Bariumchlorid-Lösung	23

2.3.6. Modifikationen der Bariumchlorid-Lösung	23
2.3.6.1. Bariumchlorid-Lösung versetzt mit Eisen II	23
2.3.6.2. Bariumchlorid-Lösung versetzt mit Eisen III	23
2.3.7. Durchführung der Einkapsulierung	24
2.4. Kultivierung	28
2.5. Funktionstest	28
2.6. Insulinbestimmung	29
2.7. Histologie	30
2.7.1. Fixierung	30
2.7.2. Schneiden	30
2.7.3. Färben	31
2.7.4. Mikroskopie und Photographie	32
2.7.5. Vitalitätsbestimmung der verkapselten Inselzellen	32
2.8. Statistische Analyse	32
3. Ergebnisse	37
3.1. Herstellungsbedingungen optimaler Kapseln	37
3.2. Insulinsekretionen der unterschiedlichen Kapseltypen	38
3.2.1. Fällbadmodifikation	38
3.2.1.1. Bariumalginat-Kapseln	38
3.2.1.2. Bariumalginat-Eisen-II-Kapseln	39
3.2.1.3. Bariumalginat-Eisen-III-Kapseln	40
3.2.2. Alginatmodifikationen	41

3.2.2.1. Bariumalginat-Albumin-Kapseln	41
3.2.2.2. Bariumalginat-Transferrin-Kapseln	42
3.2.2.3. Bariumalginat-Hämoglobin-Kapseln	43
3.2.2.4. Bariumalginat-Erythrozyten-Kapseln	44
3.2.2.5. Bariumalginat-Erythrozytenhämolysat-Kapseln	45
3.3. Stimulierbarkeit der unterschiedlichen Kapseltypen	47
3.4. Vitalität der unterschiedlich mikroverkapselten Ratteninseln	49
4. Diskussion	50
5. Zusammenfassung	60
6. Summary	63
7. Rohdaten	65
8. Literaturverzeichnis	82

Vorwort

Hiermit möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die es mir ermöglicht haben, in der zurückliegenden Zeit, trotz vieler Tiefen und Höhen diese Forschungsarbeit zu einem guten Ende gebracht zu haben.

Insbesondere möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Jürgen Schrezenmeir bedanken, der mir dieses Forschungsthema und die hierfür erforderlichen Mittel zur Verfügung gestellt hat. Desweiteren möchte ich mich bei ihm für die Hilfsbereitschaft bei der Lösung schwieriger Probleme bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Christiane Laue für ihre zu allen Tages- und Nachtzeiten vorhandene Hilfsbereitschaft, für ihre Ratschläge und liebevolle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit. Ebenfalls danken möchte ich ihr für die Korrektur.

Bedanken möchte ich mich auch bei den wissenschaftlichen Mitarbeitern im Institut, Herrn Dr. Michael de Vrese, Herrn Dr. Martin Klempt, Frau Dr. Maria Pfeuffer und Herrn Dr. Nils Roos für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung, für EDV Probleme, bei labortechnischen Fragen und anderer kleinerer Probleme.

Zuletzt möchte ich mich bei allen „Laborleuten“ in Kiel und in der Aussenstelle Schaedtбек, Frau Anne Westphal für die Einführung in die Isolationstechnik, Herrn Dieter Siewertsen und Herrn Jochen Kunze für die Hilfe beim präparieren, Frau Uta Settler für die Einführung in die Erythrozytenisolierung, Frau Silvia Kaschner für die Bestimmung des Eisengehaltes, Frau Angelika Thoß, Frau Michaela Steinke und Frau Daniela Plön bedanken, welche mich in der vergangenen Zeit meiner Doktorarbeit wissenschaftlich und menschlich begleitet haben.

Hiermit versichere ich, daß ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Die eingereichte Dissertation wurde keiner anderen Fakultät vorgelegt. Weder besitze ich einen Doktorgrad, noch wurde mir bisher ein Erworbener aberkannt. Desweiteren habe ich noch kein Promotionsverfahren erfolglos beendet.

Hamburg, im September 2002

Axel von Horsten

Lebenslauf

Name: Axel von Horsten
Geburtsdatum: 19. Oktober 1965 in Heide/Holstein
Familienstand: ledig; 1 Kind
Eltern: Ernst-Otto von Horsten
Anke von Horsten, geb. Boysen

Berufs- und Schulausbildung:

1972 - 1976 Grundschule in Lohe-Rickelshof

1976 - 1984 Klaus-Groth-Realschule in Heide/Holstein
Abschluß: Mittlere Reife

1984 - 1987 Friedrich Köster GmbH & Co.KG
Ausbildung zum Maschinenbaumechaniker

1987 - 1990 Gymnasium in Meldorf
Abschluß: Abitur

Berufliche Tätigkeiten:

1990 - 1991 Maschinenbaumechaniker in Hamburg

1991 - 1992 Büro- und Schreibwarengroßhandel
Rosepapier in Heide/Holstein

Hochschulausbildung:

10/92 - 3/98 Studium der Veterinärmedizin an der
Freien Universität in Berlin

5/98 - 2/01 Doktorand an der Bundesanstalt für
Milchforschung in Kiel

Berufliche Tätigkeit:

seit 3/01 Tierärztekammer Niedersachsen