

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. A. Thiede

**Phänotypische Charakterisierung
intraepithelialer Lymphozyten
nach
experimenteller Dünndarmtransplantation
und ihre Bedeutung für die Transplantatdysfunktion**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der

Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Monika Koch

aus Schweinfurt

Würzburg, Februar 2003

Referent: Prof. Dr. med. W. Timmermann

Korreferat: Prof. Dr. rer. nat. K. Ulrichs

Dekan: Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 02.12.2003

Der Promovend ist Arzt im Praktikum.

***Damit das Mögliche entsteht,
muß immer wieder
das Unmögliche versucht werden.***

(Hermann Hesse)

Meinen lieben Eltern

Inhalt

	Seite
1. Einleitung	1
2. Fragestellung	4
3. Material und Methodik	5
3.1 Versuchstiere und Tierhaltung	5
3.2 Immunsuppression	5
3.3 Experimentelle Gruppen und immunsuppressives Therapieschema	6
3.4 Mikrochirurgische Technik der Dünndarmtrans- plantation	7
3.4.1 Dünndarmexplantation	7
3.4.2 Orthotope Dünndarmtransplantation	8
3.5 Nachuntersuchung und Beurteilung des Allgemein- zustandes der transplantierten Tiere	8
3.6 Obduktion der Versuchstiere und Organgewinnung	8
3.6.1 Makroskopische Beurteilung der Bauchorgane	8
3.6.2 Isolierung der intraepithelialen Lymphozyten (IEL) aus dem Dünndarm	9
3.6.3 Histologische Untersuchung des Dünndarms	12
3.7 Färbung mittels monoklonaler Antikörper	12
3.7.1 Antikörper	12
3.7.2 Doppel- und Dreifachfärbung	14
3.8 Messung am Durchflusszytometer	16
3.9 Auswertung und Verarbeitung der Ergebnisse	16
3.10 Statistische Auswertung	17
4. Ergebnisse	18

4.1	Charakterisierung der Versuchsreihen nach Klinik und Histologie	19
4.2	Durchflußzytometrische Analyse der intraepithelialen Lymphozyten	22
4.2.1	Physiologische Zusammensetzung des intraepithelialen Kompartiments im nicht transplantierten Dünndarm	28
4.2.2	Der Spender- und Empfänger-Zellchimärismus im intraepithelialen Kompartiment	29
4.2.3	Die Aktivierungsmarker IL-2R und ICAM-1	31
4.2.4	T-Lymphozyten	33
4.2.5	Natürliche Killerzellen (NK-Zellen)	36
4.2.6	Das intraepitheliale Kompartiment zum Zeitpunkt der Abstoßung	38
5.	Beantwortung der Fragen	40
6.	Diskussion	43
6.1	Analyse der zellulären Zusammensetzung des intraepithelialen Kompartiments nach experimenteller Dünndarmtransplantation	44
6.2	Analyse der Austauschvorgänge zwischen dem intraepithelialen Kompartiment des Transplantats und dem Immunsystem des Empfängers	46
6.3	Analyse der Interaktionen zwischen Zellen des adaptiven (T-Lymphozyten) und nicht-adaptiven (NK-Zellen und Makrophagen) Immunsystems in der Phase der Abstoßung und Toleranz	49
7.	Ausblick	51
8.	Zusammenfassung	52
9.	Literatur	54
	Danksagung	
	Lebenslauf	

Abkürzungsverzeichnis

AB	Abstoßungsmodell (BN→LEW)
BN	Rattenstamm: Brown Norway
CD	(engl.) Clusters of differentiation („Differenzierungsmarker“)
CsA	Cyclosporin A
DA	Rattenstamm: Dark Agouti
DD	Dünndarm
DDT	Dithiothreitol
DDTX	Dünndarmtransplantation
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
F(ab ^l)	Fragment-Antigen-Bindung
FACScan	(engl.) Fluorescence Activated Cell Scanner (Fluoreszenz-aktivierter Zellscanner)
FITC	Fluoreszein-diacetat
FKBP	(engl.) FK-binding protein (FK-bindendes Protein)
FK 506	Immunsuppressivum: Tacrolimus®
FSC	(engl.) Forward-Sideward-Scatter (Vorwärts-Seitwärts-Streulicht)
GvHR	(engl.) Graft versus Host Reaction (Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion)
HLA	(engl.) Human Leukocyte Antigen (-System) = Bezeichnung für den Haupthistokompatibilitätskomplex des Menschen
HvGR	(engl.) Host versus Graft Reaction (Wirt-gegen-Transplantat-Reaktion)
ICAM	(engl.) Intercellular adhesion molecule (interzelluläres Adhäsionsmolekül)
IEL	Intraepitheliale Lymphozyten
KG	Körpergewicht
KON	Kontrolle (LEW→LEW)
λ	Wellenlänge
LEW	Rattenstamm: Lewis
LPL	Lamina propria-Lymphozyten

mAb	(engl.) Monoklonal antibody (monoklonaler Antikörper)
MHC	(engl.) Major Histocompatibility Complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
MW	Mittelwert
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
PBS	(engl.) Phosphate Buffered Saline (Phosphat-gepufferte, physiologische Kochsalzlösung)
PCR	Polymerase chain reaction
PE	Phykoerythrin
PMSF	Phenyl-Methyl-Sulfonyl-Fluorid
p.op.	postoperativ
PP	Peyerscher Plaque
RNA	(engl.) Ribonucleinacid (Ribonukleinsäure)
RT ^l , RT ⁿ	MHC-Haplotyp des Rattenstammes Lewis bzw. Brown Norway
SSC	(engl.) Sideward-Sideward-Scatter (Seitwärts-Seitwärts-Streulicht)
TH-Zelle	T-Helfer-Zelle
Thy	Thymus
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TOL	Toleranzmodell (BN→LEW)
TPN	(engl.) Total Parenteral Nutrition (Totale parenterale Ernährung)
Tricolour	Tricolour [®] - Streptavidin
TVS	(engl.) Transplant vascular sclerosis (Transplantat-Gefäßsklerose)
TX	Transplantation
U/min	Umdrehungen/Minute
xg	Beschleunigung
ZEZ	Zottenepithelzellen