

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Herstellungsbedingungen optimaler Kapseln

Um die optimalsten Herstellungsbedingungen für die unterschiedlichen Kapseltypen herauszufinden, waren viele Vorversuche nötig. Die einzelnen Parameter mußten vielfach geändert werden, bis die Einstellungen für jeden Kapseltyp zufriedenstellend waren. Die Tabelle 1 zeigt einen Überblick der Parameter, die sich als optimale Bedingungen für die Herstellung der unterschiedlichen Kapseltypen erwiesen.

**Tabelle 1:**

	Ba <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Albumin	Transf.	Hb	Erys	Eryhäm.
Luftdruck mbar	750	750	750	800	1000	800	850	900
Abstand in cm Düse-Fällbad	4,5	4,5	4,5	5	5-6	5	5	5
Größe in µm	700	700	700	700	650	700	700	650

Um gleich große und runde Kapseln herstellen zu können, darf der Druck des Luftstromes und der Abstand zwischen Öffnung der Düse und der Fällbadoberfläche im Herstellungsprozeß nicht verändert werden. Die Kapseln würden sonst ungleichmäßig werden.

Die Konzentration der Alginat-Lösung sollte nicht unter 2 % sein, da die Kapseln sonst oval bis tropfenförmig werden. Ebenso ist eine Endkonzentration über 2 % zu vermeiden, da die Viskosität der Alginat-Lösung stark zunehmen würde und es sehr leicht zum Verstopfen der Düse kommt.

Das Volumen des Fällbades im Becherglas betrug ca. 120 ml. Die Rührgeschwindigkeit sollte gering sein, außer bei der Herstellung des Hämoglobinkapseltyps. Hier muß die Geschwindigkeit hoch sein, um die auf die Oberfläche des Fällbades auftreffenden Kapseln sofort in die Tiefe zu ziehen. Bei zu niedriger Geschwindigkeit sammeln sich die Kapseln zum Teil auf der Oberfläche und verkleben und verklumpen dort.

## 3.2. Insulinsekretionen der unterschiedlichen Kapseltypen

### 3.2.1. Fällbadmodifikationen

#### 3.2.1.1. Bariumalginat-Kapseln

##### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 2 u. 10)

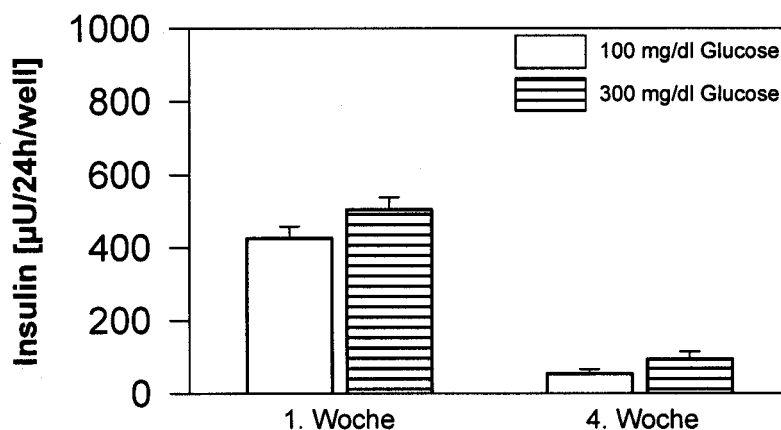
Die Insulinsekretion neonataler Ratteninseln dieses Kapseltyps betrug am 4. Tag unter Basalbedingungen (RPMI mit 100mg% Glucose)  $425,5 \pm 33,4 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen (RPMI mit 300 mg/dl Glucose + 2,2 mg/dl IBMX) mit  $504,6 \pm 33,6 \mu\text{U/ml}$  leicht höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $53,5 \pm 12,4 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen auf einen Wert von  $92,9 \pm 21,8 \mu\text{U/ml}$  an [ $p < 0,002$ ].

##### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 2 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $425,5 \pm 33,4 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $11,5 \pm 1,7 \%$  der basalen Ausgangssekretion sehr stark ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $138,4 \pm 12,3 \%$  (5. Tag) ebenfalls sehr stark auf  $18,6 \pm 3,1 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 2:** Insulinsekretionen der in Bariumalginat verkapselten Inseln ( $n = 33$ )

### 3.2.1.2. Bariumalginat-Eisen-II-Kapseln

#### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 3 u. 10)

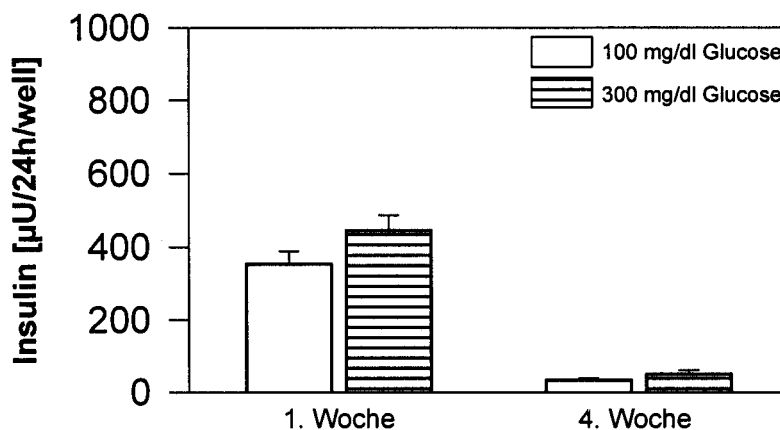
Die Insulinsekretion neonataler Ratteninseln des Eisen-II-Kapseltyps war etwas geringer als die der Bariumalginat-Kapseln. Am 4. Tag betrug sie unter Basalbedingungen  $354,1 \pm 34,1 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $445,1 \pm 41,4 \mu\text{U/ml}$  leicht höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $32,9 \pm 5,9 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen ebenfalls leicht auf einen Wert von  $50,1 \pm 10,4 \mu\text{U/ml}$  an [ $p < 0,02$ ].

#### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 3 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $354,1 \pm 34,1 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $9,5 \pm 1,3 \%$  der basalen Ausgangssekretion sehr stark ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $130,7 \pm 6,9 \%$  (5. Tag) ebenfalls sehr stark auf  $13,4 \pm 1,8 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 3:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Eisen-II-Kapseln ( $n = 26$ )

### 3.2.1.3. Bariumalginat-Eisen-III-Kapseln

#### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 4 u. 10)

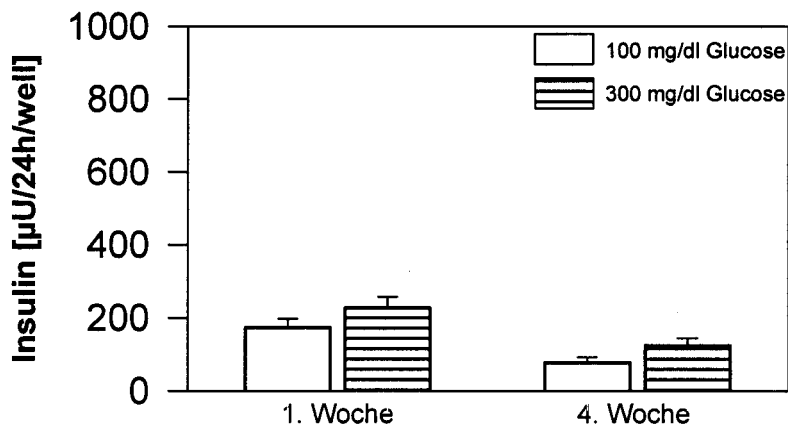
Die Insulinsekretion neonataler Ratteninseln des Eisen-III-Kapseltyps ist in der 1. Woche deutlich geringer, in der 4. Woche jedoch höher als bei den Bariumalginat- und Eisen-II-Kapseln. Am 4. Tag betrug sie unter Basalbedingungen  $173,5 \pm 23,9 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $227,6 \pm 29,9 \mu\text{U/ml}$  geringfügig höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $76,9 \pm 14,7 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen auf einen Wert von  $123,6 \pm 20,7 \mu\text{U/ml}$  an [ $p < 0,00$ ].

#### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 4 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $173,5 \pm 23,9 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $42,3 \pm 7,7 \%$  der basalen Ausgangssekretion deutlich ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $134,2 \pm 3,7 \%$  (5. Tag) ebenfalls deutlich auf  $67,1 \pm 8,5 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 4:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Eisen-III-Kapseln ( $n = 24$ )

### 3.2.2. Alginatmodifikationen

#### 3.2.2.1. Bariumalginat-Albumin-Kapseln

##### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 5 u. 10)

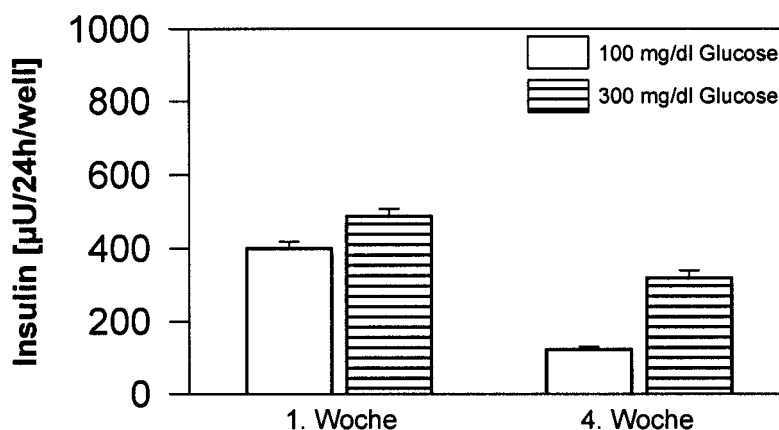
Die Insulinsekretion der einzigen Alginatmodifikation mit einem nicht Eisen beinhaltenden Eiweiß betrug am 4. Tag unter Basalbedingungen  $400,3 \pm 18,7 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $487,5 \pm 19,9 \mu\text{U/ml}$  geringfügig höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $122,7 \pm 7,6 \mu\text{U/ml}$  und war damit höher als jede Fällbadmodifikation. Am 33. Tag stieg sie unter stimulierten Bedingungen auf einen Wert von  $319,3 \pm 20,5 \mu\text{U/ml}$  sehr stark an [ $p < 0,00$ ].

##### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 5 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $400,3 \pm 18,7 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $30,6 \pm 1,7$  % der basalen Ausgangssekretion sehr stark ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $123,8 \pm 5,0$  % (5. Tag) leicht auf  $79,0 \pm 4,2$  % (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 5:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Albumin-Kapseln (n = 44)

### 3.2.2.2. Bariumalginat-Transferrin-Kapseln

#### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 6 u. 10)

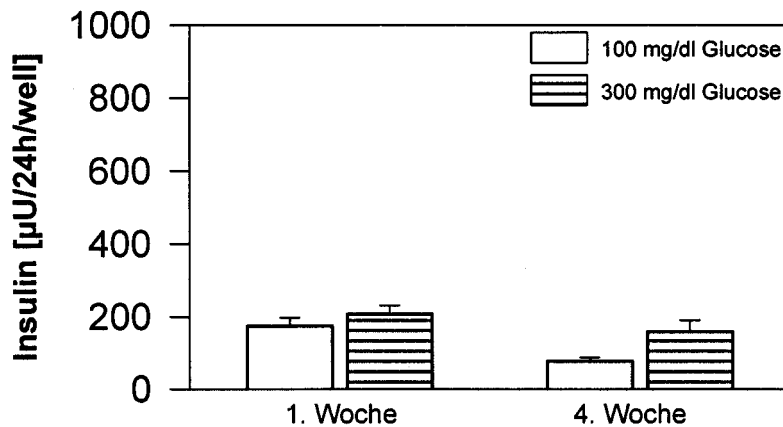
Die Insulinsekretionen neonataler Ratteninseln der Transferrin-Kapseln waren deutlich niedriger als die der Albumin-Kapseln. Am 4. Tag betrug sie unter Basalbedingungen  $174,4 \pm 22,4 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $206,6 \pm 24,0 \mu\text{U/ml}$  geringfügig höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $76,6 \pm 11,1 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen leicht auf einen Wert von  $158,4 \pm 32,2 \mu\text{U/ml}$  an [ $p < 0,00$ ].

#### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 6 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $174,4 \pm 22,4 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $50,9 \pm 4,5 \%$  des basalen Ausgangswertes deutlich ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $130,2 \pm 6,2 \%$  (5. Tag) leicht auf  $79,3 \pm 8,3 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 6:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Transferrin-Kapseln (n = 31)

### 3.2.2.3. Bariumalginat-Hämoglobin-Kapseln

#### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 7 u. 10)

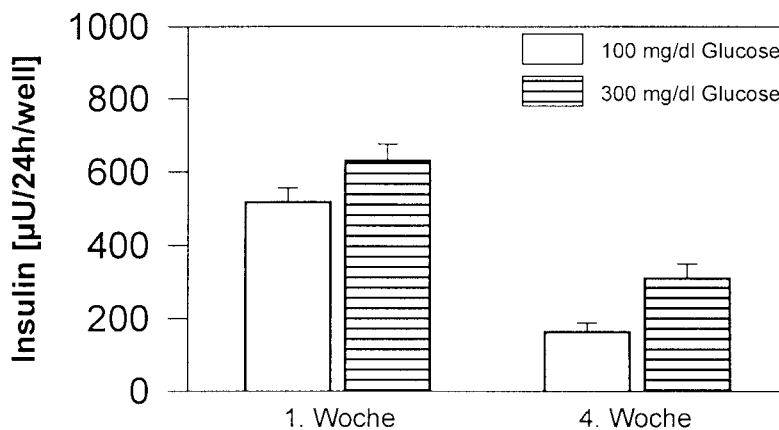
Die Insulinsekretion der Hämoglobin-Kapseln war deutlich höher als die der Transferrin-Kapseln und der Albumin-Kapseln in der 1. Woche. In der 4. Woche lagen sie ungefähr gleich auf. Am 4. Tag betrug sie unter Basalbedingungen  $517,7 \pm 38,6 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $630,5 \pm 45,0 \mu\text{U/ml}$  leicht höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $162,8 \pm 24,4 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen auf einen Wert von  $310,1 \pm 40,5 \mu\text{U/ml}$  stark an [ $p < 0,00$ ].

#### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 7 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $517,7 \pm 38,6 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $32,4 \pm 4,6 \%$  des basalen Ausgangswertes sehr stark ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $124,9 \pm 4,3 \%$  (5. Tag) ebenfalls sehr stark auf  $53,4 \pm 4,4 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 7:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Hämoglobin-Kapseln  
(n = 28)

### 3.2.2.4. Bariumalginat-Erythrozyten-Kapseln

#### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 8 u. 10)

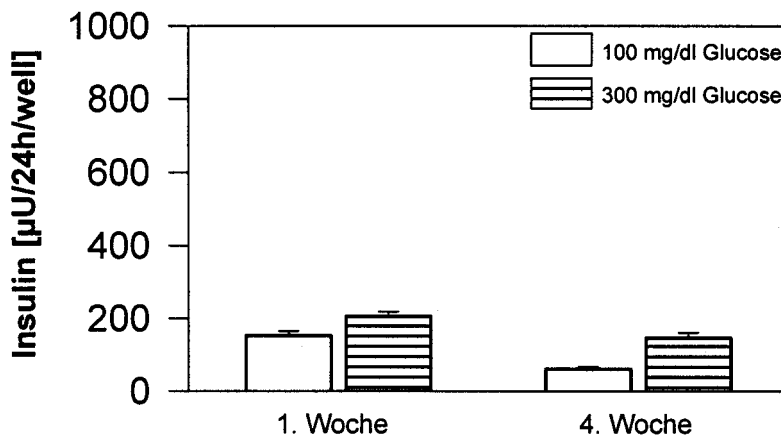
Die Insulinsekretion der Erythrozyten-Kapseln war im Vergleich zu den Hämoglobin-Kapseln sehr niedrig. Sie betrug am 4. Tag unter Basalbedingungen  $152,5 \pm 12,2 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $205,7 \pm 13,3 \mu\text{U/ml}$  leicht höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $60,9 \pm 7,0 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen ebenfalls leicht auf einen Wert von  $146,3 \pm 14,1 \mu\text{U/ml}$  an [ $p < 0,00$ ].

#### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 8 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $152,5 \pm 12,2 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $65,7 \pm 18,2 \%$  des basalen Ausgangswertes stark ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $155,1 \pm 10,7 \%$  (5. Tag) weniger stark auf  $124,3 \pm 22,1 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 8:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Erythrozyten-Kapseln  
(n = 31)



### 3.2.2.5. Bariumalginat-Erythrozytenhämolysat-Kapseln

#### I. Absolute Insulinsekretion (Abb. 9 u. 10)

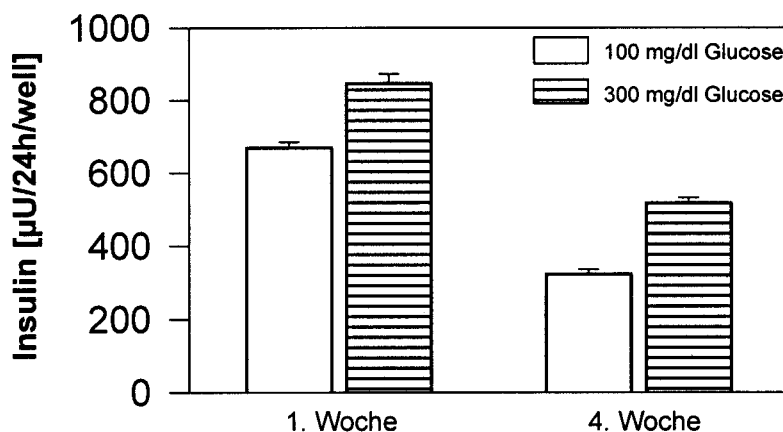
Im Gegensatz zu den Erythrozyten-Kapseln sind die Insulinsekretionen der Erythrozytenhämolysat-Kapseln um ein vielfaches höher. Die Insulinsekretion betrug am 4. Tag unter Basalbedingungen  $669,2 \pm 15,6 \mu\text{U/ml}$  und lag am 5. Tag unter stimulierten Bedingungen mit  $846,5 \pm 26,5 \mu\text{U/ml}$  deutlich höher [ $p < 0,00$ ].

Am 32. Tag lag die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bei  $324,1 \pm 13,1 \mu\text{U/ml}$  und stieg am 33. Tag unter stimulierten Bedingungen ebenfalls deutlich auf einen Wert von  $517,3 \pm 14,9 \mu\text{U/ml}$  an [ $p < 0,00$ ].

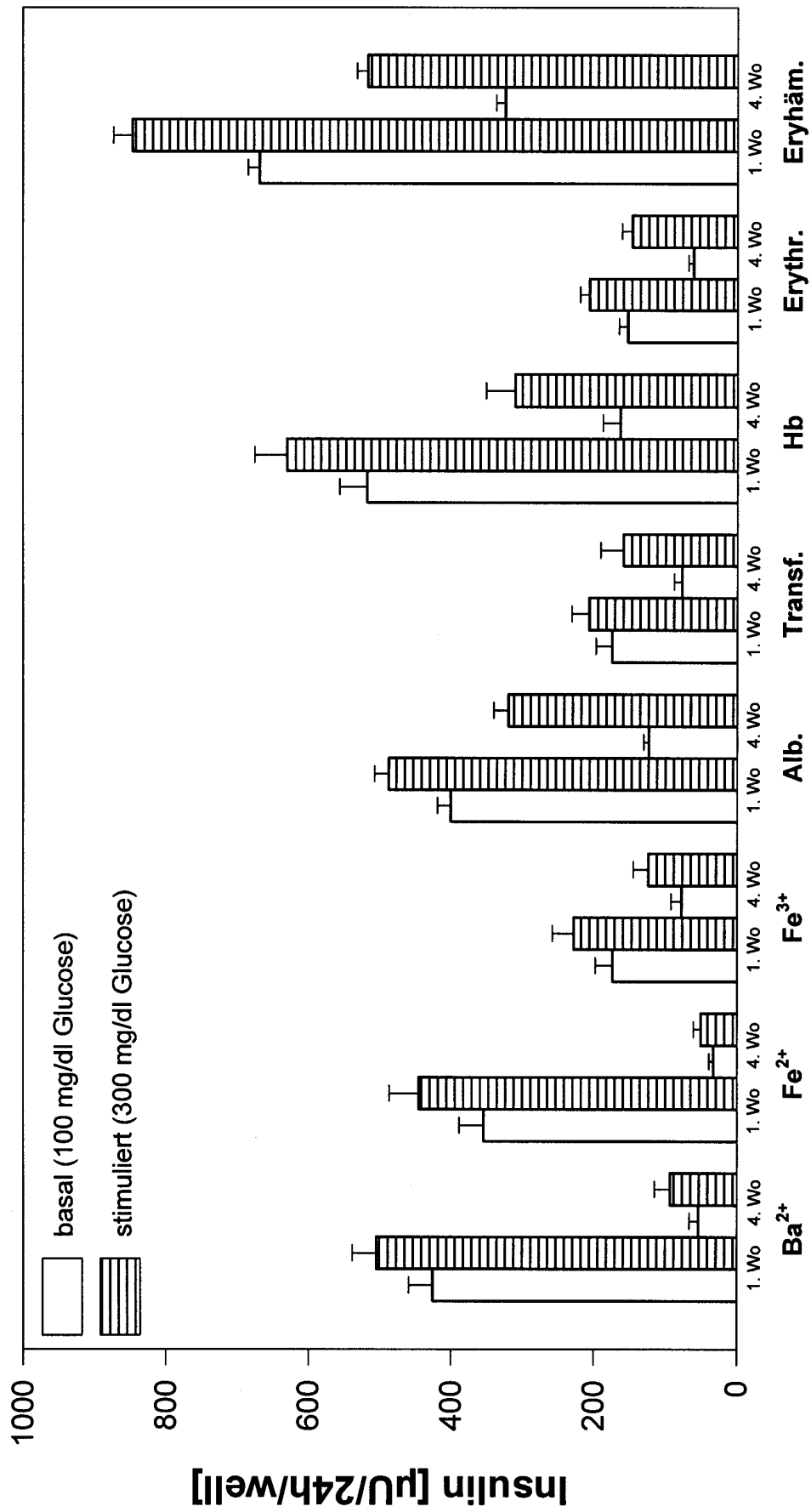
#### II. Insulinsekretionsverlauf über 28 Tage (Abb. 9 u. 10)

Ausgehend von einer basalen Insulinsekretion von  $669,2 \pm 15,6 \mu\text{U/ml}$  (4. Tag) nahm die Insulinsekretion unter Basalbedingungen bis zum 32. Tag auf  $48,9 \pm 2,0 \%$  des basalen Ausgangswertes sehr stark ab [ $p < 0,00$ ].

Die Insulinsekretion unter stimulierten Bedingungen nahm von  $128,6 \pm 4,8 \%$  (5. Tag) ebenfalls sehr stark auf  $78,5 \pm 2,5 \%$  (33. Tag) des basalen Ausgangswertes ab [ $p < 0,00$ ].



**Abb. 9:** Insulinsekretionen der Inseln in Bariumalginat-Erythrozytenhämolysat-Kapseln (n = 39)



**Abb. 10:** Absolute Insulinsekretionen nach 1 bzw. 4 Wochen von allen mikroenkapsulierten Inseln in unterschiedlichen Kapseltypen

### 3.3. Stimulierbarkeit der unterschiedlichen Kapseltypen

Die Stimulierbarkeit der neonatalen Ratteninseln wurde aus den Insulinsekretionen des 4. und 5. Tages der 1. Woche sowie des 32. und 33. Tages der 4. Woche errechnet. Sie ist definiert als Änderung der Sekretionsleistung in Prozent der Basalsekretion (siehe 2.8.).

Tabelle 2 zeigt die Stimulierbarkeiten der 1. und 4. Woche der unterschiedlichen Kapseltypen und gibt die jeweilige statistische Signifikanz an. Bei 7 von 8 Kapseltypen gab es einen signifikanten Unterschied der Stimulierbarkeiten von der 1. zur 4. Woche, lediglich beim Eisen-II-Kapseltyp ( $p < 0,09$ ) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Die Stimulierbarkeitswerte der 1. Woche aller Kapseltypen unterscheiden sich nicht signifikant von der 1. Woche des Bariumalginates. In der 4. Woche weisen die Albumin- und Erythrozyten-Kapseln eine signifikant höhere Stimulierbarkeit gegenüber der 4. Woche der Bariumalginat-Kapseln auf. Alle anderen Werte der 4. Woche sind nicht signifikant (Abb. 11).

**Tabelle 2:**

Fällbadkapsel- typen	Stimulierbarkeit [%]		Signifikanz p-Wert
	1. Woche	4. Woche	
1. Ba <sup>2+</sup>	27,3 ± 7,5	70,8 ± 16,1	<0,03
2. Eisen-II	37,2 ± 6,9	49,6 ± 12,1	n. s.
3. Eisen-III	34,1 ± 3,7	109,3 ± 19,9	<0,00
<b>Mischalginat- kapseltypen</b>			
4. Albumin	27,8 ± 5,0	172,4 ± 12,7	<0,00
5. Transferrin	30,2 ± 6,2	68,9 ± 14,1	<0,03
6. Hämoglobin	22,7 ± 4,6	100,5 ± 16,5	<0,00
7. Erythrozyten	53,0 ± 10,8	162,5 ± 18,3	<0,00
8. Erythrozyten- hämolysat	28,6 ± 4,8	66,1 ± 5,8	<0,00

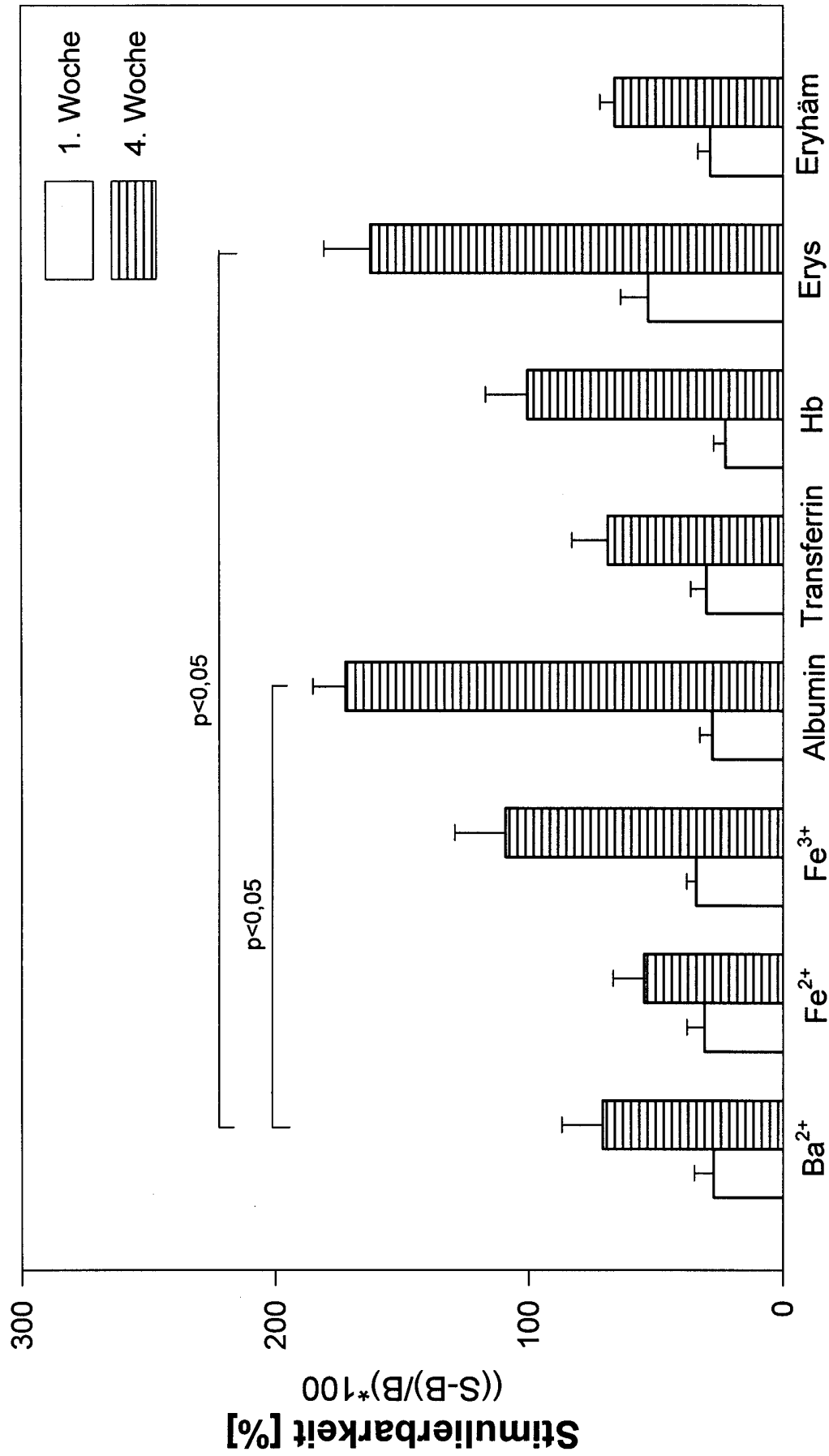


Abb. 11: Stimulierbarkeit in Prozent der unterschiedlichen Kapseltypen in der 1. Woche und in der 4. Woche

### 3.4. Vitalität der unterschiedlich mikroverkapselten Ratteninseln

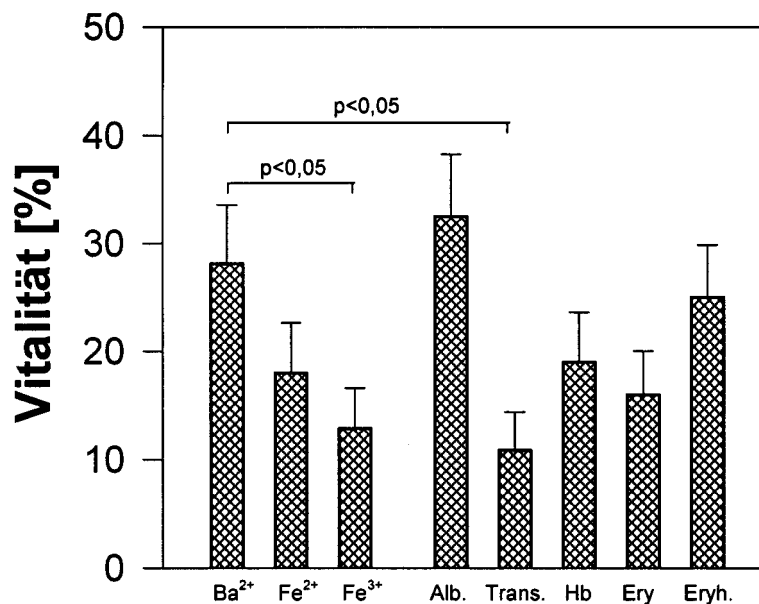
Die Histologie der mikroverkapselten neonatalen Ratteninseln zeigte das ganze Spektrum von der fast vollständigen Vitalität bis zur 100%igen Nekrose. Die mehr oder weniger vitalen Inseln hatten einen Durchmesser von 75-250 µm und wiesen einen zusammenhängenden, endokrinen Gewebeverband auf.

Für die Bestimmung der Vitalität wurden 40 Mikrokapseln pro Kapseltyp ausgewertet. Alle Kapseltypen wurden mittels des Student's t-test unpaired mit dem Bariumalginat-Kapseltyp verglichen. Ein signifikanter Unterschied wurde bei einer Abweichung von  $p < 0,05$  festgelegt (Abb. 12).

Tabelle 3 zeigt die Vitalitäten der unterschiedlichen Kapseltypen.

**Tabelle 3:**

	Ba <sup>2+</sup>	Eisen-II	Eisen-III	Albumin	Transf.	Hämogl.	Erythr.	Eryhäm.
Vitalität in	28,1 ±	18,0 ±	12,9 ± 3,7	32,5 ±	10,9 ±	19,0 ± 4,6	16,0 ±	25,0 ±
%	5,5	4,6		5,8	3,5		4,0	4,9



**Abb. 12:** Vitalität der Inselzellen nach insgesamt 33 Tage Kultivierung. Jeder Kapseltyp wurde mit der Kontrollgruppe Bariumalginat verglichen. Eisen-III und Transferrin weisen eine signifikant niedrigere Vitalität als Bariumalginat auf.