



UniversitätsKlinikum Heidelberg



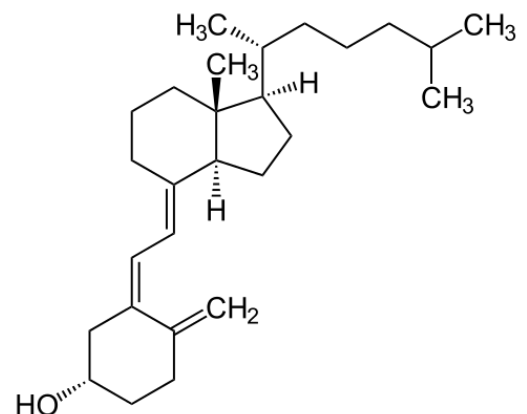
HECTOR SEMINAR

Vitamin D - eine Chance bei Organtransplantationen?

Abschlussbericht der Kooperationsphase 2016/2017

Durchgeführt in Kooperation mit dem Institut für Immunologie:
Transplantationsimmunologie, Universität Heidelberg

Betreut durch Herrn Prof. Dr. Daniel



Carolin Resag
Im Langenloch 15
69190 Walldorf

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung: Das Immunsystem.....	2
1.1 Allgemeines:.....	2
1.2 Wichtige Immunzellen bei einer Abstoßungsreaktion nach einer Organtransplantation:.....	3
1.3 Ablauf einer akuten Abstoßungsreaktion:.....	4
2. Die regulatorische T-Zelle.....	5
2.1 Allgemeines.....	5
2.2 Rolle bei Organtransplantationen:.....	6
2.3 Wirkmechanismus:.....	6
3. Vitamin D und bisherige Kenntnisse.....	6
3.1 Allgemeines:.....	6
3.2 Vorwissen.....	7
4. Der Ansatz des Projektes.....	7
4.1 Das Ziel:.....	7
4.2 Die Methode:.....	8
4.3 Unsere Hypothese:.....	8
4.4 Der Ansatz:.....	9
4.5 Messung:.....	9
5. Ergebnisse und Ausblick.....	10
5.1 Die Ergebnisse im Überblick:.....	10
5.2 Ausblick:.....	11
6. Danksagungen.....	11
7. Quellen.....	11
8. Selbstständigkeitserklärung.....	12

1. Einleitung: Das Immunsystem

1.1 Allgemeines:

Das menschliche Immunsystem ist ein sehr komplexes System, das sich aus vielen verschiedenen Bestandteilen zusammensetzt. Seine Hauptaufgabe ist es, uns gesund zu halten. Dafür muss es verschiedene Aufgaben erfüllen:

- Abwehr schädlicher Krankheitserreger wie z.B. Bakterien oder Viren
- Beseitigung infizierter oder krankhaft veränderter Zellen
- Verhinderung einer Immunreaktion gegen körpereigene Zellen
- wichtigste Aufgabe: Unterscheidung zwischen körpereigenen und fremden Zellen

Beim Immunsystem unterscheidet man zwischen dem angeborenen und dem erworbenen Immunsystem. Beide sind eng miteinander verknüpft:

a) angeborenes Immunsystem:

- erste „Sicherheitsmaßnahme“ gegen Erreger und Fremdstoffe im Allgemeinen
- reagiert unspezifisch
- physikalische Barrieren des Körpers (z.B. Haut, Schleimhäute, Härchen)
- Immunzellen: z.B.: Makrophagen (sogenannte Fresszellen), Granulozyten, Mastzellen, **dendritische Zellen** und **natürliche Killerzellen**
- verschiedene Zytokine (lösliche Botenstoffe) wie Interleukine oder Interferone (z.B. IL-2: Stimulierung von T-Lymphozyten)

b) adaptives bzw. erworbenes Immunsystem:

- reagiert spezifisch auf die Antigene der Erreger
- kann auch krankhafte körpereigene Zellen erkennen und bekämpfen
- mit jeder Immunantwort „lernt“ es dazu: bei späterer Infektion schnellere Bekämpfung
- Immunzellen (Lymphozyten): z.B.: **T-Lymphozyten, B-Lymphozyten**

1.2 Wichtige Immunzellen bei einer Abstoßungsreaktion nach einer Organtransplantation:

1. Dendritische Zellen:

- nehmen Erreger durch Phagozytose auf und zerlegen ihn in Bestandteile
- diese werden durch bestimmte Proteine auf der Zelloberfläche präsentiert (v.a. Antigene)
- senden Botenstoffe (Interleukine) aus, die die spezifischen Immunzellen „heranlocken“

2. NK-Zellen (Natürliche Killerzellen):

- töten infizierte oder krankhaft veränderte Zelle ab
- 2 Wirkschritte:
 - Zell-Zell- Kontakt zwischen den NK-Zellen und den Zielzellen über Oberflächenmoleküle → Zelltod („Todeskuss“)
 - Daraufhin Auslösen der Apoptose (kontrollierter Zelltod) durch Freisetzung von Perforin, welche Poren in der Membran der infizierten Zellen bewirken
- Wirkmechanismen können durch Antikörpervermittlung und durch Aktivierung durch T-Lymphozyten effizienter werden
- erste Barriere → unspezifische Reaktion, die jedoch durch Aktivierung durch Lymphozyten verstärkt werden kann
- sehr schnelles Abtöten infizierter Zellen
- unterscheiden sich von den T-Killerzellen durch ihre Aktivierung

3. T-Lymphozyten:

- für die zelluläre Immunantwort verantwortlich
- Immunzellen, welche hauptsächlich im Thymus entstehen
- Hauptakteur der spezifischen Immunantwort
- tragen Rezeptoren auf Zelloberfläche, mit denen sie an Rezeptoren **körpereigener** Zellen (z.B. dendritische Zelle) binden
- weitere Unterteilung nach Oberflächenproteinen CD4 und CD8 (diese bestimmen, welche Art des Zellkontaktes möglich ist und welche Auswirkungen dieser hat)

a) T-Helferzellen

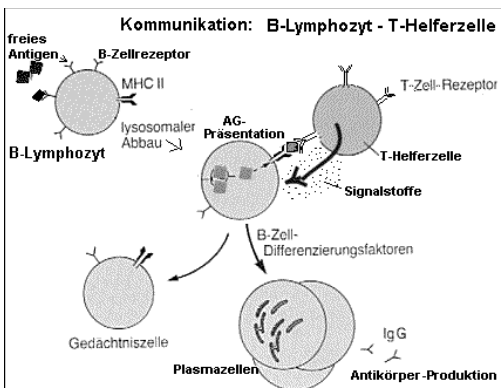
- tragen CD4- Rezeptor auf Zelloberfläche
- mit ihrem spezifischen T-Zell-Rezeptor binden sie an ein Antigen, welches von einer körpereigenen Zelle präsentiert wird, welche nicht infiziert ist und präsentieren es auch
- dieser Kontakt, sowie die Abgabe von Interleukin 1 bewirkt eine Aktivierung der T-Helferzellen welche sich daraufhin teilen und dabei Interleukin 2 abgeben, welches die B-Zellen und weiter T-Lymphozyten aktiviert → fungieren als „Organisator“ der Immunreaktion
- ihr CD4- Rezeptor bindet nur an MHCII-Merkmale (→ das heißt in der körpereigenen Zelle vermehrt sich das Virus nicht sondern wird nur präsentiert)

b) T-Killerzellen

- tragen CD8- Rezeptor auf Oberfläche
- ihr spezifischer T-Zellen-Rezeptor bindet an Antigene, welche von körpereigenen Zellen präsentiert werden, jedoch sind diese Zellen infiziert
- die T-Killerzellen heften sich nun an diese Zielzellen und setzen Perforin frei, welches die Zelle zum Platzen bringt und so die Apoptose bewirkt
- ihr CD8-Rezeptor bindet nur an MHC I-Moleküle (→ Zellen, in denen sich das Virus vermehrt)

4. B-Lymphozyten:

- für die humorale Immunantwort des spezifischen Immunsystems verantwortlich
- Aktivierung über zwei Schritte:
 1. Erreger (entweder von der dendritischen Zelle präsentiert oder „vorbeischwimmend“) wird phagozytiert und dessen Bestandteile auf der Oberfläche präsentiert
 2. Spezifische T-Helferzelle passt auf diese antigenpräsentierende B-Zelle (nach Schlüssel-Schloss-Prinzip) → Teilung von B-Zelle in Plasmazellen und B-Gedächtniszellen
- Plasmazellen bilden viele spezifische Antikörper, welche die Erregerzellen unschädlich machen
- B-Gedächtniszellen verbleiben im Körper und können bei erneuter Erkrankung sehr schnell reagieren und Antikörper bilden (→ adaptives Immunsystem)



Die Aktivierung der B-Zellen durch Antigen-Kontakt und Zell-Zell-Kontakt mit TH-Zellen (1)

1.3 Ablauf einer akuten Abstoßungsreaktion:

- eine akute Abstoßungsreaktion findet meist erst mehrere Tage oder Wochen nach der durchgeführten Organtransplantation statt und deutet darauf hin, dass das Organ als fremdes Gewebe erkannt wurde und unser Immunsystem nun darauf reagiert
- eine Abstoßungsreaktion würde immer stattfinden (außer bei eineiigen Zwillingen), kann jedoch manchmal durch Immunsuppressiva verhindert werden
- bei der akuten Abstoßungsreaktion unterscheidet man zwischen einem direkten und indirektem Erkennungsmechanismus:

1.) direkte Erkennung als „fremd“:

Zytotoxische T-Killerzellen erkennen die präsentierten Oberflächenmerkmale auf dem Transplantat als fremd an und werden sofort aktiviert

2.) indirekte Erkennung als „fremd“:

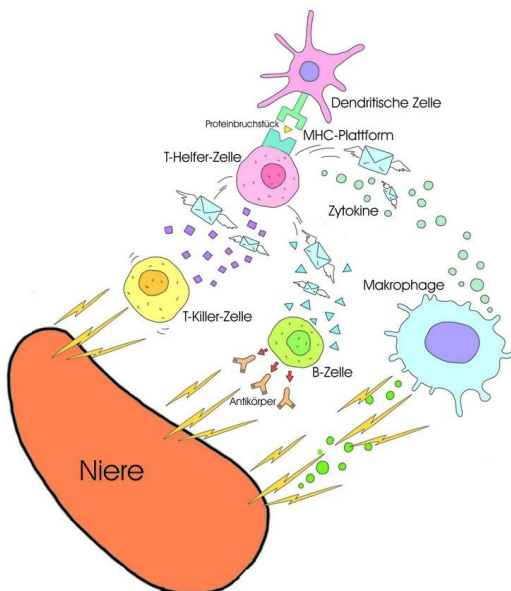
- hierbei nehmen dendritische Zellen bestimmte Oberflächenmerkmale des fremden Organs auf und präsentieren sie auf ihren Oberflächenmolekülen

- dadurch werden T-Helferzellen aktiviert, welche daraufhin Botenstoffe freisetzen, um zum Beispiel Fresszellen, besonders NK-Zellen oder T-Killerzellen zu aktivieren, welche in das Gewebe eindringen und dieses versuchen zu zerstören

- zudem sorgen sie für eine Aktivierung der B-Zellen, welche dann spezifische Antikörper gegen das transplantierte Organ bilden

Eine solche Abstoßungsreaktion versucht man durch die Gabe von Immunsuppressiva, welche das Immunsystem blockieren, zu verhindern. Der Nachteil dabei ist, dass die Infektionsanfälligkeit steigt und es zu starken Nebenwirkungen, wie z. B. einem erhöhten Krebsrisiko kommen kann.

Eine akute Abstoßungsreaktion nach einer Nierentransplantation:



Beteiligte Zellen bei einer akuten Abstoßungsreaktion (2)

- die Abstoßung welche direkt auf dem OP-Tisch bzw. kurze Zeit nach der Operation erfolgt nennt sich hyperakute Abstoßungsreaktion und beruht auf bereits vorhandenen Antikörpern in Körper des Empfängers

2. Die regulatorische T-Zelle

2.1 Allgemeines

- Subgruppe der T-Helferzellen
 - Funktion: Regulierung der Immunantwort und der Selbsttoleranz des Immunsystems
 - können Immunantwort unterdrücken (T-Suppressorzellen)
 - bei jeder Immunantwort im Einsatz, sodass sie eine Überreaktion verhindern
- **zweiseitiges Schwert:**
1. Verhinderung von Autoimmunerkrankungen, da sie körpereigene Zellen erkennen und eine Reaktion des Immunsystems auf diese verhindern
 2. bei zu hoher Konzentration verhindern sie die Bekämpfung von Tumorzellen, da auch diese von ihnen als körpereigene Zellen erkannt werden
- wichtige Oberflächenrezeptoren: CD4 (da T-Helferzellen), CD127, CD25...CTLA-4 (CD 152)
 - intrazellulärer Transkriptionsfaktor: Foxp3
 - wichtig zur späteren Identifizierung während des Projektes

2.2 Rolle bei Organtransplantationen:

- könnte man regulatorische T-Zellen gezielt regulieren, so könnte man sie bei einer Organtransplantation so steuern, dass sie eine Immunantwort gegen das Organ und damit eine Abstoßungsreaktion verhindern
- Ziel: spezifische Hemmung einer Immunantwort nur gegen das transplantierte Gewebe → keine bzw. weniger Immunsuppressiva nötig → geringeres Risiko einer Infektion oder Tumorerkrankung

2.3 Wirkmechanismus:

- regulatorische T-Zellen können andere Immunzellen über zwei Wege hemmen:

1. Botenstoffe: Anders als das IL-1 oder IL-2 hat das von den regulatorischen T-Zellen (Tregs) ausgeschüttete TGF β (Transforminggrowthfactor β) eine stark hemmende Wirkung auf T-Lymphozyten, ebenso IL-10

2. Zell-Zell-Kontakt: Über ihren CTLA-4-Rezeptor können die regulatorischen T-Zellen deutlich besser an den CD86-Rezeptor einer antigenpräsentierenden Zelle binden, als die CD28-Rezeptoren einer konventionellen T-Helferzelle. Dadurch inhibieren (d.h. hemmen) sie die Antigenpräsentation dieser Zellen gegenüber den normalen T-Zellen. Zudem regen sie die Bildung eines immunsuppressiv wirkenden Proteins in den dendritischen Zellen an (z.B. IL-10)

3. Vitamin D und bisherige Kenntnisse

3.1 Allgemeines:

- Vitamin D ist ein, für den Körper sehr wichtiges, fettlösliches Vitamin
- Es wird zum Teil über die Nahrung aufgenommen, zum größten Teil aber bewirkt die Einstrahlung von Sonnenlicht die Umwandlung von Vit.D- Vorstufen zum aktiven Vitamin D in unserer Haut
- Vitamin D reguliert den Kalziumhaushalt maßgeblich, hat zudem aber auch Auswirkungen auf unser Immunsystem. So soll es zum Beispiel unser Immunsystem stärken oder Autoimmunerkrankungen vorbeugen. Jedoch sind seine Auswirkungen noch nicht genau bekannt.
- Viele Transplantationspatienten haben einen akuten Vitamin D Mangel und bekommen daher Vitamin D als Ergänzungsmittel, zudem sind die Nebenwirkungen bei Vitamin D relativ gering. Daher wurden in dem Projekt die **Auswirkungen von Vit. D auf die Immunzellen** genauer untersucht.

3.2 Vorwissen

1. Vitamin D ist in der Lage, sowohl gewisse Immunzellen zu stimulieren, als auch andere zu supprimieren. Dies wurde schon in mehreren Studien sowohl in vitro (im Labor) als auch in vivo (an Patienten) gezeigt.

2. Laut Studien wurden bei bestimmten (sehr hohen) Vitamin D-Konzentrationen die entzündungsfördernden TH-17-Zellen (Untergruppe der T-Helferzellen) gehemmt (für Transplantationen gut) und regulatorische T-Zellen stimuliert (in vitro). Bei einer eigenen Studie wurde bei gesunden Nierentransplantationspatienten jedoch **kein Zusammenhang zwischen dem Vitamin D Spiegel im Blut (sowohl aktiv, als auch inaktiv) und der Proliferation von Immunzellen** festgestellt. Dies ist auch durch die unrealistischen Vit. D Konzentrationen erklärbar, welche in der älteren Studie verwendet wurden (diese müsste 100 mal höher sein, als der normale Vit. D Gehalt des Blutes)

Stattdessen konnte man sehen, dass eine positive Korrelation zwischen den TH-17- Zellen und den regulatorischen T-Zellen besteht, d.h. stieg die Konzentration der TH17-Zellen an, so geschah dies auch mit den regulatorischen T-Zellen.

3. Es wurden Zellen gefunden, welche sowohl Th17- als auch bestimmte Treg- Marker (z.B. Foxp3) aufweisen → sogenannte „intermediate T-cells“. Daher kam die Vermutung auf, dass Vitamin D den Übergang von regulatorischen T-Zellen zu TH-17-Zellen beeinflusst (oder umgekehrt). Zudem könnte dies die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien erklären, da sie zu Zeitpunkten stattgefunden haben, an denen es unterschiedliche Definitionen für regulatorische T-Zellen gab (sie wurden durch unterschiedliche bzw. weniger Marker definiert). Daher wurde die Zellanzahl auf unterschiedliche Weise ermittelt, was dann auch zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben kann.

4. Da „schlafende“, also inaktive T-Zellen deutlich weniger Oberflächenrezeptoren aufweisen, ist der Effekt von Vitamin D auf sie vermutlich deutlich geringer verglichen mit dem Effekt, den Vit. D haben könnte, wenn die Immunzellen aktiviert sind. Daher hatte das Vitamin D auf die stabilen Langzeittransplantationspatienten einen sehr geringen Einfluss.

Es stellt sich die Frage, ob ein größerer Einfluss in einer Situation zu beobachten ist, in der Vit. D erst dann eingesetzt wird, wenn das Immunsystem aktiv ist, z.B. bei einer Abstoßungsreaktion.

Auf diesem Vorwissen haben wir ein Projekt entwickelt, mit welchem wir gewisse Eigenschaften von Vitamin D untersuchen konnten.

4. Der Ansatz des Projektes

4.1 Das Ziel:

1. Den Einfluss von Vitamin D auf bestimmte T-Zell-Untergruppen und deren Proliferation (Vermehrung) untersuchen, verglichen zu der Proliferation der Zellen ohne Vitamin D-Zugabe.
2. Herausfinden, ob der „Aktivierungszustand“ der T-Zellen Einfluss auf deren Beeinflussung durch Vitamin D hat.
3. Herausfinden, ob die gleiche Vitamin D Konzentration verschiedene T-Zell-Subgruppen unterschiedlich beeinflusst.
4. Vergleich der T-Zell Proliferation und Entwicklung einzelner Subgruppen, abhängig von der Vitamin-D-Konzentration
4. Den Zusammenhang zwischen TH-17-Zellen und regulatorischen T-Zellen genau untersuchen.
5. Ermittlung des relativen Anteils an regulatorischen T-Zellen, welche IL-17 produzieren („intermediate T-cells“), auch deren prozentualer Anteil an den gesamten TH-17-Zellen

4.2 Die Methode:

1. Gemessen werden verschiedene Oberflächenrezeptoren der T-Lymphozyten (nach Ablauf der Inkubationszeit):
CD3 (Lymphozyten), CD4 (T-Helferzellen), CD25 (regulatorische T-Zellen), CD127 (regulatorische T-Zellen), CD8 (zytotoxische T-Zellen), CD38 (Rezeptor aktivierter Immunzellen).
Zusätzlich der intrazelluläre Transkriptionsfaktor Foxp3 (regulatorische T-Zellen) und das Interleukin Il-17 (Th-17-Zellen).
Somit kann später genau ermittelt werden, welcher T-Zellen-Typ entsteht (z.B. stimulierend: Th-17 oder hemmend: Treg). Auch können somit „intermediate T-cells“ ermittelt werden.
2. Die Proliferation wird gemessen, indem zu Beginn ein Farbstoff (CFSE) zu den Immunzellen hinzugegeben wird. Da sich eine Zelle teilt, um sich zu vermehren, wird der Farbstoff pro Zelle mit jeder Teilung halbiert. Dieser Farbstoff kann gemessen werden und dadurch auch die Proliferation der Zellen
3. Die Lymphozyten der Blutprobe eines gesunden Menschen entwickeln sich unter unterschiedlichen Bedingungen (z.B. stimuliert/ unstimuliert) für 72h bei drei verschiedenen Vitamin D Konzentrationen und werden schließlich ausgemessen. Des weiteren gibt es Ansätze, bei denen sich die Lymphozyten erst 72h ohne Vitaminzugabe unter unterschiedlichen Bedingungen entwickeln und erst dann das Vitamin D in den drei Konzentrationen hinzugegeben wird. Diese Ansätze werden dann nach weiteren 72h, also nach insgesamt 6 Tagen ausgemessen. Dies soll die Situation simulieren, dass am Höhepunkt einer Immunantwort, also zum Beispiel bei einer Abstoßungsreaktion Vitamin D gegeben wird.
4. Zeitgleich laufen Kontrollen, bei denen die Immunzellen nicht mit Vitamin D in Kontakt kommen, auch hier bei unterschiedlichen Bedingungen (stimuliert/unstimuliert).
5. 72h: nach drei Tagen ist der Höhepunkt einer Immunantwort erreicht und somit sind zu diesem Zeitpunkt die meisten Immunzellen messbar.
6. Für jeden Ansatz brauchen wir drei Panels, eines um die Proliferation zu messen und zwei weitere für die Subgruppenbestimmung
7. Stimuliert werden die Zellen mit PHA (Phytohämagglutinin → Protein bzw. Lektin)

4.3 Unsere Hypothese:

- Vitamin D hat auf bereits stimulierte Immunzellen (nach 72h) einen größeren Einfluss, als auf Immunzellen, welche noch nicht stimuliert waren, da die Immunzellen dann mehr Oberflächenrezeptoren haben, welche das Vitamin D aufnehmen können, sodass sich die Zelle entsprechend entwickeln kann.
- Vitamin D begünstigt eine Umwandlung der Th-17 Zellen zu regulatorischen T-Zellen, d.h. die Anzahl der „intermediate T-cells“ steigt
- Vitamin D stimuliert die regulatorischen T-Zellen und hat damit eine hemmende Wirkung auf das Immunsystem (→ für Transplantationen hieße das, dass durch Vitaminzugabe eine Hemmung der TH-17-Zellen und damit ein geringeres Risiko einer Abstoßungsreaktion bewirkt werden könnte) → Einstellung der Immunsuppressiva als Dauertherapie

4.4 Der Ansatz:

1. Ansatz:

Lymphozyten (PBL)+CFSE (Farbstoff) für 72h dann Messung → Kontrolle

2. Ansatz:

PBL+CFSE+PHA (Stimulant) für 72h dann Messung → Kontrolle

3. Ansatz:

- a) PBL+CFSE+Vit. D (Konz.1) für 72h dann Messung → Kontrolle (da unstimuliert)
- b) PBL+CFSE+Vit. D (Konz.2) für 72h dann Messung → Kontrolle
- c) PBL+CFSE+Vit. D (Konz.3) für 72h dann Messung → Kontrolle

4. Ansatz:

- a) PBL+CFSE+PHA+Vit. D (Konz.1) für 72h dann Messung
- b) PBL+CFSE+PHA+Vit. D (Konz.2) für 72h dann Messung
- c) PBL+CFSE+PHA+Vit. D (Konz.3) für 72h dann Messung

5. Ansatz:

PBL+CFSE für 144h dann Messung → Kontrolle

6. Ansatz:

PBL+CFSE+PHA für 144h dann Messung → Kontrolle

7. Ansatz:

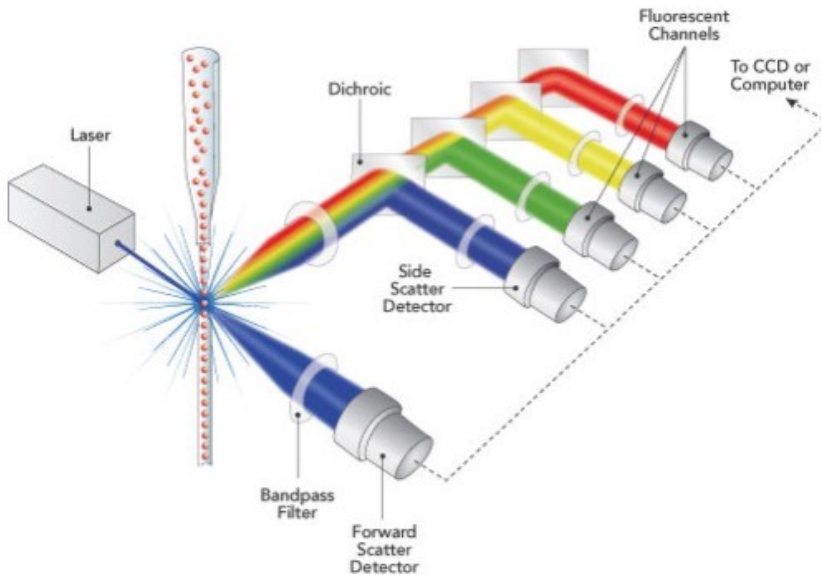
- a) PBL+CFSE für 72h → Zugabe Vit. D (Konz.1) für weitere 72h dann Messung → Kontrolle
- b) PBL+CFSE für 72h → Zugabe Vit. D (Konz.2) für weitere 72h dann Messung → Kontrolle
- c) PBL+CFSE für 72h → Zugabe Vit. D (Konz.3) für weitere 72h dann Messung → Kontrolle

8. Ansatz:

- a) PBL+CFSE+PHA für 72h → Zugabe Vit. D (Konz.1) für weitere 72h dann Messung
- b) PBL+CFSE+PHA für 72h → Zugabe Vit. D (Konz.2) für weitere 72h dann Messung
- c) PBL+CFSE+PHA für 72h → Zugabe Vit. D (Konz.3) für weitere 72h dann Messung

4.5 Messung:

- gemessen werden die verschiedenen Ansätze mit dem Durchflusszytometer
- Wie bereits oben erwähnt kann man nun die T-Lymphozyten anhand ihrer Oberflächenrezeptoren den Subgruppen der T-Lymphozyten zuordnen. Dafür gibt man vor der Messung Moleküle zu den Zellen, welche einen Farbstoff tragen und die sich immer an einen bestimmten Rezeptor heften (z.B. Molekül mit Farbe rot heften sich an CD4- Rezeptor). Somit werden also an jede Zelle Farbstoffe „angeheftet“ abhängig von ihren Oberflächenrezeptoren und damit ihrer Subgruppe. Eine konventionelle, aktivierte T-Helferzelle hat u.a. die Rezeptoren CD3, CD4 und CD38 und wäre dementsprechend mit den Farbstoffe versehen.
- Im Durchflusszytometer werden die Zellen durch ein ultradünnes Röhrchen gesaugt (eine nach der anderen) und Laserstrahlen treffen dann auf diese Zelle. Damit können die Moleküle mit dem Farbstoff auf der Zelloberfläche erkannt werden und die Zelle wird der entsprechenden Untergruppe zugeordnet.
- Um den intrazellulären Transkriptionsfaktor Foxp3 einer regulatorischen T-Zelle zu messen, gibt es eine andere Messmethode (komplexer und länger), auch mit dem Durchflusszytometer



Funktionsweise des FACSCalibur-Flow-Cytometers (3)

5. Ergebnisse und Ausblick

5.1 Die Ergebnisse im Überblick:

Ergebnisse Proliferation:

- auch ohne Stimulation durch PHA ist nach drei und sechs Tagen ein leichter Anstieg der Proliferation zu erkennen, welcher darauf zurückzuführen ist, dass Zellen, die zerfallen, Zytokine freisetzen, welcher dann zu einer Vorstimulation der Zellen führt, welche beachtet werden sollte (mit PHA ist der Anstieg der Proliferation natürlich sehr viel stärker)
- mit Vitamin D ist eine dosisabhängige Hemmung der Zellproliferation erkennbar, diese ist jedoch unabhängig von dem Aktivierungszustand der Zellen, d.h. Vitamin D hat vor allem in hohen Konzentrationen eine leicht immunsuppressive Wirkung

Ergebnisse Subgruppenbestimmung:

- betrachtet man nun die verschiedenen Subgruppen der Lymphozyten und deren Entwicklung, so kann man zusammenfassend sagen, dass bei dreitägiger Vorstimulation vor allem Tregs entstehen. Dabei gilt, je höher die Konzentration von Vit. D, desto mehr Tregs entstehen
- ohne Vorstimulation werden vor allem TH-17- Lymphozyten induziert und auch ein leichter Trend zu Treg-Induktion ist erneut erkennbar
- die Induktion von Treg, welche zu erkennen ist, könnte die Suppression der Immunzellen in unserem Ansatz bei Anwesenheit von Vitamin D erklären
- zudem ist die Bildung von intermediates in Abhängigkeit von der Konzentration erkennbar

Wichtig:

- es muss beachtet werden, dass dieses Projekt vorläufig nur dazu gedient hat, um eventuell Trends zu entdecken und um zu überprüfen, ob die angewandte Methode sinnvoll ist (sog. Pilotprojekt). Daher ist es auch nicht verwunderlich, dass teilweise keine klaren Entwicklungen erkennbar sind, vor allem da wir nur mit drei Ansätzen gearbeitet haben.

5.2 Ausblick:

- In Zukunft wird dieser Test mit eventuell verbesserter Methode, wie zum Beispiel anderen Vitamin-D-Konzentration erneut durchgeführt werden (häufiger)
- Zudem werden Tests mit Transplantationspatienten gemacht, welche eine Abstoßungsreaktion haben, um hier eventuell Zusammenhänge zwischen dem Vitamin D-Spiegel im Blut und den Immunzellen erkennen zu können

6. Danksagungen

Mein Dank gilt:

- Herrn und Frau Hector, die mir durch das Hector-Seminar das wissenschaftliche Arbeiten während meiner Zeit dort ermöglicht haben.
- Herrn Dr. Raque und Herrn Dr. Goelz, die mich als meine Kursleiter begleitet und immer unterstützt haben.
- Den Mitarbeiterinnen der Transplantationsimmunologie Heidelberg, die für mich viel Zeit geopfert und mich während meiner Laborarbeiten sehr unterstützt haben: Silja, Marion, Martina, Regina und Anja
- Dem Institut für Immunologie, Abteilung: Transplantationsimmunologie, welches mir die Durchführung meiner Kooperationsphase ermöglicht hat.
- Den Gastärzten Dr. Mostafa Aly und Frau Li Zhu, mit denen ich die Projekte durchgeführt habe
- Mein größter Dank gebührt Herrn Prof. Dr. Daniel, der mich über das übliche Maß hinaus betreut und immer sehr unterstützt hat.

7. Quellen

- <http://www.netdoktor.de/Diagnostik+Behandlungen/Laborwerte/Immunsystem-So-funktionieren-u-1285.html> (02.10.2017, 15:57)
- <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/immunzellen/33859> (02.10.2017, 15:58)
- <https://www.roche.de/pharma/transplantation/immunsuppression/das-immunsystem.html> (02.10.2017, 16:00)
- <http://www.imd-berlin.de/fachinformationen/diagnostikinformationen/natuerliche-killerzellen.html> (02.10.2017, 16:02)
- <https://www.krebsinformationsdienst.de/grundlagen/immunsystem.php> (02.10.2017, 16:03)
- <http://das-immunsystem.de/fuer-jedermann/organtransplantation/abstossung-immunsuppression> (02.10.2017, 16:03)
- <http://www.apotheken-umschau.de/Haut/Vitamin-D-166123.html> (02.10.2017, 16:04)

Bildquellen:

(1) Strukturformel Vitamin D:

https://de.wikipedia.org/wiki/Vitamin_D

(1) Bild Vitamin D:

<https://www.body-attack.de/vitamin-d.html>

(2):

<http://www.scheffel.og.bw.schule.de/faecher/science/biologie/immunologie/2kommunik/kommunikation.htm>

(3):

<http://das-immunsystem.de/fuer-jedermann/organtransplantation/abstossung-immunsuppression>

(4):

FACSCalibur-Flow-cytometer1.jpg

8. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich diese Arbeit unter der Beratung durch Herrn Professor Dr. Daniel selbstständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt wurden, sowie Zitate kenntlich gemacht habe.

Walldorf, 02.10.2017, Carolin Resag