



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Immunhistochemische Untersuchungen über Veränderungen der cholinergen, peptidergen und nitrergen Innervation bei der intestinalen neuronalen Dysplasie

Autor: Frank Krieger
Einrichtung: IV. Medizinische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. H.-J. Krammer

Die intestinale neuronale Dysplasie (IND) wurde 1971 als eine kongenitale Innervationsstörung des Kolons mit Hirschsprung-ähnlicher Symptomatik beschrieben, deren histopathologisches Korrelat sich in einer Hyperganglionose mit Riesenganglien (Ganglien mit 7 oder mehr Nervenzellen), einer zeitweisen, entwicklungsbedingten Plexushyperplasie und gesteigerten Acetylcholinesterase-(AChE)-Aktivität des submukösen Plexus zeigt. Seitdem wird die Existenz dieses Krankheitsbilds als klinisch-pathologische Einheit kontrovers diskutiert. Es wurden mit dieser Arbeit 10 Darmresektate mit einer IND und 3 Darmabschnitte ohne Innervationsstörung im Kryostatschnitt vergleichend immunhistochemisch untersucht. Die Antikörper richteten sich gegen neuronale und gliale Strukturproteine, wie Protein gene product 9,5 (PGP 9.5) und S-100 protein (S-100), und gegen insgesamt 5 funktionell wichtige Transmittersubstanzen. Wir wählten Acetylcholin (ACh) - durch Cholinacetyltransferase-(CHAT)-Antikörper nachgewiesen - und Substance P (SP) als exzitatorische Transmitter, Stickstoffmonoxid (NO) - durch NO-Synthase-(NOS)-Antikörper nachgewiesen - und Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) als inhibitorische Transmitter und Calcitonine Gene-Related Peptide (CGRP) als Neuromodulator der gastrointestinalen Sekretion. Zur nachfolgenden Immunfluoreszenzreaktion benutzten wir FITC-markierte Antikörper, zur Immunperoxidasereaktion Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Komplex und DAB als farbgebendes Substrat.

In den umfangreichen Vorversuchsreihen wurden Schnittfixierung mit Aceton-, Formalin- und modifizierter Zamboni-Lösung und Ganzgewebsfixierung mit modifizierter Zamboni-Lösung miteinander verglichen. Wir entschieden uns für die Ganzgewebsfixierung, welche die zuverlässigste immunhistochemische Darstellung ermöglichte.

Durch den Nachweis der Strukturproteine PGP 9.5 und S-100 konnten die histopathologischen Veränderungen der IND immunhistochemisch bestätigt und differenziert beschrieben werden. Mit Anti-PGP 9.5 zeigten sich die Hyperganglionose und die Nervenzellen in ihrer neuronalen Struktur; die Nachweisreaktion von S-100 erlaubte eine hervorragende Darstellung der Plexushyperplasie.

Die Nachweisreaktion von CHAT erbrachte für die IND-Gruppe eine vermehrte Immunreaktivität (+++) im Vergleich zur Kontrollgruppe (++) , was einen erhöhten ACh-Gehalt des betroffenen Gewebes vermuten lässt. Die Beurteilung der Intensität erfolgte semiquantitativ in 4 Kategorien von (-) wie „keine spezifische Antikörperreaktion erkennbar“ bis (+++) wie „stark ausgeprägte Antikörperreaktion“. Die in Riesenganglien lokalisierten Nervenzellen zeigten sich als CHAT- und NOS-positiv, was auf eine intakte ACh- und NO-Produktion dieser Zellen schließen lässt, es zeigte sich jedoch kein eindeutiger Intensitätsunterschied der NOS-Reaktion zwischen den beiden Gruppen. Bezüglich der anderen Transmitter SP, VIP und CGRP zeigte sich in beiden Gruppen ein gleichmäßiges Verteilungsmuster, jedoch keine eindeutigen Intensitätsunterschiede zwischen IND- und Kontrollgruppe.

Somit bestätigt diese Arbeit die histopathologischen Kriterien der IND mit immunhistochemischen Methoden und stellt darüber hinaus die Nervenzellen der submukösen Riesenganglien als Ort der gesteigerten ACh-Produktion und bezüglich der anderen, nachgewiesenen Transmitter als funktionell intakte Zellen dar.

Die Dissertation ist Bestandteil des von der DFG geförderten Forschungsprojekts (DFG Kr 1257/ 2-1), die Ergebnisse haben zur Bewilligung des Verlängerungsantrags (DFG Kr 1257/ 2-2) beigetragen.