



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

**Beitrag von Apoptose zur Entwicklung des sekundären
posttraumatischen Hirnschadens. Untersuchungen am Modell der
direkten Kälteläsion bei Ratten.**

Autor: Martin Bruno Barth
Institut / Klinik: Neurochirurgische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. L. Schilling

Apoptose gilt als Selbstmordprogramm von Zellen, das unter physiologischen und pathologischen Bedingungen induziert werden kann. Ziel der vorliegenden Dissertation ist es, die Rolle von apoptotischem Zelltod am sekundären Wachstum einer traumatisch bedingten Primärläsion zu charakterisieren.

Als Modell eines fokalen Schädel-Hirntraumas diente die Kälteläsion am offenen kraniellen Fenster der Ratte. Morphometrische Untersuchungen in seriellen Gefrierschnitten ergaben eine zweizeitige Zunahme des Läsionsvolumens mit einer frühen Wachstumsphase bis 9 Stunden und einer sekundären Zunahme des geschädigten Volumens zwischen 24 und 36 Stunden nach Läsion.

In parallelen Schnitten wurde die sog. TUNEL-Färbung durchgeführt, die in der Literatur als etablierte Nachweismethode für Apoptose gilt. Dabei zeigte sich, daß die TUNEL-positiven Zellen stets auf die Läsionsflächen beschränkt waren: in den ersten 24 Stunden nach Läsion homogen verteilt, zu späteren Zeitpunkten dagegen am Läsionsrand konzentriert. Die Anzahl TUNEL-positiver Zellen zeigte dagegen eine völlig unterschiedliche Kinetik; das Maximum war bereits 3 Stunden nach Läsion erreicht, und danach fiel die Anzahl TUNEL-positiver Zellen kontinuierlich ab.

Diese Befunde, insbesondere das unerwartet frühe Maximum stellt die Spezifität der TUNEL-Färbung als Indikator von apoptotischem Zelltod unter den gegebenen Bedingungen in Frage. Daher wurde im weiteren Verlauf eine neue Methode entwickelt, mit der das TUNEL-Signal mit Goldpartikeln markiert werden kann und damit eine elektronenmikroskopische Detektion und die Beurteilung ultrastruktureller Veränderungen in einzelnen Zellen ermöglicht. Hierzu wurde ein ‚preembedding-Ansatz‘ verwendet und die optimalen Inkubationsbedingungen an mit DNA-se vorbehandeltem normalem Hirngewebe ermittelt.

Zur Validierung der Färbung wurden Hirnschnitte neugeborener Ratten untersucht. Dabei ergab sich, daß stets nur einzelne Zellen in einem intakten Zellverband TUNEL-positiv waren, die auch charakteristische Merkmale von apoptotischem Zelltod, vor allem im Kern in unterschiedlichen Ausprägungsintensitäten zeigten. Im Gegensatz dazu waren sowohl zu frühen, als auch zu späten Zeitpunkten im Gewebe nach Kälteläsion ultrastrukturell Zeichen des nekrotischen Zelluntergangs bei allen TUNEL-positiven Zellen nachweisbar. Daraus ergibt sich, daß unter den gegebenen Bedingungen die TUNEL-Färbung keine spezifische Detektion des apoptotischen Zelltods ermöglicht.

Nach direktem fokalem Kältetrauma spielt demnach apoptotischer Zelluntergang offensichtlich weder in der frühen Phase der Läsionsentwicklung noch in der späten Phase des sekundären Läsionswachstums eine signifikante Rolle.