

Abb. 27a: p75-AK-Färbung, SC-Morphologie mit Cholera toxin

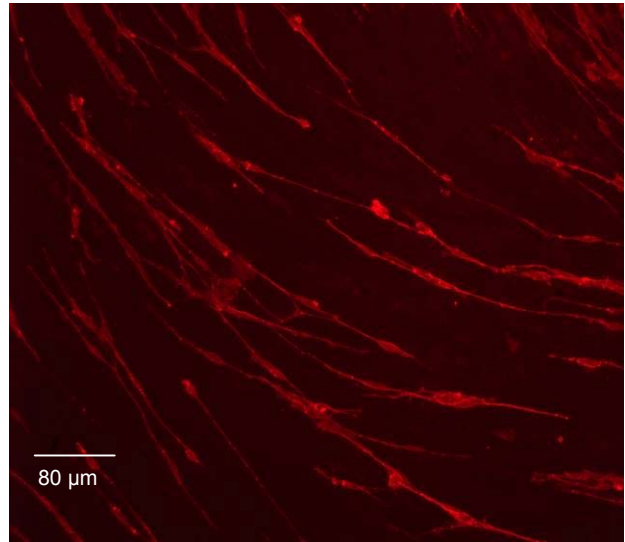


Abb. 27b: p75-AK-Färbung, SC-Morphologie mit Cholera toxin

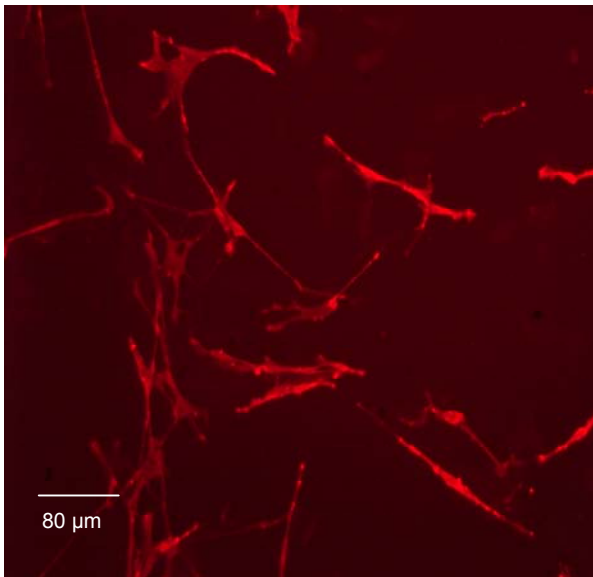


Abb. 28a: p75-AK-Färbung, SC-Morphologie ohne Cholera toxin

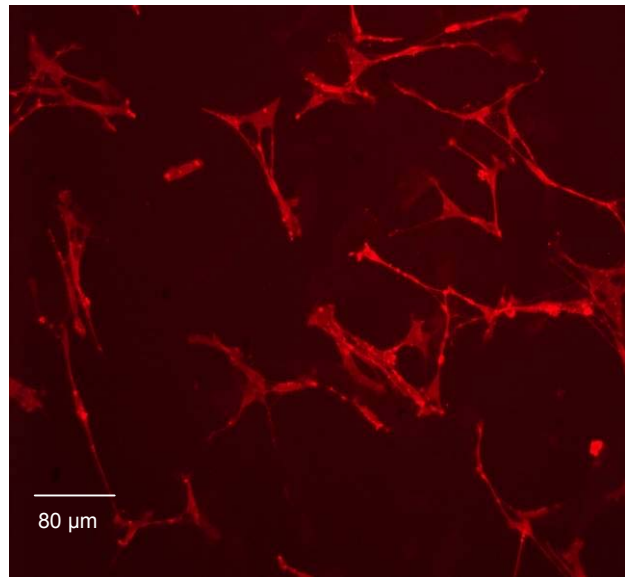


Abb. 28b: p75-AK-Färbung, SC-Morphologie ohne Cholera toxin

2. Quantitative Ergebnisse

Wichtig für die Nutzung autologer, in vitro vermehrter SC bei der chirurgischen Versorgung von Nervenverletzungen ist ihre möglichst rasche Bereitstellung. Je länger die Kultivierung der Zellen dauert, desto kleiner wird die Chance auf eine spätere erfolgreiche Reinnervation des inzwischen degenerierten Endorgans des Nerven mit Hilfe der Zellen. Daher war die quantitative Erfassung der Kultivierungsdauer der caninen SC in diesen Arbeiten von großem Interesse.

Erste Zellen wanderten nach Ansatz der Explantate frühestens am 3. Tag, immer aber innerhalb der ersten Woche aus. Dabei handelte es sich fast ausschließlich um Fibroblasten (Abb. 29). Voraussetzung für frühes Auswandern war ein gutes Anheften der Explantate am Schalenboden sowie eine saubere Präparation, durch die behinderndes Fett- und Bindegewebe möglichst vollständig entfernt worden war. Die Zugabe von Cholera-toxin zum Medium der Explantate veränderte nichts am Zeitpunkt des ersten Auswanderns der Zellen.

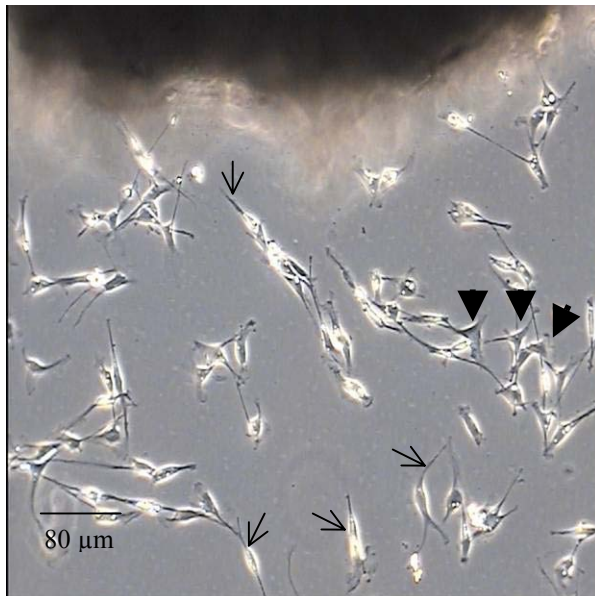


Abb. 29: erste aus Explantat auswandernde Zellen, Explantat am oberen Bildrand, SC schmale Pfeile, Fibroblasten fette Pfeile

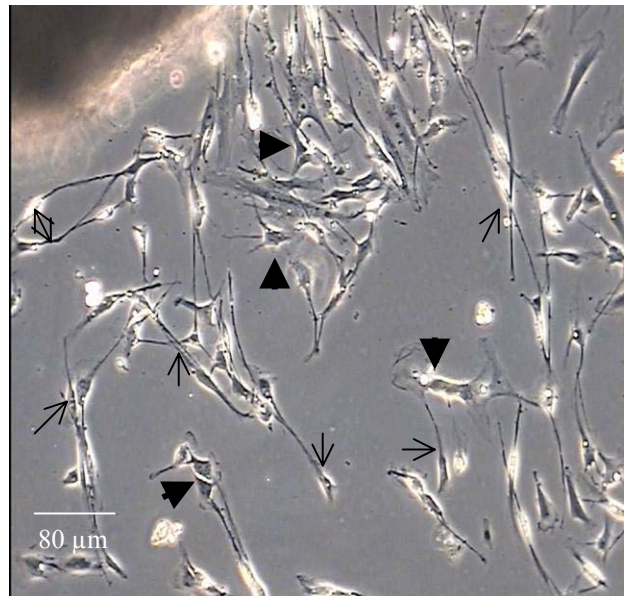


Abb. 30: aus Explantat auswandernde Zellen nach der dritten Passage, Explantat oben links, SC schmale Pfeile, Fibroblasten fette Pfeile

Die Explantate wurden im Durchschnitt 5 mal reexplantiert, bis ein Großteil der auswandernden Zellen SC waren (Abb. 30 und 31). Bei wöchentlichem Reexplantieren nahm diese Phase im Durchschnitt 6 Wochen in Anspruch. Maximal wurden in einem Fall 10 Umsetzungen, minimal in einem Fall 3 Umsetzungen benötigt.

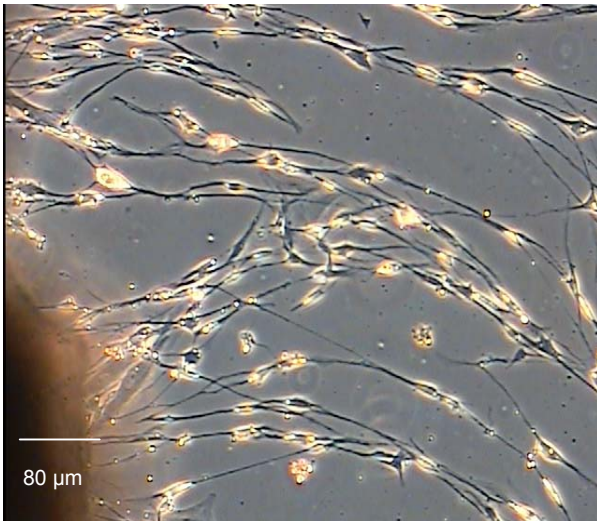


Abb. 31: SC in Kettenformationen

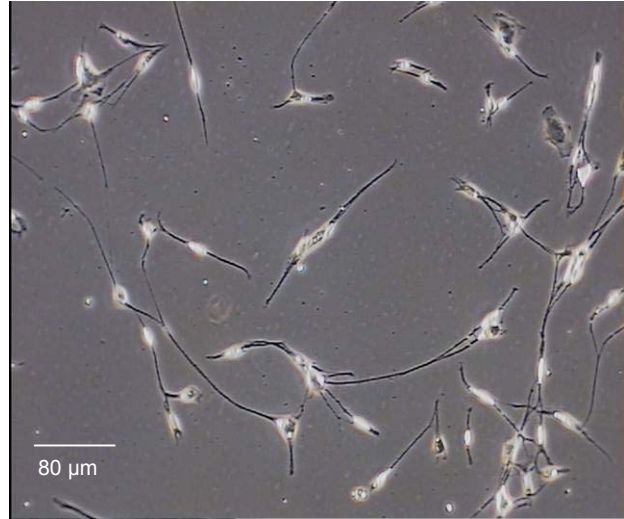


Abb. 32: Zellsuspension nach der Verdauung, SC

Das Zeitintervall zwischen Ansatz und Verdauung betrug minimal 20 Tage (1x) und maximal 57 Tage (1x). Im Mittel waren es 39 Tage (5,5 Wochen).

Abbildung 32 zeigt eine Zellsuspension nach der Verdauung.

Der Zeitraum von der Verdauung der Explantate bis zum Abtrypsinieren der dissoziierten Zellen lag im Mittel bei 11 Tagen. In zwei Fällen waren es nur 4 Tage, in einem Fall 37 Tage. Abbildung 33 zeigt Zellen nach dem Abtrypsinieren und dem Wiederausbreiten auf beschichteten Deckgläschen.

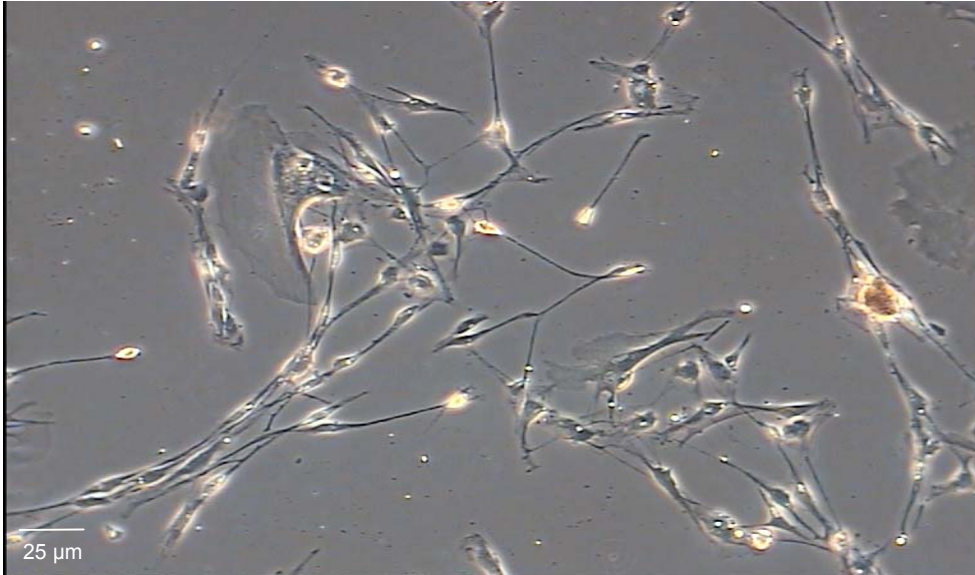


Abb. 33: SC nach dem Abtrypsinieren

Die Zeit vom Abtrypsinieren bis zur Färbung der Zellsuspension nahm im Durchschnitt 16 Tage in Anspruch bei einem Minimum von 3 Tagen und einem Maximum von 37 Tagen in jeweils einem Fall.

Es ergab sich ein Gesamtzeitraum für den Durchlauf eines Explantates vom Ansatz bis zur Färbung von durchschnittlich 66 Tagen (ca. 9,5 Wochen). In einem Fall wurde ein Maximum von 18 Wochen benötigt, in einem ein Minimum von 3,8 Wochen.

Um die Zellzahl und die Reinheit der Kulturen zu verbessern, wurden die Ansätze in sechs Gruppen eingeordnet, die jeweils mit diversen Mitogenen und/oder Antiproliferativa versorgt wurden.

Alle Ansätze wurden mit Forskolin (1µl/ml) und PEX (1µl/100ml) behandelt, die Ansätze von Gruppe 2 bis 6 erhielten außerdem folgende Zusätze:

- Gruppe 2: Cholera toxin einfach dosiert (0,1µg/ml)
- Gruppe 3: Cholera toxin doppelt dosiert (0,2µg/ml)
- Gruppe 4: ohne Cholera toxin, mit Heregulin (10nM)
- Gruppe 5: Cholera toxin einfach dosiert (0,1µg/ml), Heregulin (10nM)
- Gruppe 6: Cholera toxin doppelt dosiert (0,2µg/ml), Heregulin (10nM)

In den folgenden Tabellen und Graphiken wurden die Ergebnisse jeweils gruppenweise erfasst.

In den Tabellen 3A, B und C sind alle Daten, die in die Analyse eingingen, aufgelistet. "Zählung 1", "Zählung 2" und "Schwanzzellen" stehen für die drei verschiedenen Zeitpunkte während der Experimente, zu denen quantitative Angaben bezüglich der Gesamtzellzahl bzw. dem prozentualen Anteil der SC an der Gesamtzellzahl gemacht wurden. Zu ersehen ist, wie häufig zu welchem Zeitpunkt in welcher der sechs Gruppen welche Daten erhoben wurden, wann welche Verluste gemacht wurden, und welchen prozentualen Anteil die jeweiligen Daten an den primär angelegten Ansätzen bzw. an den tatsächlich durchgeführten Zählungen hatten.

Tabelle 3 A:

Zählung 1: Auszählung der Gesamtzellzahl in der Suspension nach der Verdauung des Nervenmaterials

Gruppen	Zellzahl (x10 ⁴ /ml)	Häufigkeit der Auszählungen	Prozent der Ansätze	Kumulierte Prozente
1	0	2	9.1	9.1
	5	2	9.1	18.2
	10	1	4.5	22.7
	15	6	27.3	50.0
	20	2	9.1	59.1
	25	2	9.1	68.2
	30	6	27.3	95.5
	60	1	4.5	100.0
	Zählungen		22	100.0
2	0	1	8.3	8.3
	20	2	16.7	25.0
	30	6	50.0	75.0
	35	2	16.7	91.7
	40	1	8.3	100.0
	Zählungen		12	100.0
3	30	1	25.0	25.0
	40	1	25.0	50.0
	50	1	25.0	75.0
	60	1	25.0	100.0
	Zählungen		4	100.0
4	40	2	50.0	50.0
	80	2	50.0	100.0
	Zählungen		4	100.0
5	50	1	25.0	25.0
	70	1	25.0	50.0
	80	1	25.0	75.0
	100	1	25.0	100.0
	Zählungen		4	100.0
6	50	1	25.0	25.0
	75	1	25.0	50.0
	95	1	25.0	75.0
	120	1	25.0	100.0
	Zählungen		4	100.0

Erläuterung Tabelle 3A:

Beispielsweise wurden in Gruppe 1 nach der Verdauung bei zwei Ansätzen jeweils nur 5×10^4 Zellen pro Milliliter ausgezählt. Diese zwei Zählungen machten 9,1 Prozent der Ansätze der Gruppe 1 aus, was bedeutet, daß bei 9,1% der Ansätze dieser Gruppe 5×10^4 Zellen/ml gefunden wurden. Zu diesem Zeitpunkt waren noch keine Ansätze verloren gegangen, weshalb die Zahl der Ansätze mit der der durchgeführten Zählungen übereinstimmt.

Tabelle 3 B:**Zählung 2: Auszählung der Gesamtzellzahl in der Suspension nach dem Abtrypsinieren**

Gruppen		Zellzahl ($\times 10^4$ /ml)	Häufigkeit der Auszählungen	Prozent der Ansätze	Kumulierte Prozente	
1		0	4	18.2	20.0	
		2	1	4.5	25.0	
		10	2	9.1	35.0	
		15	2	9.1	45.0	
		20	2	9.1	55.0	
		25	1	4.5	60.0	
		30	6	27.3	90.0	
		40	2	9.1	100.0	
		Zählungen		20	90.9	
		Verluste		2	9.1	
	Gesamt		22	100.0		
2		0	3	25.0	27.3	
		20	1	8.3	36.4	
		25	1	8.3	45.5	
		30	1	8.3	54.5	
		35	1	8.3	63.6	
		40	2	16.7	81.8	
		50	2	16.7	100.0	
		Zählungen		11	91.7	
	Verluste		1	8.3		
	Gesamt		12	100.0		
3		50	2	50.0	50.0	
		60	2	50.0	100.0	
	Zählungen		4	100.0		
4		50	1	25.0	25.0	
		60	1	25.0	50.0	
		90	1	25.0	75.0	
		100	1	25.0	100.0	
	Zählungen		4	100.0		
5		60	1	25.0	25.0	
		90	2	50.0	75.0	
		120	1	25.0	100.0	
	Zählungen		4	100.0		
6			1	25.0	25.0	
		95	1	25.0	50.0	
		125	1	25.0	75.0	
		160	1	25.0	100.0	
	Zählungen		4	100.0		

Erläuterung Tabelle 3B:

Bei der zweiten Zählung der Gesamtzellzahl, die nach dem Abtrypsinieren stattfand, wurden beispielsweise in Gruppe 1 bei sechs Ansätzen 30×10^4 Zellen pro Milliliter gezählt. Diese sechs Zählungen machten 27,3 % aller Ansätze der Gruppe 1 aus. Anhand der kumulierten Prozente, die auf die Anzahl der tatsächlich durchgeführten Zählungen mit Abstrich der Verluste bezogen sind, wird ersichtlich, daß z.B. 90% der Zählungen bei einer Gesamtzellzahl von 30×10^4 /ml und darunter lagen.

Zwei Ansätze, entsprechend 9,1% aller Ansätze der Gruppe 1, gingen in die Statistik als „Verluste“ ein, d.h. sie gingen vollständig verloren bevor die zweite Zählung vorgenommen werden konnte. Von ursprünglich 22 Zählungen der Gruppe 1 zum Zeitpunkt der ersten Zählung („Gesamt“) blieben dementsprechend zum Zeitpunkt der zweiten Zählung nur 20 übrig („Zählungen“).

Demgegenüber stehen vier Ansätze der Gruppe 1, deren Zellen ausgezählt werden konnten, bei denen aber keine lebenden Zellen mehr vorhanden waren. Diese sind mit der Zellzahl 0×10^4 /ml in der Tabelle aufgeführt.

Tabelle 3 C:

Schwanzzellen: Errechnung des prozentualen Anteils der SC an den Kulturen durch Auszählung der markierten SC nach der Färbung

Gruppen		% SC an den Kulturen	Häufigkeit der Auszählungen	Prozent der Ansätze	Kumulierte Prozente	
1		.00	9	40.9	56.3	
		16.40	1	4.5	62.5	
		20.40	1	4.5	68.8	
		20.80	1	4.5	75.0	
		21.60	1	4.5	81.3	
		21.90	1	4.5	87.5	
		22.40	1	4.5	93.8	
		22.70	1	4.5	100.0	
		Zählungen		16	72.7	
		Verluste		6	27.3	
	Gesamt		22	100.0		
2		.00	4	33.3	50.0	
		17.20	1	8.3	62.5	
		18.00	1	8.3	75.0	
		21.80	1	8.3	87.5	
		22.50	1	8.3	100.0	
		Zählungen		8	66.7	
		Verluste		4	33.3	
	Gesamt		12	100.0		
3		.00	1	25.0	25.0	
		20.50	1	25.0	50.0	
		22.60	1	25.0	75.0	
		23.00	1	25.0	100.0	
	Zählungen		4	100.0		
4		20.60	1	25.0	25.0	
		22.00	1	25.0	50.0	
		22.40	1	25.0	75.0	
		23.80	1	25.0	100.0	

	Zählungen		4	100.0	
5		22.90	1	25.0	25.0
		23.30	1	25.0	50.0
		23.40	1	25.0	75.0
		23.80	1	25.0	100.0
	Zählungen		4	100.0	
6		24.60	1	25.0	25.0
		25.20	1	25.0	50.0
		26.50	1	25.0	75.0
		27.10	1	25.0	100.0
	Zählungen		4	100.0	

Erläuterung Tabelle 3C:

Zum Zeitpunkt der Färbungen waren von Gruppe 1 6 Ansätze komplett verworfen worden, die nicht gefärbt und ausgezählt werden konnten („Verluste“). Von den ursprünglich 22 („Gesamt“) Ansätzen der Gruppe 1 blieben demnach noch 16, die gefärbt und ausgezählt werden konnten („Zählungen“).

In neun Fällen (40,9% aller Ansätze der Gruppe 1) wurde zwar eine Färbung und Auszählung vorgenommen, doch konnten keine SC ausgemacht werden. Bezogen auf die tatsächliche Anzahl der Färbungen der Gruppe 1 machen diese Fälle 56,3% aus („Kumulierte Prozente“).

Während der Arbeiten gingen vollständige Ansätze wegen verschiedener Ursachen verloren. Ein Großteil der Verluste entstand nach Abtrysinieren.

Zur besseren Übersicht wurden die Verluste als Extrakt aus Tabellen 3A-C nochmals getrennt in Form der Tabellen 4A-C aufgeführt.

Tabelle 4A: Verluste vom Zeitpunkt des Ansatzes bis einschließlich der Verdauung

Tabelle 4B: Verluste im Zeitraum nach der Verdauung einschließlich des Abtrysinierens

Tabelle 4C: Verluste nach dem Abtrysinieren

Tabelle 4A:

Verluste Ansatz bis einschließlich Verdauung

Gruppen		Verluste	Zählungen	Gesamt
1	Anzahl	2	20	22
	% von Gruppe	9%	91%	100.0%
2	Anzahl	1	11	12
	% von Gruppe	8,3%	91,7%	100.0%
3	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
4	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
5	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%

6	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
Summe	Anzahl	3	47	50
	% von Gruppe	6%	94%	100.0%

Erläuterung Tabelle 4A:

In Gruppe 1 konnten bei 2 („Verluste“) von 22 („Gesamt“) Ansätzen nach der Verdauung keine lebenden Zellen gefunden werden. Diese zwei Fälle machen 9% aller 22 Ansätze der Gruppe 1 aus. Das bedeutet, daß 20 Ansätze, entsprechend 91% aller Ansätze, positiv ausgezählt werden konnten. Bezogen auf alle sechs Gruppen („Summe“) gingen zu diesem Zeitpunkt 3 Ansätze, entsprechend 6% aller Ansätze, verloren. 94% aller 50 Ansätze des Ausgangsmaterials konnten nach der Verdauung erfolgreich ausgezählt werden.

Tabelle 4B:

Verluste nach der Verdauung

Gruppen		Verluste	Zählungen	Gesamt
1	Anzahl	4	16	20
	% von Gruppe	20%	80%	100%
2	Anzahl	3	8	11
	% von Gruppe	27,3%	72,7%	100%
3	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
4	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
5	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
6	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
Summe	Anzahl	7	40	47
	% von Gruppe	14,8	85,2	100.0%

Tabelle 4C:

Verluste nach dem Abtrysinieren

Gruppen		Verluste	Zählungen	Gesamt
1	Anzahl	9	7	16
	% von Gruppe	56,2%	43,7%	100.0%
2	Anzahl	4	4	8
	% von Gruppe	50%	50%	100.0%
3	Anzahl	1	3	4
	% von Gruppe	25.0%	75.0%	100.0%
4	Anzahl		4	4

	% von Gruppe		100.0%	100.0%
5	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
6	Anzahl		4	4
	% von Gruppe		100.0%	100.0%
Summe	Anzahl	14	26	40
	% von Gruppe	35.0%	65.0%	100.0%

Erläuterung Tabellen 4A-C:

Am geringsten waren die Verluste in der Zeit zwischen dem Ansatz der Explantate und der Verdauung. Sie betragen insgesamt 6%. Dabei gingen von den Ansätzen der Gruppe 1, die in dieser frühen Phase keinen Zusatz bekamen, 9,1% verloren, von denen der Gruppe 2, die mit der einfachen Choleratoxindosierung versorgt wurden, 8,3%. Bei Gruppen 3 bis 6 waren in dieser Phase der Experimente keine Verluste zu verzeichnen.

Größer waren die Verluste in der Zeit von der Verdauung der Explantate bis einschließlich dem Abtrypsinieren der dissoziierten Zellen. Hier gingen in Gruppe 1, die nur mit Forskolin und PEX versorgt wurde, 20%, in Gruppe 2 mit der zusätzlichen einfachen Choleratoxindosierung 27,3% verloren. Gruppen 3 bis 6 blieben vollständig erhalten. Der Gesamtverlust in dieser Phase betrug 14,8%. Nach Abtrypsinieren fanden große Verluste statt. Insgesamt beliefen sie sich auf 35%. Von Gruppe 1 gingen 56,25% der Ansätze in diesem Zeitraum verloren, von Gruppe 2 50% und von Gruppe 3 25%. Gruppen 4, 5 und 6 waren nicht betroffen.

Die in Tabellen 3A-C zusammengestellten Daten zeigten die zu zwei verschiedenen Zeitpunkten ausgezählten Zellzahlen („Zählung 1“, Auszählung nach der Verdauung, und „Zählung 2“, Auszählung nach dem Abtrypsinieren) der gesamten Zellpopulation sowie den zu einem anderen Zeitpunkt erhobenen prozentualen SC-Anteil an der Gesamtzellzahl („Schwanzzellen“, Auszählung nach der Färbung). Die Ergebnisse dieser drei quantitativen Erhebungen wurden in Form dreier Boxplots graphisch dargestellt (Graphik 2, 3 und 4).

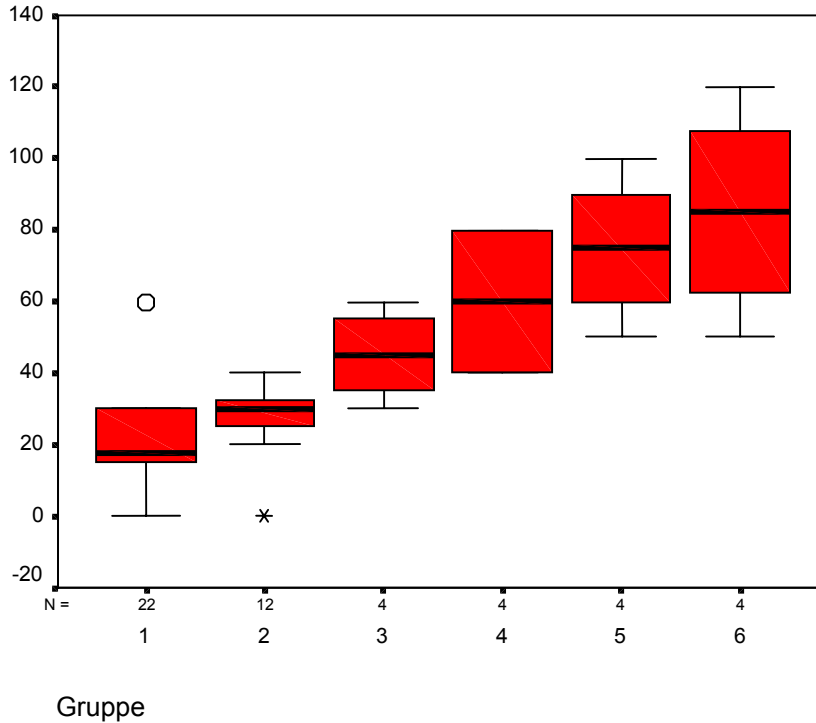
Ein Boxplot besteht aus einer Box, die vom 25. und 75. Perzentil begrenzt wird. Die innere Linie repräsentiert den Median. Außerdem werden der kleinste und der größte Wert markiert, sofern sie keine „Ausreißer“ sind. Als „Ausreißer“ werden Werte bezeichnet, die zwischen 1,5 und 3 Kastenlängen außerhalb der Box liegen. Sie werden mit einem Kreis (°) gekennzeichnet.

„Extremwerte liegen über 3 Kastenlängen außerhalb der Box und werden durch ein Sternchen (*) dargestellt.

Die Zellzahlen in Graphik 2 und 3 sind jeweils mit (10^4) zu multiplizieren und beziehen sich auf die Zellen in einem Milliliter der Zellsuspension. In Graphik 4 stellen die Zahlen Prozentanteile dar.

Graphik 2: Ergebnisse der Zählung 1, vorgenommen nach der Verdauung des Nervenmaterials;
x-Achse: Gruppen 1-6; y-Achse: Zellzahlen

Zellzahl
 ($10^4/\text{ml}$)

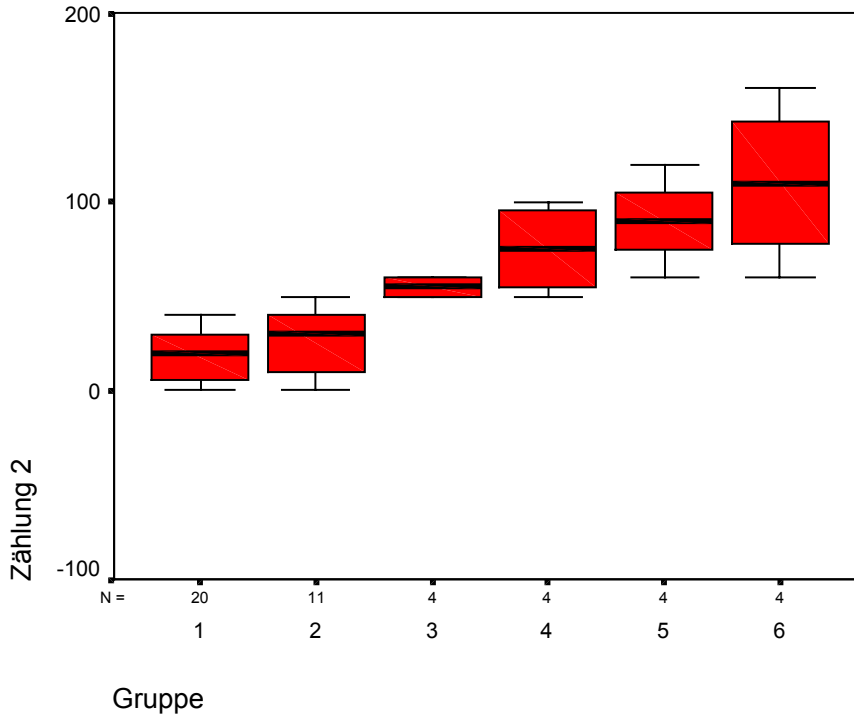


Erläuterung Graphik 2:

Bei der ersten Zellzählung ist anhand der Mediane ein kontinuierlicher Anstieg der Zellzahlen von Gruppe 1 bis zu Gruppe 6 zu erkennen. Der Median steigt von $17,5 \times 10^4/\text{ml}$ in Gruppe 1 über $30 \times 10^4/\text{ml}$, $45 \times 10^4/\text{ml}$, $60 \times 10^4/\text{ml}$ und $75 \times 10^4/\text{ml}$ in Gruppen 2, 3, 4 und 5 bis zu $85 \times 10^4/\text{ml}$ in Gruppe 6. In Gruppe 1 gibt es einen „Ausreißer“ von $60 \times 10^4/\text{ml}$. Dieser Wert liegt mehr als anderthalb Kastenlängen außerhalb der Box und wurde daher mit einem Kreis (°) gekennzeichnet. Ein „Extremwert“ taucht in Gruppe 2 auf. Der Wert 0 ist in diesem Fall gleichzeitig der Minimalwert. Er liegt mehr als drei Kastenlängen außerhalb und wurde daher mit einem Sternchen (*) markiert.

Graphik 3: Ergebnisse der Zählung 2, vorgenommen nach dem Abtrypsinieren;
x-Achse: Gruppen 1-6; y-Achse: Zellzahlen

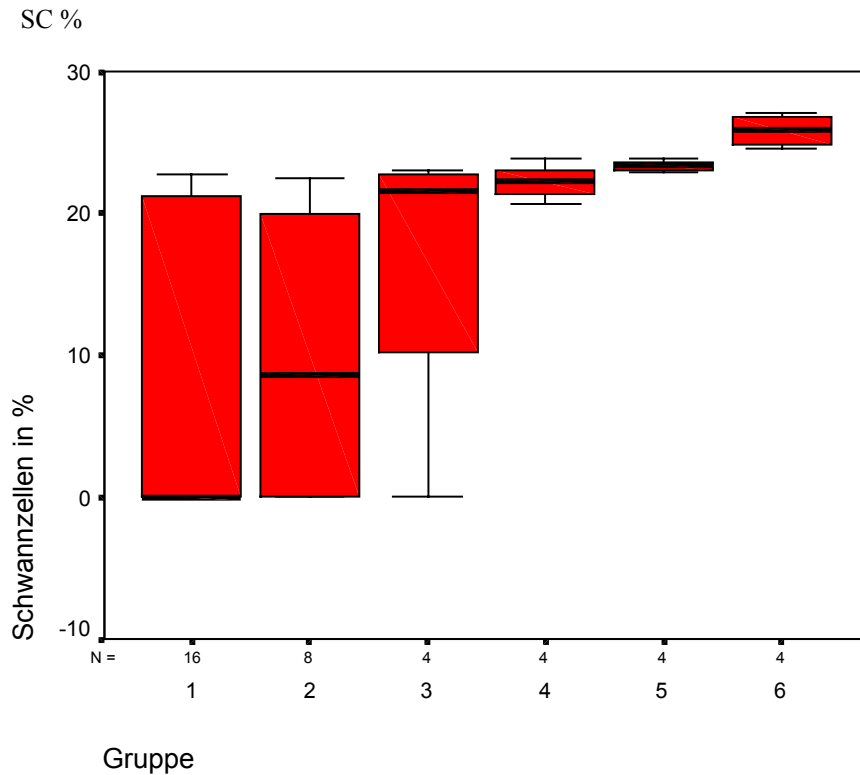
Zellzahl
 ($10^4/\text{ml}$)



Erläuterung Graphik 3:

In Graphik 3 ist ebenfalls ein kontinuierlicher Anstieg der Mediane von Gruppe 1 bis Gruppe 6 zu sehen. Die Mediane liegen bei $20 \times 10^4/\text{ml}$, $30 \times 10^4/\text{ml}$, $55 \times 10^4/\text{ml}$, $75 \times 10^4/\text{ml}$, $90 \times 10^4/\text{ml}$ und $110 \times 10^4/\text{ml}$. Die Spannweite der Werte in Gruppen 1 und 3 hat sich im Vergleich zur ersten Zählung verringert. Es tauchen in der zweiten Zellzählung bei keiner der Gruppen Ausreißer oder Extremwerte auf.

Graphik 4: Schwanzzellen; prozentualer Anteil der SC an den Zellkulturen, ausgezählt nach der Färbung; x-Achse: Gruppen 1-6; y-Achse: % SC



Erläuterung Graphik 4:

Die Zahlenangaben der Graphik 4 sind jeweils Prozentzahlen.

Die Medianwerte der Gruppen 1 bis 6 lauten 0%, 8,6%, 21,5%, 22,2%, 23,3% und 25,8%.

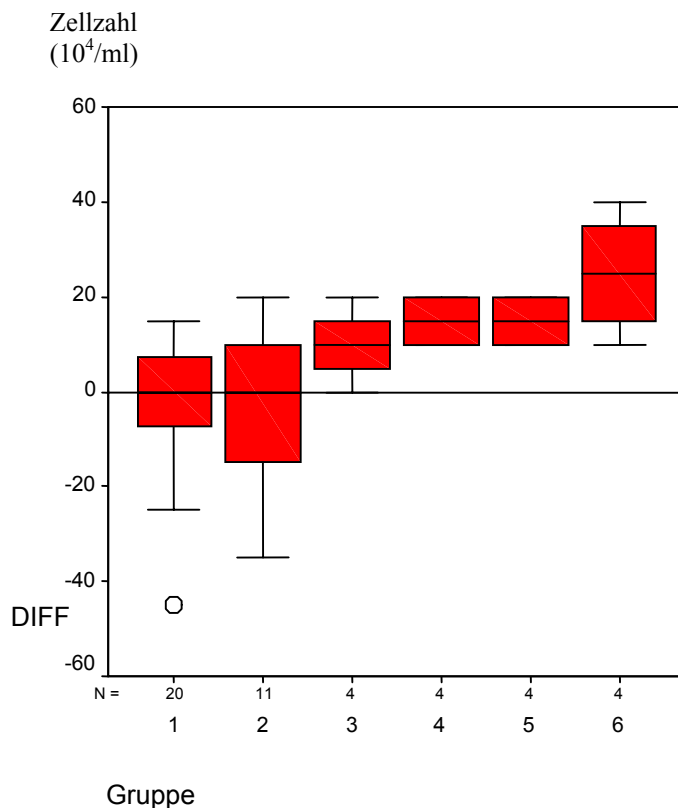
Auch dieser Graphik ist ein kontinuierlicher Anstieg der Medianwerte zu entnehmen. Allerdings ist dieser Anstieg von Gruppe 3 über 4 und 5 bis Gruppe 6 nicht mehr groß. Zwischen Gruppe 3 und 6 beträgt er 4,5%. Zwischen Gruppe 3 und 4 erreicht er nur ein Minimum von 0,7%.

Die Spannweiten in Gruppe 1 und 2 sind sehr groß. Dies liegt auch daran, daß ihre mehrfach vorkommenden Minimalwerte jeweils bei 0 liegen, während die Minimalwerte der Gruppen 4, 5 und 6 alle über 20% liegen. Besonders häufig taucht der Wert 0 in Gruppe 1 auf (Tabelle 3C, "Schwanzzellen"), weshalb dieser auch deren Median entspricht.

Die Maximalwerte aller Gruppen liegen dicht beieinander. Sie betragen zwischen 22,5 in Gruppe 2 und 23,8 in Gruppen 4 und 5. Lediglich der Maximalwert in Gruppe 6 liegt mit 27,1% deutlich darüber. Der Maximalwert in Gruppe 1 übertrifft mit 22,7% geringfügig den von Gruppe 2 (22,5%).

Eine wichtige Fragestellung war, ob und in welchem Ausmaß in der Zeit zwischen Verdauung und Abtrypsinieren die erwünschte weitere Proliferation der Zellen in der Suspension stattfand. Um die Entwicklung der Zellzahlen der einzelnen Gruppen zwischen der ersten und der zweiten Zellzählung zu verdeutlichen, wurde jeweils die Differenz zwischen den Ergebnissen der beiden Zählungen gebildet. Das Ergebnis der ersten Zählung des jeweiligen Ansatzes wurde von dem der zweiten abgezogen. Ein positives Ergebnis bedeutete einen Zellzuwachs zwischen beiden Zählungen, ein negatives einen Zellverlust. Die Differenzen sind als Boxplots in Graphik 5 dargestellt.

Graphik 5: Proliferation; Erhebung der Differenzen zwischen erster und zweiter Zählung zur Darstellung von Zellproliferationen im Zeitraum zwischen den beiden Zählungen; x-Achse: Gruppen 1-6; y-Achse: Differenzen der Zellzahlen



Erläuterung Graphik 5:

Es fällt auf, daß die Differenz in Gruppen 4, 5 und 6 in jedem Fall >0 ist, d.h. daß die Zellzahl der zweiten Zählung die der ersten immer übertrifft. In Gruppe 3 ist der Minimalwert 0, was bedeutet, daß sich in diesem Fall die Zellzahl zwischen erster und zweiter Zählung nicht verändert hat. Bei den Gruppen 1 und 2 liegt der Median bei 0, d.h. daß 50% der Werte negativ sind, also ein Abfall der Zellen zwischen erster und zweiter Zählung stattgefunden hat. Bei Gruppe 1 kommt außerdem ein mit einem Kreis markierter Ausreißer von -45 vor, bei dem der Abfall sehr groß war.

Tabelle 5 fasst die Lagemaße der Graphiken 2 bis 5 zusammen. Die wichtigsten Daten wie der Median, Maximum- und Minimumwerte sowie das 25. bzw. 75. Perzentil können hier für die einzelnen Gruppen abgelesen werden, soweit sie in den Graphiken nicht detailliert zu erkennen sind.

Tabelle 5: Lagemaße der Graphiken 2-5

Gruppen	Maße	Zählung 1 (x10 ⁴ /ml)	Zählung 2 (x10 ⁴ /ml)	SC-Anteil (%)	Differenzen
		Graphik 2	Graphik 3	Graphik 4	Graphik 5
1	Zählungen	22	20	16	20
	Verluste	0	2	6	2
	Minimum	0	0	0	-45
	Maximum	60	40	22,7	15
	Perzentile				
	25	13,75	4	0	8,75
	50	17,5	20	0	0
	75	30	30	21,4	-8,75
2	Zählungen	12	11	8	11
	Verluste	0	1	4	1
	Minimum	0	0	0	-35
	Maximum	40	50	22,5	20
	Perzentile				
	25	22,5	0	0	-30
	50	30	30	8,6	0
	75	33,75	40	20,85	10
3	Zählungen	4	4	4	4
	Verluste	0	0	0	0
	Minimum	30	50	0	0
	Maximum	60	60	23	20
	Perzentile				
	25	32,5	50	5,12	2,5
	50	45	55	21,55	10
	75	57,5	60	22,9	17,5
4	Zählungen	4	4	4	4
	Verluste	0	0	0	0
	Minimum	40	50	20,6	10
	Maximum	80	100	23,8	20
	Perzentile				
	25	40	52,5	20,95	10
	50	60	75	22,2	15
	75	80	97,5	23,45	20
5	Zählungen	4	4	4	4

	Verluste	0	0	0	0
	Minimum	50	60	22,9	10
	Maximum	100	120	23,8	20
	Perzentile				
	25	55	67,5	23	10
	50	75	90	23,35	15
	75	95	112,5	23,7	20
6	Zählungen	4	4	4	4
	Verluste	0	0	0	0
	Minimum	50	60	24,6	10
	Maximum	100	120	27,1	40
	Perzentile				
	25	55	67,5	24,75	12,5
	50	75	90	25,85	25
	75	95	112,5	26,95	37,5

Wie aus den Graphiken 2, 3 und 4 zu ersehen, zeigen die Medianwerte sowohl innerhalb der ersten und zweiten Zählung als auch was den prozentualen Anteil der SC betrifft einen kontinuierlichen Anstieg von Gruppe zu Gruppe an. Um festzustellen, ob dieser Anstieg signifikant ist, wurde für alle drei Zeitpunkte der Datenerfassung (“Zählung 1”, “Zählung 2” und “Schwanzzellen”) der **Kruskal-Wallis-Test** mit angeschlossenen **Dunn-Holm-Test** durchgeführt. Eine Abweichung von $p < 0,05$ galt als signifikant.

Es zeigte sich, daß bei allen drei Erhebungszeitpunkte nur zwischen den Gruppen 1 und 6 sowie zwischen den Gruppen 1 und 5 ein signifikanter Unterschied bestand.

Führte man den Test für die sehr eng beieinander liegenden Werte von Gruppen 4, 5 und 6 bezogen auf die Erhebung der SC-Prozente getrennt durch (Graphik 4), so ergab sich zudem eine Signifikanz für den Vergleich zwischen den Gruppen 4 und 6.

In der Literatur werden die Erfolge der SC-Kultivierung in der Regel in Form absoluter SC-Zahlen bezogen auf einen Milliliter Zellsuspension angegeben.

Um die in dieser Arbeit ausgezählten prozentualen SC-Anteile an den Kulturen mit den Ergebnissen in der Literatur vergleichen zu können, wurden diese in absolute SC-Zahlen umgerechnet. Dazu wurden von Gruppe 1-6 jeweils die Minimal- und die Maximalwerte der 2. Zählung (Graphik 3) sowie der SC-Prozentangaben (Graphik 4) benutzt.

Es ließen sich als minimale bzw. maximale Endausbeute die in Tabelle 6 aufgelisteten absoluten SC-Zahlen festhalten (Spalten 4 bzw. 7). Die absoluten Zahlen sind jeweils mit (10^5) zu multiplizieren und beziehen sich auf 1ml Zellsuspension. Die Abkürzung „ZZ“ steht für die Gesamtzellzahl der Suspension.

Rechenbeispiel: In Gruppe 6 wurde eine maximale Gesamtzellzahl (ZZ) von 160×10^4 /ml erreicht. Der maximale SC-Anteil an der Zellkultur eines Ansatzes betrug in dieser Gruppe 27,1%. 27,1% von 160×10^4 Zellen ergeben $43,3 \times 10^4$ SC pro Milliliter Zellsuspension als Maximalwert.

Tabelle 6:
Minimal- und Maximalwerte der absoluten Gesamtzellzahlen, der SC-Anteile sowie der absoluten SC-Zahlen in den jeweiligen Gruppen

Gruppen	ZZ	SC	SC	ZZ	SC	SC
	(10 ⁴ /ml) min	(%) min	(10 ⁴ /ml) min	(10 ⁴ /ml) max	(%) max	(10 ⁴ /ml) max
1	2	16,4	3,3	40	22,7	9,08
2	20	17,2	3,4	50	22,5	11,2
3	50	20,5	10,2	60	23	13,8
4	50	20,6	10,3	100	23,8	23,8
5	60	22,9	13,7	120	23,8	28,6
6	60	24,6	14,8	160	27,1	43,4

Erläuterung Tabelle 6:

Aus Tabelle 6 wird ersichtlich, daß die Ergebnisse der absoluten SC-Anzahl der Gruppen 4 bis 6 die der Gruppen 1 bis 3 weit übertreffen. Bei Gruppen 3, 4, 5 und 6 liegen bereits die Minimalwerte in der Größenordnung der Maximalwerte von Gruppe 1 und 2 oder darüber. Auffallend ist ein Sprung vom Minimalwert der Gruppe 2 zu dem von Gruppe 3 (3,4 bzw. 10,2x10⁴), während sich die Maximalwerte in diesem Vergleich nicht so stark unterscheiden (11,2 bzw. 13,8x10⁴). Der Maximalwert der Gruppe 6 (43,4x10⁴) übersteigt den der Gruppe 5 (28,6x10⁴) um nahezu 50%, was eine außergewöhnlich große Steigerung bedeutet. Ein ähnliches Verhältnis zeigen die Maximalwerte von Gruppe 3 und 4 (13,8 bzw. 23,8x10⁴).