

### **3. ERGEBNISSE**

#### **3.1. Allgemeines**

Es wurden nur Präparate morphometrisch ausgewertet, die eine gleichmäßige und deutliche Anfärbung aufwiesen. Präparate, die diese Qualitätsanforderung nicht erfüllten, wurden erneut gefärbt. Wenn sich kein zufriedenstellendes Ergebnis erzielen ließ, wurden die Präparate nicht ausgewertet.

Alle prozentualen Angaben beziehen sich auf den Vergleich der Mediane und sind gerundet.

#### **3.2. Auswertung der lichtmikroskopischen Ergebnisse**

##### **3.2.1. Expressionsverlauf von EAAT1**

###### **3.2.1.1. Kontusion**

Der Median der Kontrollfälle beträgt 32,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=31,2; 75%=36,2). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 17,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=7,4; 75%=33,0) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 19,2 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=11,2; 75%=26,4). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 13,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=10,2; 75%=18,4). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 24,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=16,0; 75%=32,0). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.1.

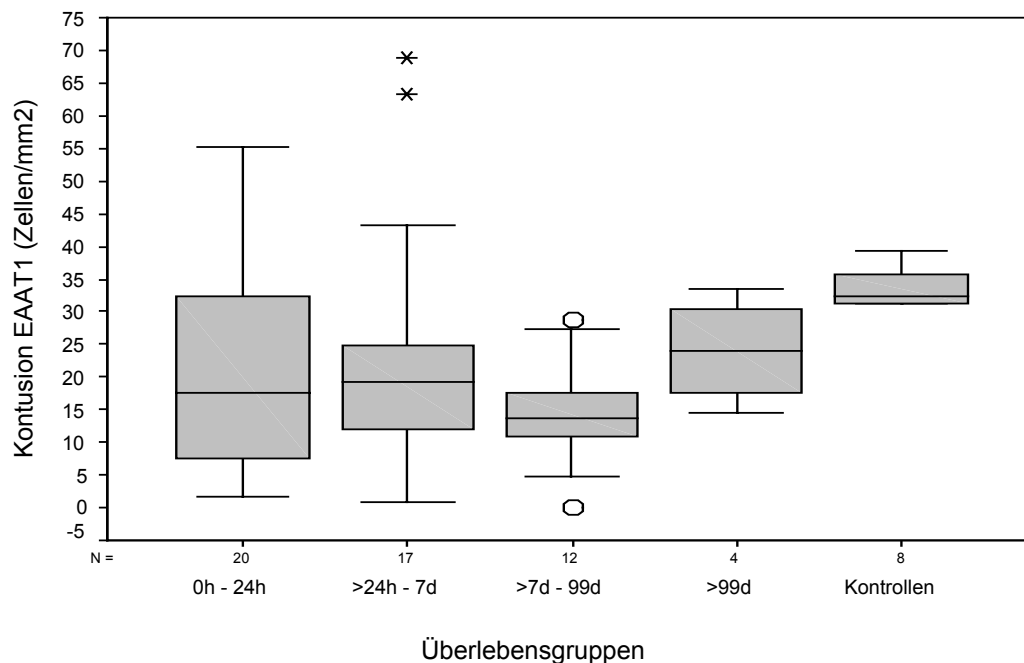


Abb. 3.1. Expressionsverhalten von EAAT1 im Kontusionsgebiet (\* und o = Ausreißer)

Zwischen den vier Überlebenszeitgruppen gibt es keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p\ 0,396$ ) im Expressionsverhalten. Die ersten drei Fallgruppen zeigen eine niedrigere Expression als die Kontrollgruppe ( $p\ 0,033$ ;  $p\ 0,009$ ;  $p<0,001$ ), die letzte Fallgruppe unterscheidet sich dagegen nicht mehr signifikant ( $p\ 0,073$ ). Eine deutliche Verminderung um 46% in der Expression von EAAT1 ist in der ersten Überlebensgruppe gegenüber den Kontrollen zu beobachten. In der zweiten Überlebensgruppe beträgt die Abnahme 41%. Die dritte Gruppe weist noch immer eine Expressionsminderung von 58% im Vergleich mit den Kontrollfällen auf. In der letzten Überlebensgruppe kommt es dagegen wieder zu einem Anstieg der EAAT1-Expression, der prozentuale Unterschied zu den Kontrollen beträgt nur noch 26% und ist nicht mehr statistisch signifikant. Diese Gruppe unterscheidet sich aber auch nicht signifikant von der dritten Überlebensgruppe ( $p\ 0,058$ ).

### 3.2.1.2. Perikontusion

Der Median der Kontrollfälle beträgt 32,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=31,2; 75%=36,2). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 25,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=13,6; 75%=31,2) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 24,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=18,8; 75%=32,0). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 27,2 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=21,0; 75%=32,0). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 30,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=26,0; 75%=34,8). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.2.

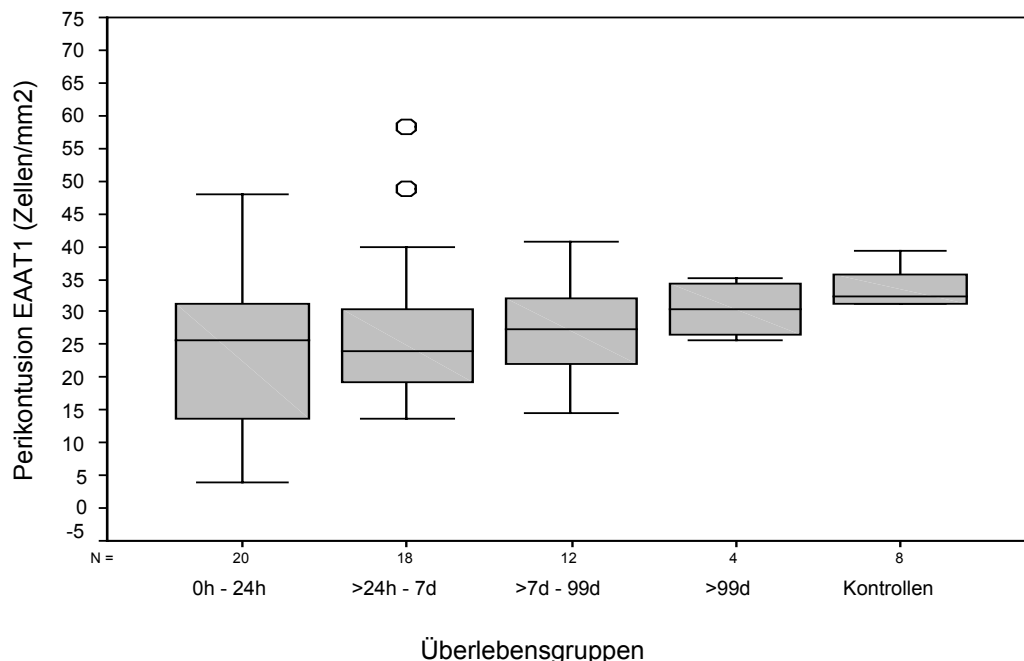


Abb. 3.2. Expressionsverhalten von EAAT1 im Perikontusionsgebiet

Auch im perikontusionellen Gebiet besteht im Vergleich der vier Überlebensgruppen untereinander kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,525$ ). Wie im Kontusionsgebiet zeichnet sich aber ein deutliches Absinken der EAAT1-Expression in den ersten drei Gruppen im Vergleich mit den Kontrollfällen ab ( $p = 0,007$ ;  $p = 0,019$ ;  $p = 0,031$ ), während sich die vierte Gruppe wieder den Kontrollen annähert und sich nicht mehr signifikant von ihnen unterscheidet ( $p = 0,461$ ). Der Abfall beträgt für die erste Gruppe 21%. Die zweite Gruppe fällt um 26% ab. In der dritten Überlebensgruppe beträgt der Expressionsabfall 16%, in der vierten Gruppe 6%. Insgesamt fällt die Verminderung der EAAT1-Expression im perikontusionellen Gewebe also weniger stark aus als im Kontusionsgebiet selbst ( $p = 0,001$ ).

### **3.2.2. Expressionsverlauf von EAAT2**

#### **3.2.2.1. Kontusion**

Der Median der Kontrollfälle beträgt 22,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=20,2; 75%=26,4). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 6,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=2,4; 75%=11,6) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 2,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=0,0; 75%=9,0). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 3,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=0,0; 75%=9,8). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 12,8 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=10,0; 75%=18,0). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.3.

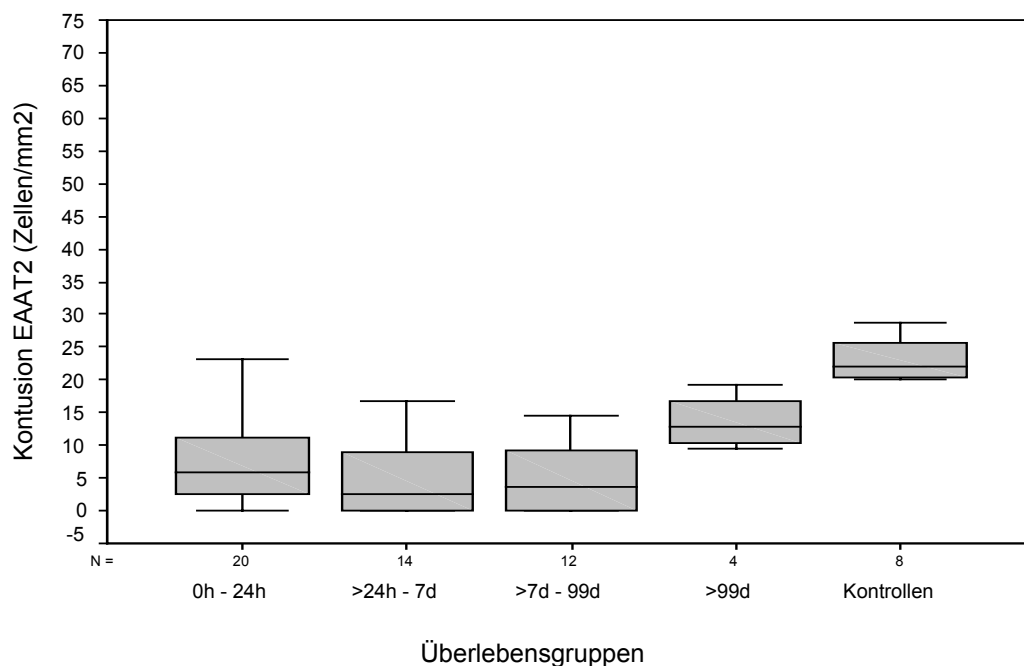


Abb. 3.3. Expressionsverhalten von EAAT2 im Kontusionsgebiet

Die Expression von EAAT2 zeigt im kontusionellen Gebiet, ähnlich wie bei EAAT1, eine signifikante Verminderung über alle Überlebensgruppen im Vergleich zu den Kontrollfällen ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,004$ ). In der ersten Gruppe beträgt dieser Abfall 73%. Die Expression geht in der zweiten Gruppe um 89% zurück. Die dritte Überlebensgruppe zeigt noch immer einen Rückgang von 84%. In der vierten Überlebensgruppe ist die Expression von EAAT2 nur noch um 42% vermindert und ist damit signifikant höher als in der zweiten ( $p < 0,008$ ) und dritten ( $p < 0,02$ ) Gruppe. Der Vergleich zwischen erster und vierter Gruppe ist knapp nicht signifikant ( $p < 0,056$ ).

### 3.2.2.2. Perikontusion

Der Median der Kontrollfälle beträgt 22,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=20,2; 75%=26,4). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 14,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=10,0; 75%=18,6) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 14,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=11,2; 75%=24,0). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 12,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=9,2; 75%=15,2). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 20,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=15,6; 75%=23,2). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.4.

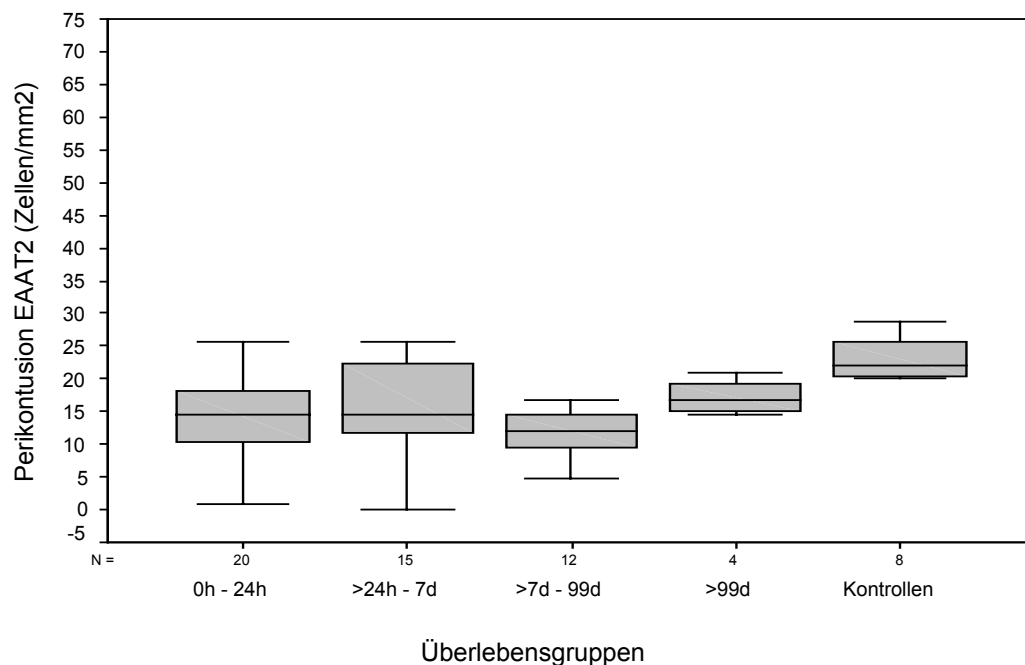


Abb. 3.4. Expressionsverhalten von EAAT2 im Perikontusionsgebiet

Auch bei EAAT2 findet sich ein Rückgang der Expression in den ersten drei Überlebenszeitgruppen ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,02$ ;  $p < 0,001$ ). Die vierte Gruppe ist nicht mehr

signifikant niedriger als die Kontrollen (p 0,214). In den Gruppen 1 und 2 ist ein Expressionrückgang von 35% im Vergleich zu den Kontrollen zu beobachten. Gruppe 3 weist eine Verminderung um 46% auf. Die vierte Gruppe entspricht mit 9% Expressionsminderung dem Kontrollniveau, unterscheidet sich jedoch deutlich von der dritten Gruppe (p 0,008).

Wie schon für EAAT1 gezeigt, tritt im perikontusionellen Gewebe ein geringerer Rückgang der Expression von EAAT2 als im Kontusionsgebiet auf (p<0,001).

### **3.2.3. Expressionsverlauf von PACAP38**

#### **3.2.3.1. Kontusion**

Der Median der Kontrollfälle beträgt 90,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=82,0; 75%=94,0). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 76,8 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=51,2; 75%=81,6) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 44,8 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=23,2; 75%=73,6). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 75,2 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=51,2; 75%=86,4). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 80,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=64,8; 75%=85,6). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.5.

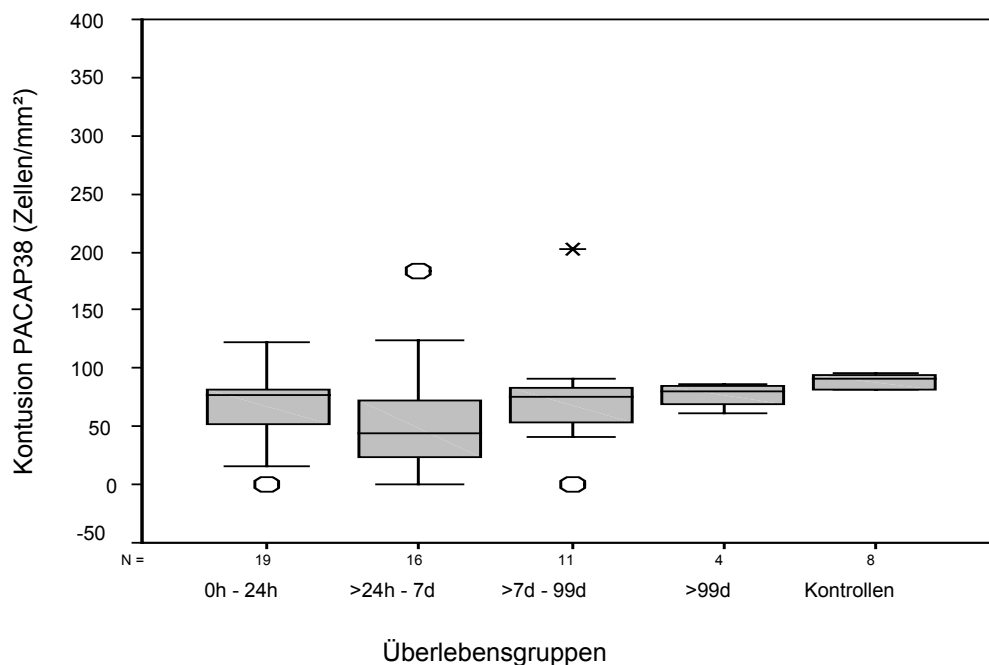


Abb. 3.5. Expressionsverlauf von PACAP38 im Kontusionsgebiet

Die ersten drei Überlebensgruppen weisen eine signifikant niedrigere Expression von PACAP38 auf als die Kontrollgruppe (p 0,009; p 0,002; p 0,016). Die letzte

Überlebensgruppe unterscheidet sich dagegen nicht mehr von den Kontrollen ( $p$  0,073). Die vier Fallgruppen unterscheiden sich nicht voneinander ( $p$  0,115). In der Gruppe eins fällt die PACAP-Expression um 15% im Vergleich zu der Kontrollgruppe. In der zweiten Gruppe ist die Expression um 50% vermindert. Ein Rückgang von 17% findet sich in der dritten Gruppe. In der vierten Gruppe sinkt die PACAP-Expression um 12%.

### 3.2.3.2. Perikontusion

Der Median der Kontrollfälle beträgt 90,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=82,0; 75%=94,0). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 178,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=154,0; 75%=204,0) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 197,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=184,0; 75%=220,0). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 190,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=179,2; 75%=196,4). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 120,8 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=110,0; 75%=129,2). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.6.

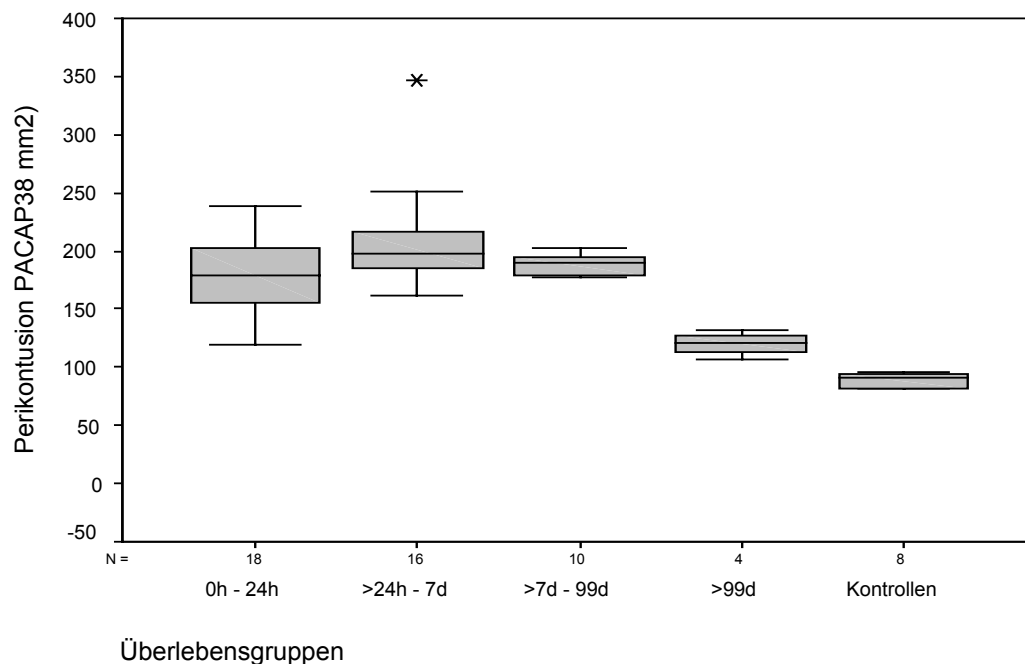


Abb. 3.6. Expressionsverlauf von PACAP38 im Perikontusionsgebiet

In der Perikontusion ist ein Anstieg der PACAP38-Expression in allen vier Überlebensgruppen im Vergleich zu den Kontrollfällen zu verzeichnen ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p$  0,004).

Ein Anstieg um 97% ist in der ersten Gruppe zu finden. Die Expression in der zweiten Gruppe steigt um 119%, während sie in der dritten Gruppe um 111% steigt. In der vierten Gruppe findet sich nur noch ein Anstieg um 33,6%. Der Anstieg in Gruppe zwei ist signifikant stärker als in Gruppe eins ( $p = 0,042$ ). Die rückläufige Expression in Gruppe vier ist signifikant gegenüber Gruppe eins, zwei und drei ( $p = 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p = 0,002$ ). PACAP38 weist im perikontusionellen Gebiet eine höhere Expression auf als im Kontusionsgebiet ( $p < 0,001$ ).

### **3.2.4. Expressionsverlauf von PACAP27**

#### **3.2.4.1. Kontusion**

Der Median der Kontrollfälle beträgt 86,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=79,2; 75%=94,8). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 55,2 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=45,2; 75%=63,6) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 59,2 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=47,6; 75%=68,0). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 62,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=60,0; 75%=71,2). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 79,2 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=74,0; 75%=92,8). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.7.

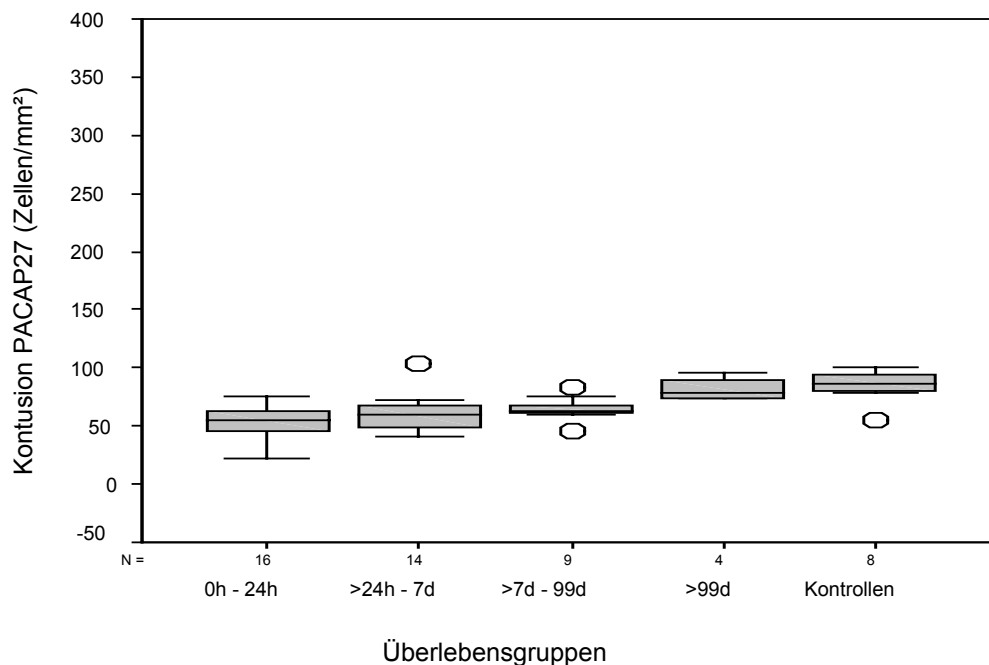


Abb. 3.7. Expressionsverlauf von PACAP27 im Kontusionsgebiet

Im kontusionellen Gebiet zeigt sich für den Expressionsverlauf von PACAP27 ein signifikanter Unterschied zwischen einzelnen Fallgruppen ( $p = 0,011$ ); im Vergleich mit

der Kontrollgruppe ist für die ersten drei Fallgruppen ein signifikanter Abfall der Expression nachweisbar ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,004$ ;  $p < 0,011$ ). Die letzte Gruppe unterscheidet sich nicht mehr von den Kontrollfällen ( $p < 0,57$ ). Die Expression von PACAP27 fällt in der ersten Gruppe um 36%, in der zweiten Gruppe um 32%. In der dritten Gruppe geht die Expression um 28% zurück. Die vierte Gruppe zeigt einen Abfall gegenüber der Kontrollgruppe um 8%. Die vierte Überlebensgruppe unterscheidet sich deutlich von den Gruppen eins bis drei ( $p < 0,002$ ;  $p < 0,008$ ;  $p < 0,034$ ).

### 3.2.4.2. Perikontusion

Der Median der Kontrollfälle beträgt 86,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=79,2; 75%=94,8). Die erste Überlebensgruppe weist einen Median von 169,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=152,8; 75%=191,2) auf. Bei der zweiten Überlebensgruppe liegt der Median bei 190,4 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=176,0; 75%=209,6). Der Median der dritten Überlebensgruppe ist 192,0 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=187,2; 75%=196,0). In der vierten Überlebensgruppe beträgt der Median 125,6 Zellen/mm<sup>2</sup> (25%=113,6; 75%=136,4). Zur grafischen Darstellung dient Abb. 3.8.

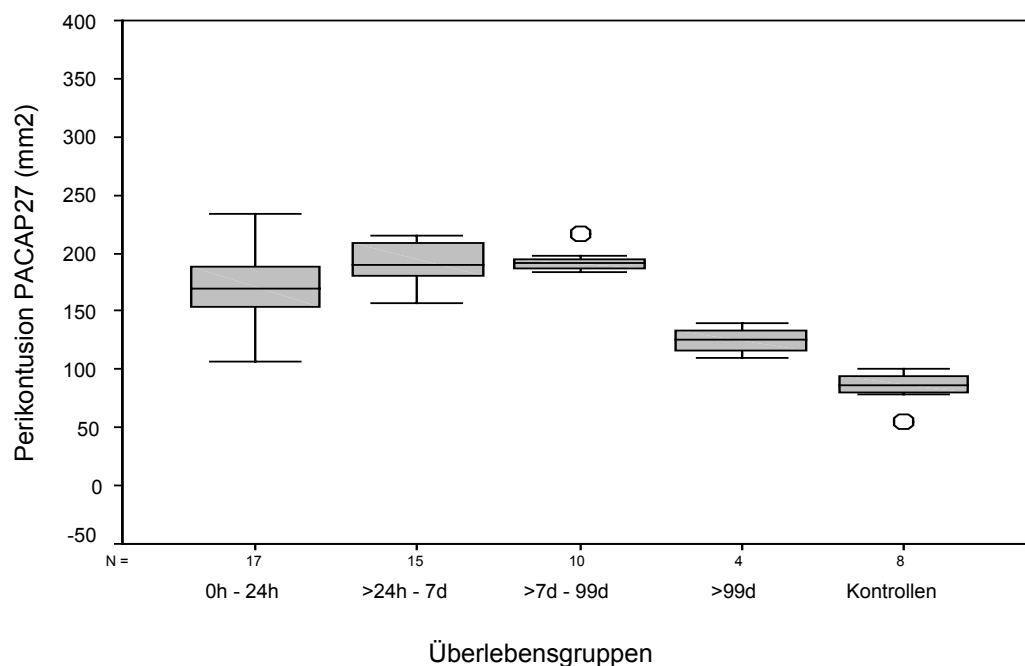


Abb. 3.8. Expressionsverlauf von PACAP27 im Perikontusionsgebiet

Es finden sich signifikante Unterschiede sowohl im direkten Vergleich der Fallgruppen als auch im Vergleich mit der Kontrollgruppe. In allen Überlebensgruppen ist eine Expressionssteigerung zu finden ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,004$ ). Die Expression



nimmt in der ersten Gruppe um 96% gegenüber der Kontrollgruppe zu. In der zweiten Gruppe beträgt die Expressionszunahme 120%. Um 122% steigt die Expression von PACAP27 im Vergleich mit der Kontrollgruppe in der dritten Überlebenszeitgruppe. Die Expressionszunahme in der letzten Gruppe beträgt 45%. Die Gruppen zwei und drei zeigen eine signifikant stärkere Zunahme der Expression von PACAP27 als die erste Gruppe ( $p$  0,04;  $p$  0,018). Die letzte Gruppe zeigt gegenüber den Gruppen eins, zwei und drei einen signifikanten Rückgang der Expressionszunahme ( $p$  0,009;  $p$  0,001;  $p$  0,002). PACAP27 weist im perikontusionellen Gebiet eine höhere Expression auf als im Kontusionsgebiet ( $p < 0,001$ ).

### **3.3. Auswertung der fluoreszenzmikroskopischen Ergebnisse**

Aufgrund des begrenzten Materials konnten wir pro Überlebenszeit nur zwei Fälle färben und auswerten. Die Überlebenszeitgruppen mussten aufgrund der vorliegenden Fälle abweichend von der Lichtmikroskopie gebildet werden: 0h-24h, >24h-7d und >7d. Wir beschränken uns statistisch auf eine rein deskriptive Darstellung. Die Berechnung von Signifikanzen ist bei zwei Fällen nicht sinnvoll. Die nachfolgenden Säulendiagramme beziehen sich auf den arithmetischen Mittelwert. Nachfolgende Ergebnisse sollten als Trend interpretiert werden.

Um die doppelmarkierten Zellen als eindeutig zweifach positiv zu werten, forderten wir, dass neben einer reinen Rot- und Grünmarkierung auch eine Orange fluoreszenz vorliegt.

#### **3.3.1. Verhalten von Satellitenzellen nach Hirntrauma**

Der Begriff Satellitenzelle subsumiert CNP-positive ( $\text{CNP}^+$ ), und CNP-negative ( $\text{CNP}^-$ ) Zellen in perineuronaler Lage, welche beide morphometrisch ausgewertet wurden. Es findet sich im Kontusionsgebiet ein deutlicher Abfall der Zellzahlen, der in der Gruppe von >24h-7d am ausgeprägtesten erscheint. Der Abfall tritt sowohl bei  $\text{CNP}^+$  (Oligodendrozyten)- als auch bei  $\text{CNP}^-$  Zellen auf. Der Rückgang der Zellzahlen persistiert auch in der letzten Überlebensgruppe. Im Perikontusionsgebiet hingegen tritt initial ein Zellzahlrückgang ein, die Zellzahlen nehmen jedoch in der zweiten und dritten Überlebensgruppe wieder zu und nähern sich den Kontrollen an (Abb. 3.9. und 3.10.).

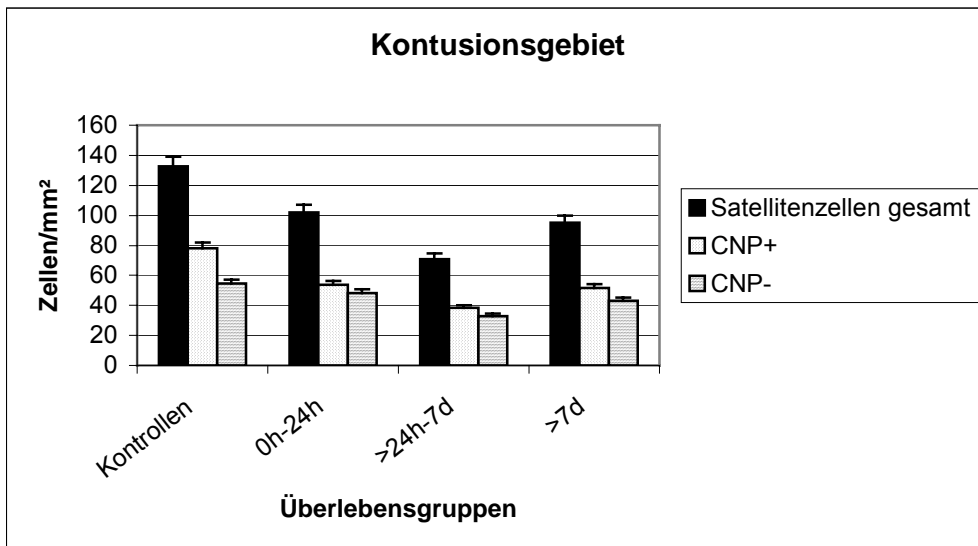


Abb. 3.9. Verhalten von Satellitenzellen, CNP<sup>+</sup>- und CNP<sup>-</sup>-Zellen nach SHT im Kontusionsgebiet

Das Verhältnis von CNP<sup>+</sup>-Zellen an allen Satellitenzellen beträgt bei den Kontrollfällen rund 59%. Dieses Verhältnis ändert sich in den einzelnen Fallgruppen des Kontusionsgebietes nicht wesentlich: 53% in der ersten Gruppe, 54% in der zweiten und 55% in der letzten Gruppe der Satellitenzellen sind CNP<sup>+</sup>.

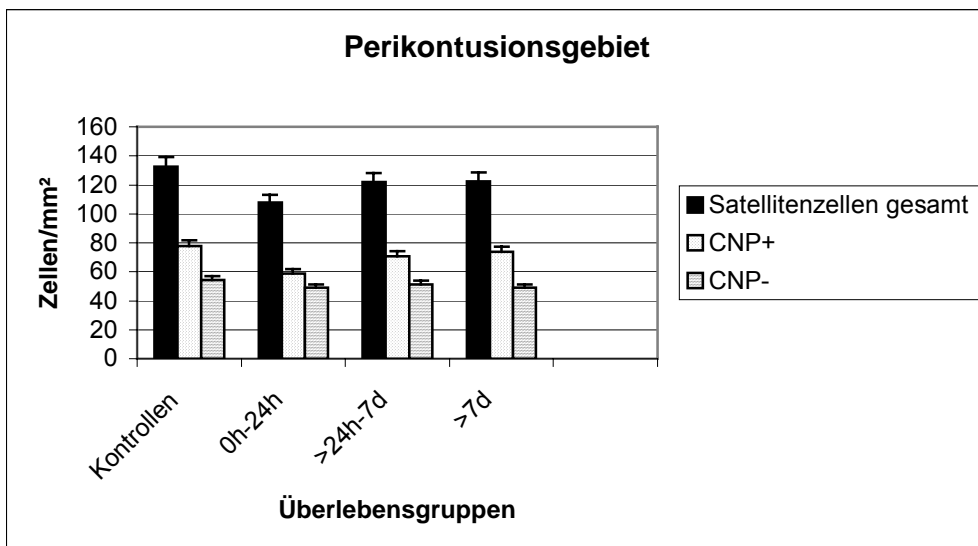


Abb. 3.10. Verhalten von Satellitenzellen, CNP<sup>+</sup>- und CNP<sup>-</sup>-Zellen nach SHT im Perikontusionsgebiet

Auch im Perikontusionsgebiet kommt es zu keiner wesentlichen Änderung des Verhältnisses: In der ersten Gruppe sind 55% der Satellitenzellen CNP<sup>+</sup>, in der zweiten 58%. In der dritten Gruppe sind 60% aller Satellitenzellen CNP<sup>+</sup>.

### 3.3.1.1. Verhalten der doppelmarkierten Zellen (CNP/EAAT)

Auch bei den CNP<sup>+</sup>-Zellen, die eine Doppelmarkierung mit EAAT1 (CNP<sup>+</sup>EAAT1<sup>+</sup>) oder EAAT2 (CNP<sup>+</sup>EAAT2<sup>+</sup>) aufweisen, finden sich im Kontusionsgebiet rückläufige Zellzahlen. Dieser Rückgang ist am stärksten in der Gruppe von >24h-7d ausgeprägt. In der Perikontusion kommt es initial zum Abfall der Zellzahlen, danach steigen diese aber wieder an und liegen deutlich höher als in der Kontusion (Abb. 3.11. und 3.12.).

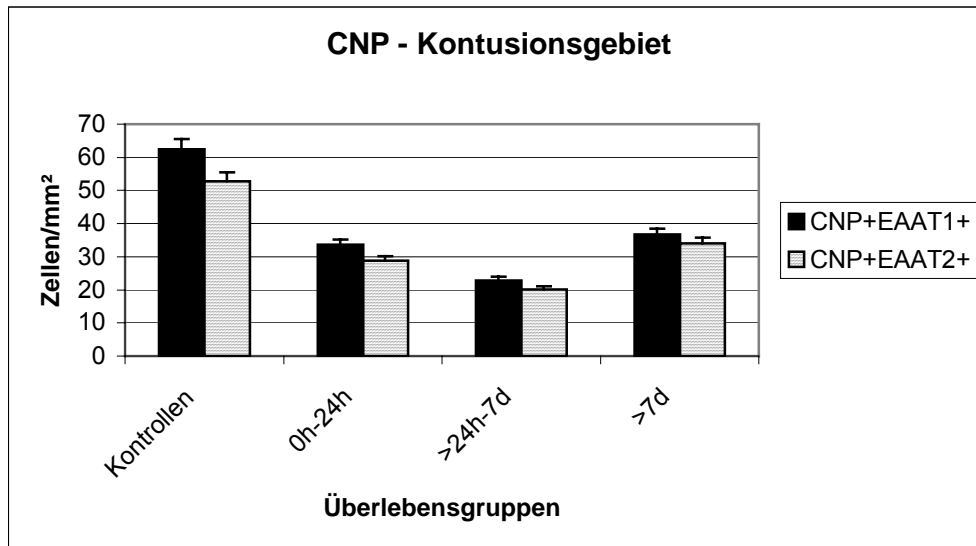


Abb. 3.11. Verhalten von doppelmarkierten Oligodendrozyten nach SHT im Kontusionsgebiet

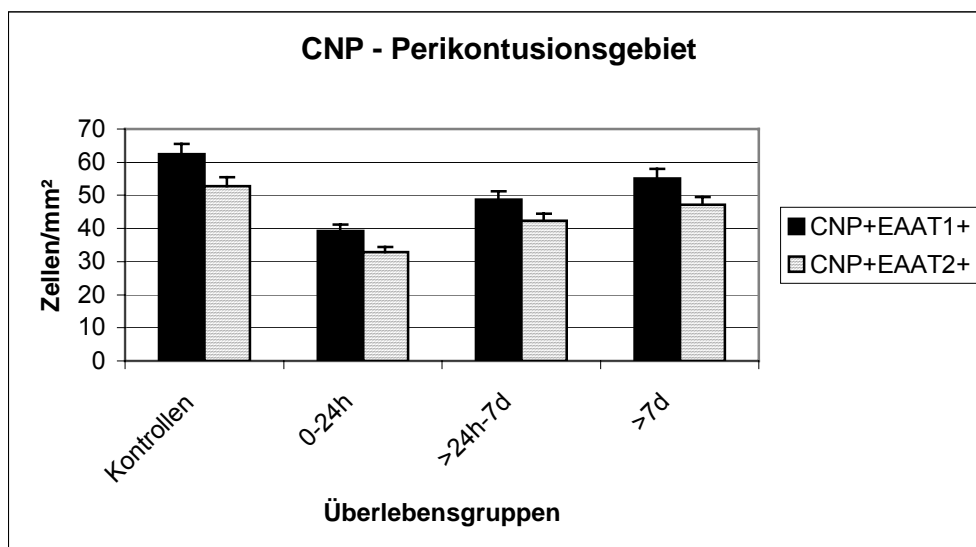


Abb. 3.12. Verhalten von doppelmarkierten Oligodendrozyten nach SHT im Perikontusionsgebiet

### 3.3.1.2. Verhalten der doppelmarkierten Zellen (CNP/PACAP)

Im Kontusionsgebiet kommt es auch bei CNP<sup>+</sup>-Zellen, die eine Doppelmarkierung mit PACAP38 (CNP<sup>+</sup>PACAP38<sup>+</sup>) oder PACAP27 (CNP<sup>+</sup>PACAP27<sup>+</sup>) aufweisen, zu einem

Zellzahlrückgang, am ausgeprägtesten in Überlebensgruppe zwei. In Gruppe drei lässt sich ein leichter Wiederanstieg beobachten. In der Perikontusion findet sich hingegen nach einem minimalen Rückgang in Gruppe eins ein Anstieg der Zellzahlen in der Gruppe zwei über das Kontrollniveau und einem anschließenden Rückgang etwa auf die Zellzahlen der Kontrollgruppe in der Überlebensgruppe drei (Abb. 3.13. und 3.14.).

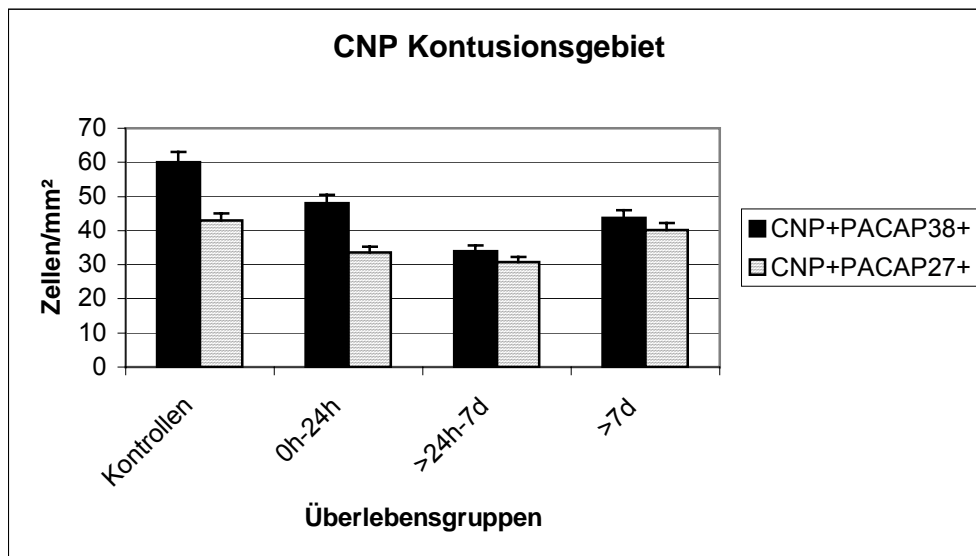


Abb. 3.13. Verhalten von doppelmarkierten Oligodendrozyten nach SHT im Kontusionsgebiet

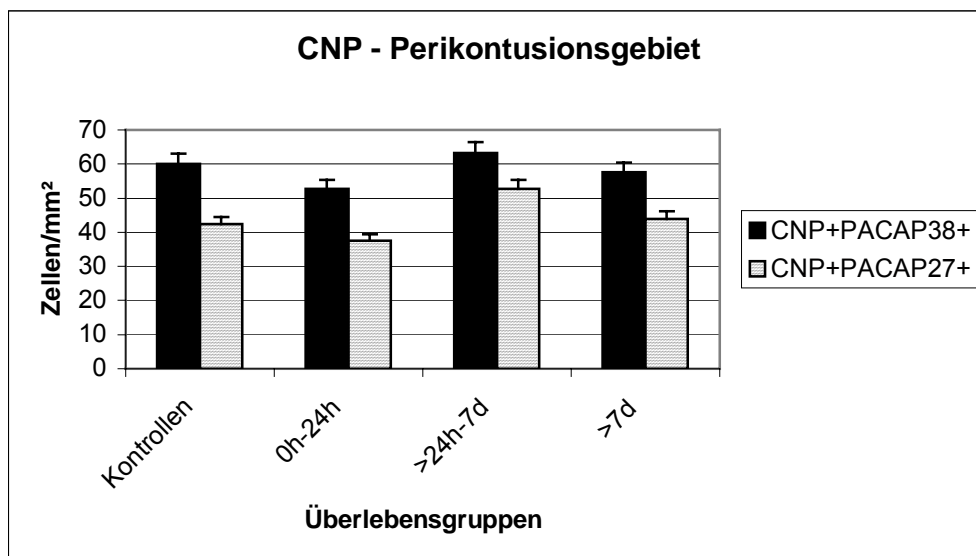


Abb. 3.14. Verhalten von doppelmarkierten Oligodendrozyten nach SHT im Perikontusionsgebiet

### 3.3.2. Verhalten von GFAP-positiven Astrozyten nach Hirntrauma

Bei den GFAP-positiven (GFAP<sup>+</sup>) Astrozyten kommt es im Kontusionsgebiet zu einem Abfallen der Zellzahlen, am ausgeprägtesten in der Gruppe >24h-7d. Im Perikontusionsgebiet kommt es nach einem minimalen Rückgang der Zellzahlen zu einem Anstieg über das Niveau der Kontrollgruppe, dieser Anstieg ist ebenfalls in der Gruppe >24h-7d am deutlichsten (Abb. 3.15.).

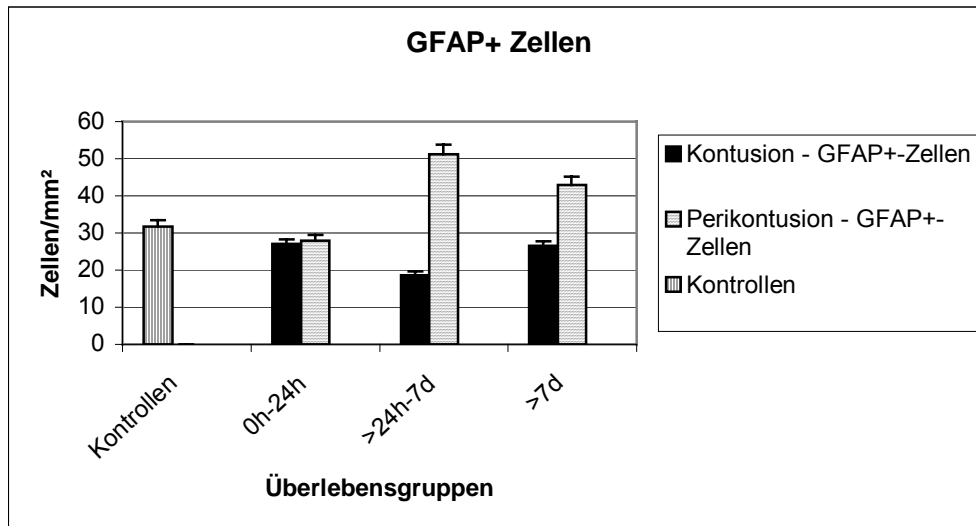


Abb. 3.15. Verhalten von GFAP<sup>+</sup>-Zellen nach SHT im Kontusions- und Perikontusionsgebiet

#### 3.3.2.1. Verhalten der doppelmarkierten Zellen (GFAP/EAAT)

Bei den GFAP<sup>+</sup>-Astrozyten, die eine Doppelmarkierung mit EAAT1 (GFAP<sup>+</sup>EAAT1<sup>+</sup>) oder EAAT2 (GFAP<sup>+</sup>EAAT2<sup>+</sup>) aufweisen, kommt es zu einem starken Rückgang der Zellzahlen, welcher am deutlichsten in der Gruppe >24h-7d ausgeprägt ist. Danach kommt es wieder zu einem leichten Ansteigen der Zellzahlen. Im perikontusionellen Gebiet sind rückläufige Zellzahlen in Gruppe eins und zwei zu beobachten, die jedoch viel weniger stark als im Kontusionsgebiet sind. In Gruppe drei sind die Zellzahlen wieder dem Kontrollniveau entsprechend (Abb. 3.16. und 3.17.).

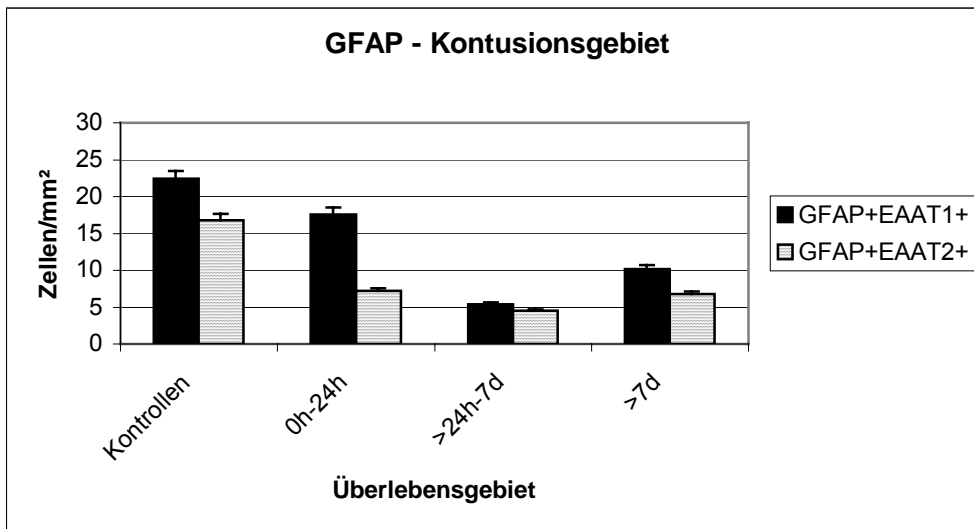


Abb. 3.16. Verhalten von doppelmarkierten Astrozyten nach SHT im Kontusionsgebiet

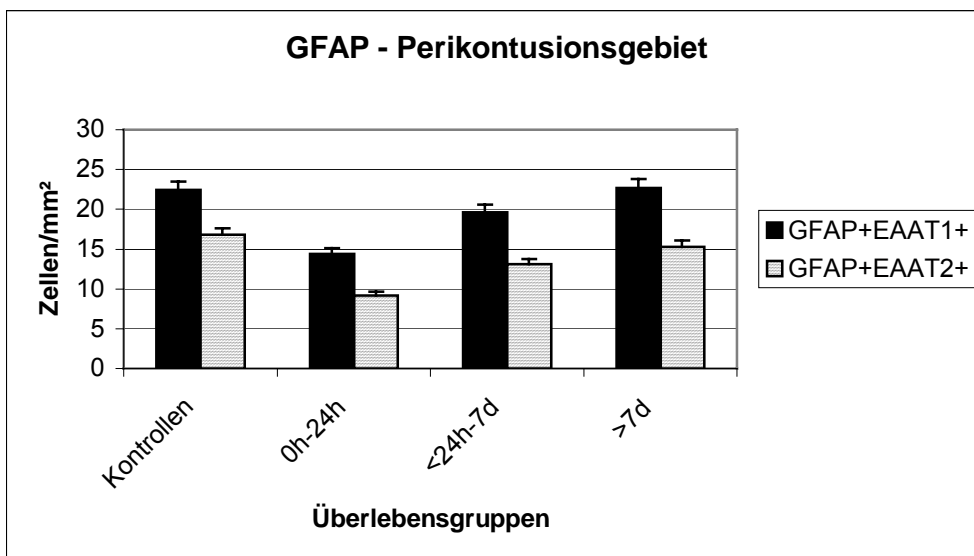


Abb. 3.17. Verhalten von doppelmarkierten Astrozyten nach SHT im Perikontusionsgebiet

### 3.3.2.2. Verhalten der doppelmarkierten Zellen (GFAP/PACAP)

Im Kontusionsgebiet kommt es bei den GFAP<sup>+</sup>-Astrozyten, die eine Doppelmarkierung mit PACAP38 (GFAP<sup>+</sup>PACAP38<sup>+</sup>) oder PACAP27 (GFAP<sup>+</sup>PACAP27<sup>+</sup>) aufweisen, zu einem Zellzahlrückgang, am ausgeprägtesten in Überlebensgruppe zwei und leichtem Wiederansteigen in Gruppe drei. Dagegen kommt es in der Perikontusion in allen drei Überlebensgruppen zu einem Anstieg der doppelmarkierten Zellen. Der Gipfel dieses Anstieges liegt in Gruppe zwei (Abb. 3.18. und 3.19.).

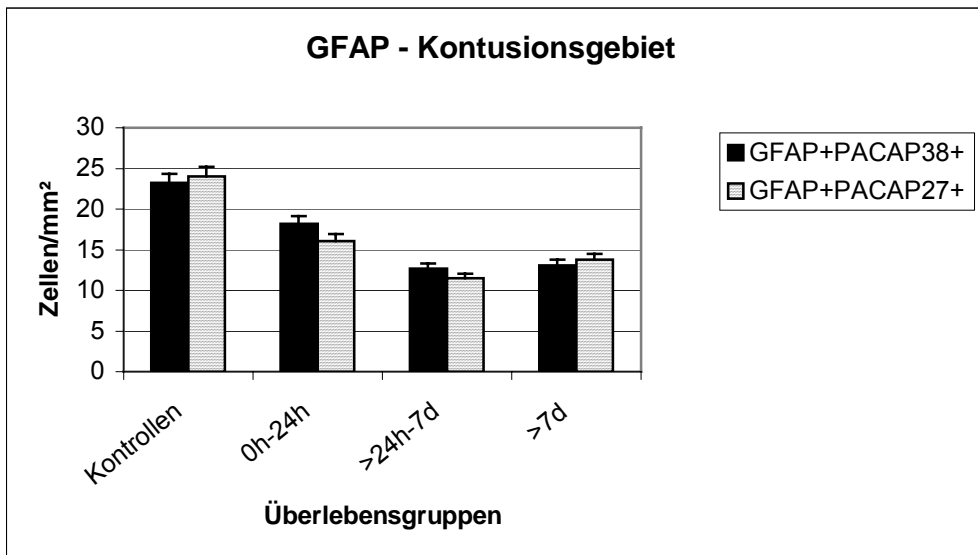


Abb. 3.18. Verhalten von doppelmarkierten Astrozyten nach SHT im Kontusionsgebiet

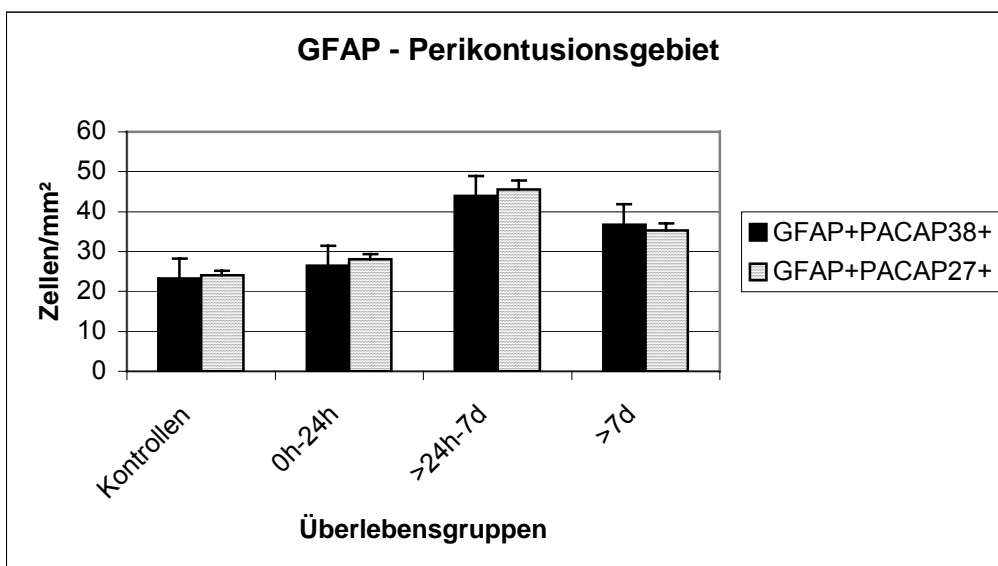


Abb. 3.19. Verhalten von doppelmarkierten Astrozyten nach SHT im Perikontusionsgebiet

### 3.3.3. Zusammenfassung der fluoreszenzmikroskopischen Ergebnisse

Die Tabellen 3.1. und 3.3. dienen der Darstellung und Zusammenfassung der Reaktion der verschiedenen Zellpopulationen auf ein Schädel-Hirntrauma im zeitlichen Verlauf und dem Vergleich von Kontusions- und Perikontusionsgebiet. Die Tabellen 3.2. und 3.4. zeigen die prozentualen Anteile der doppelmarkierten Zellpopulationen an der jeweiligen Gesamtpopulation.

	<b>Kontusion</b>				<b>Perikontusion</b>			
	Kontrollen	0h-24h	>24h-7d	>7d	Kontrollen	0h-24h	>24h-7d	>7d
Satellitenzellen	100%	76,8%	53,6%	71,7%	100%	81,4%	92,2%	92,5%
CNP <sup>+</sup>	100%	68,7%	49,0%	66,4%	100%	75,4%	90,8%	94,4%
CNP <sup>-</sup>	100%	88,4%	60,2%	79,3%	100%	89,9%	94,1%	89,9%
CNP <sup>+</sup> EAAT1 <sup>+</sup>	100%	53,9%	36,5%	58,8%	100%	62,8%	78,2%	88,5%
CNP <sup>+</sup> EAAT2 <sup>+</sup>	100%	54,6%	38,1%	64,6%	100%	62,1%	80,3%	89,4%
CNP <sup>+</sup> PACAP38 <sup>+</sup>	100%	80,0%	56,7%	73,0%	100%	88,0%	105,3%	96,0%
CNP <sup>+</sup> PACAP27 <sup>+</sup>	100%	78,3%	71,8%	93,7%	100%	88,7%	124,5%	103,8%

Tab. 3.1. Prozentualer Verlauf der einzelnen Zellpopulationen (Oligodendrozyten)

	<b>Kontrollen</b>	<b>Kontusion</b>			<b>Perikontusion</b>		
		0h-24h	>24h-7d	>7d	0h-24h	>24h-7d	>7d
CNP <sup>+</sup>	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
CNP <sup>+</sup> EAAT1 <sup>+</sup>	80,0%	62,7%	72,7%	70,9%	66,7%	68,9%	75,0%
CNP <sup>+</sup> EAAT2 <sup>+</sup>	67,7%	53,7%	52,6%	65,8%	55,8%	59,9%	64,1%
CNP <sup>+</sup> PACAP38 <sup>+</sup>	76,9%	89,6%	89,0%	84,6%	89,8%	89,3%	78,3%
CNP <sup>+</sup> PACAP27 <sup>+</sup>	55,0%	62,7%	80,6%	77,6%	64,0%	74,6%	59,8%

Tab. 3.2. Prozentualer Anteil der doppelmarkierten CNP<sup>+</sup>-Zellen an allen CNP<sup>+</sup>-Zellen

	<b>Kontusion</b>				<b>Perikontusion</b>			
	Kontrollen	0h-24h	>24h-7d	>7d	Kontrollen	0h-24h	>24h-7d	>7d
GFAP <sup>+</sup>	100%	84,9%	58,8%	83,3%	100%	88,1%	161,0%	135,2%
GFAP <sup>+</sup> EAAT1 <sup>+</sup>	100%	78,6%	24,1%	45,5%	100%	64,3%	87,5%	101,4%
GFAP <sup>+</sup> EAAT2 <sup>+</sup>	100%	42,9%	26,8%	40,5%	100%	54,8%	78,0%	91,1%
GFAP <sup>+</sup> PACAP38 <sup>+</sup>	100%	78,5%	54,7%	56,5%	100%	113,8%	189,7%	158,6%
GFAP <sup>+</sup> PACAP27 <sup>+</sup>	100%	67,1%	47,9%	57,5%	100%	116,7%	190,0%	146,7%

Tab. 3.3. Prozentualer Verlauf der einzelnen Zellpopulationen (Astrozyten)

	<b>Kontrollen</b>	<b>Kontusion</b>			<b>Perikontusion</b>		
		0h-24h	>24h-7d	>7d	0h-24h	>24h-7d	>7d
GFAP <sup>+</sup>	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
GFAP <sup>+</sup> EAAT1 <sup>+</sup>	70,4%	65,2%	28,6%	38,5%	51,4%	38,3%	52,8%
GFAP <sup>+</sup> EAAT2 <sup>+</sup>	52,8%	26,7%	24,1%	25,7%	32,9%	25,6%	35,6%
GFAP <sup>+</sup> PACAP38 <sup>+</sup>	73,0%	67,4%	67,9%	49,4%	94,3%	85,9%	85,6%
GFAP <sup>+</sup> PACAP27 <sup>+</sup>	75,5%	59,6%	61,5%	52,1%	100,0%	89,1%	81,9%

Tab. 3.4. Prozentualer Anteil der doppelmarkierten GFAP<sup>+</sup>-Zellen an allen GFAP<sup>+</sup>-Zellen



### **3.4. Bildmaterial**

Wie in Kapitel 2.5.3. und 2.5.4. beschrieben, fotografierten wir sowohl lichtmikroskopische als auch fluoreszenzmikroskopische Präparate.

#### **3.4.1. Lichtmikroskopische Aufnahmen**

Nachfolgend sind exemplarisch für die lichtmikroskopischen Präparate pro durchgeführter Färbung eine Aufnahme eines Kontrollfalles und je eine Aufnahme aus dem Kontusions- und Perikontusionsgebiet der Überlebenszeit >24h bis 7d abgebildet. Die fotografische Darstellung aller Überlebenszeiten würde den Rahmen der Arbeit sprengen.

In den EAAT-Färbungen kommt es zu einer regelmäßigen Anfärbung von glialen Fortsätzen. In den Kontusionsgebieten und teilweise auch in den Perikontusionsgebieten scheint es zu einer traumatischen Schwellung dieser glialen Fortsätze zu kommen (s. a. Abb. 3.20. b), die sich auch in der Immunfluoreszenz wiederfindet (Abb. 3.24 und 3.25.). Erythrozyten können aufgrund der endogenen Peroxidaseaktivität ebenfalls eine Anfärbung aufweisen.

In den PACAP-Färbungen lassen sich hypoxisch geschädigten Neurone darstellen (Abb. 3.22. und 3.23).

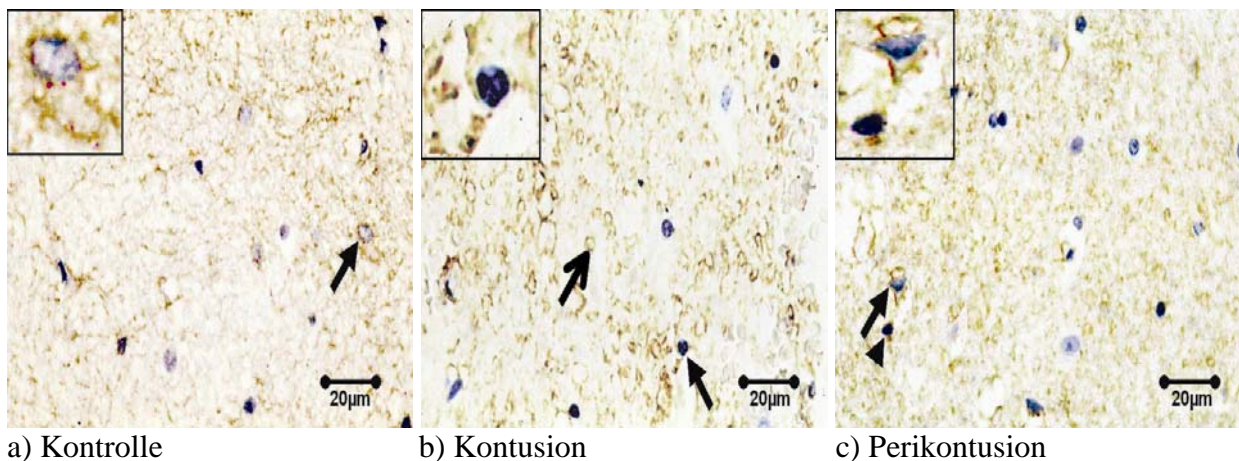
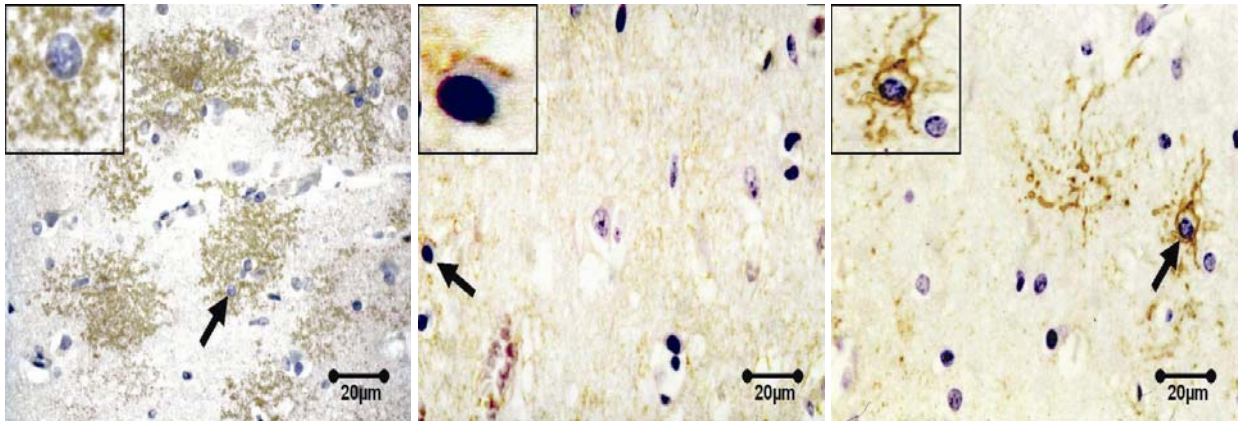


Abb. 3.20. EAAT1 (Pfeile: positive Gliazellen, morphologisch am ehesten Astrozyten  
Offener Pfeil: geschwollener glialer Fortsatz  
Pfeilspitzen: positive Gliazelle, morphologisch am ehesten Oligodendrozyt)

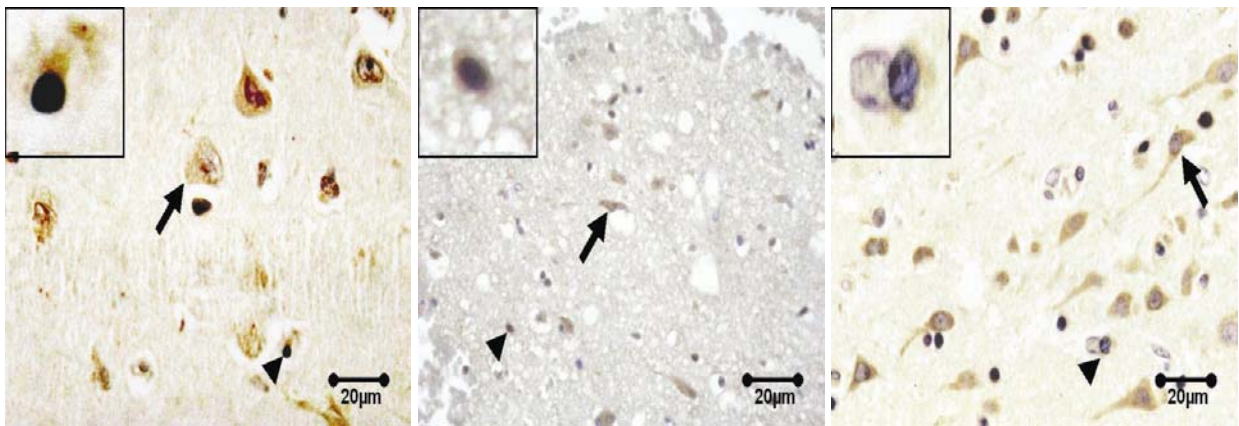


a) Kontrolle

b) Kontusion

c) Perikontusion

Abb. 3.21. EAAT2 (Pfeile: positive Gliazellen, morphologisch am ehesten Astrozyten)

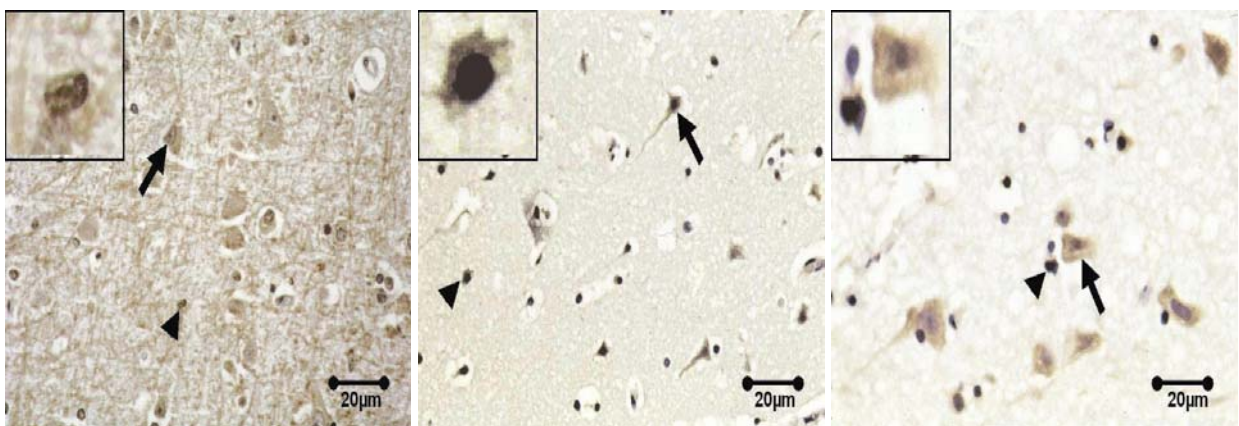


a) Kontrolle

b) Kontusion

c) Perikontusion

Abb. 3.22. PACAP38 (Pfeile: positive Neuronen. In b) und c) hypoxisch geschädigt.  
Pfeilspitzen: positive Gliazellen, s. a. Vergrößerung links oben)



a) Kontrolle

b) Kontusion

c) Perikontusion

Abb. 3.23. PACAP27 (Pfeile: positive Neuronen. Vor allem in b) hypoxisch geschädigt.  
Pfeilspitzen: positive Gliazellen, s. a. Vergrößerung links oben)

### 3.4.2. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen

Auf die bildliche Darstellung der unterschiedlichen Areale verzichteten wir bei den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen, da sich Unterschiede zwischen den Gebieten in entsprechenden Vergrößerungen nicht darstellen lassen und nur morphometrisch ermittelt werden können.

Unter „overlay“ versteht man das Übereinanderlegen beider Einzelsignale, um damit die eindeutige Identifizierung und Beurteilung der Doppelexpression möglich zu machen.

Bei der Auswertung der durchgeführten fluoreszenzhistochemischen Färbungen fand sich für GFAP-positive Zellen ein fibrilläres, engmaschiges Verteilungsmuster in der grauen Substanz, wohingegen nur solitäre verzweigte Zellen in der weißen Substanz zu finden waren. CNP-positive Oligodendrozyten der grauen Substanz wiesen ein anderes Farbe- und Verteilungsmuster auf: Nur ein schmaler zytoplasmatischer Ring war angefärbt und die Zellfortsätze standen mit Neuronen in Kontakt. Typisch war die Anordnung der CNP-positiven Oligodendrozyten in kleinen Gruppen, bevorzugt perivaskulär oder perineuronal. In der weißen Substanz lagen sie häufig in Strängen angeordnet oder perivaskulär.

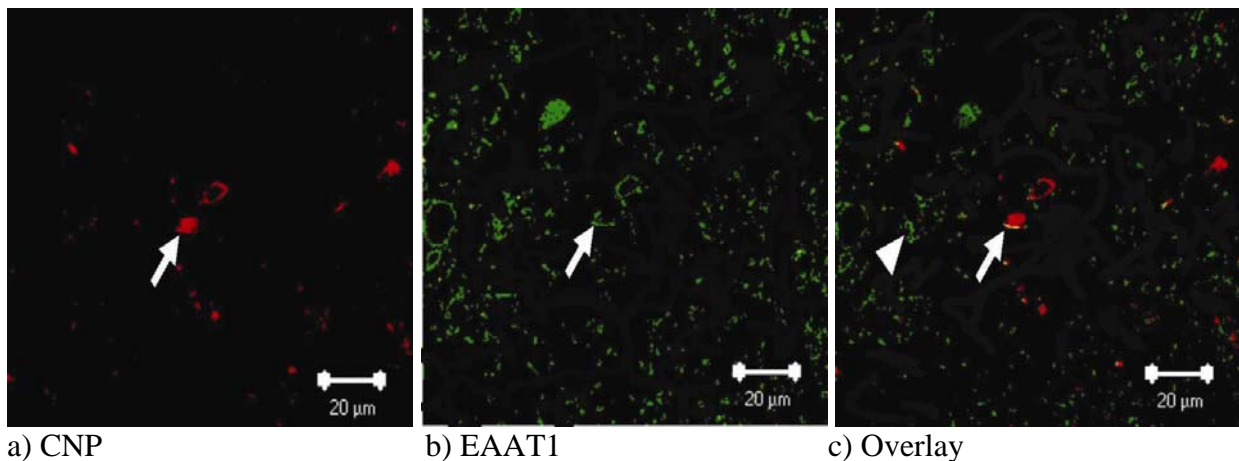
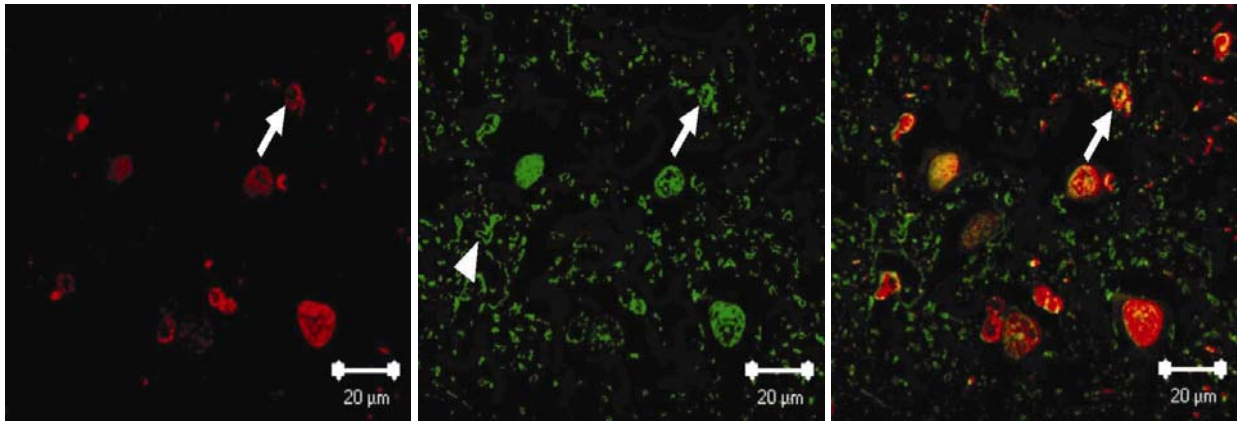


Abb. 3.24. Doppelmarkierung CNP/EAAT1 (Pfeile: positiver Oligodendrozyt; Pfeilspitze: geschwollener glialer Fortsatz)

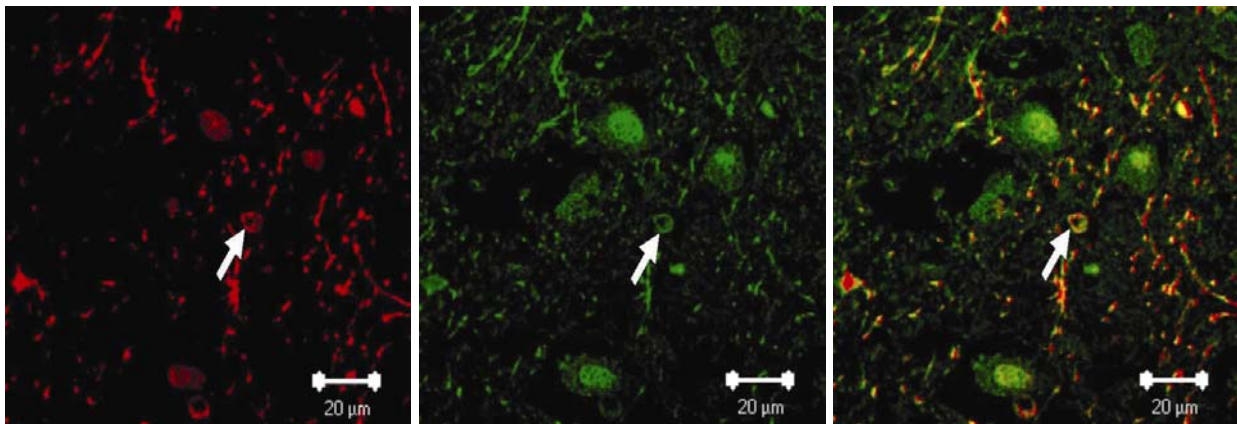


a) CNP

b) EAAT2

c) Overlay

Abb. 3.25. Doppelmarkierung CNP/EAAT2 (Pfeile: positiver Oligodendrozyt; Pfeilspitze: glialer Fortsatz)

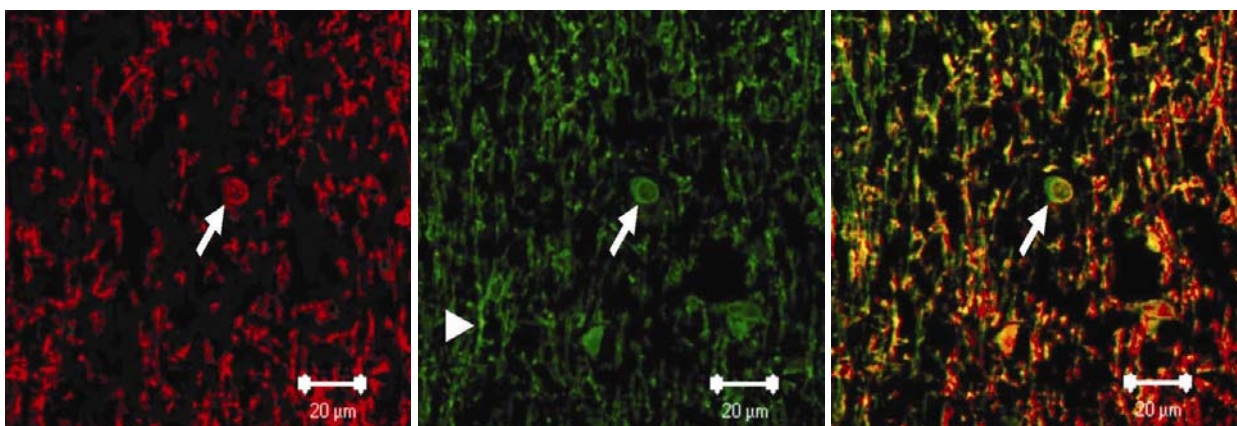


a) CNP

b) PACAP38

c) Overlay

Abb. 3.26. Doppelmarkierung CNP/PACAP38 (Pfeile: positiver Oligodendrozyt)

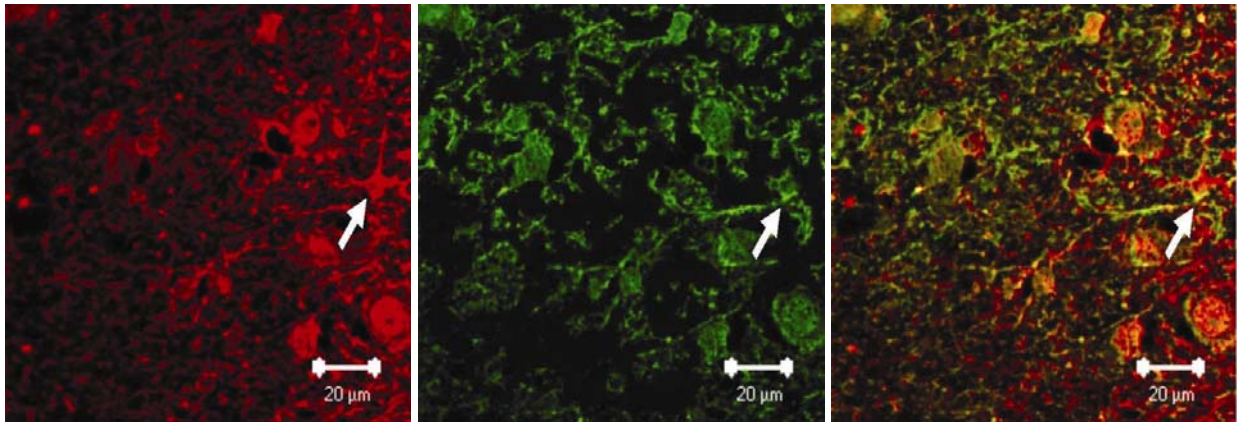


a) CNP

b) PACAP 27

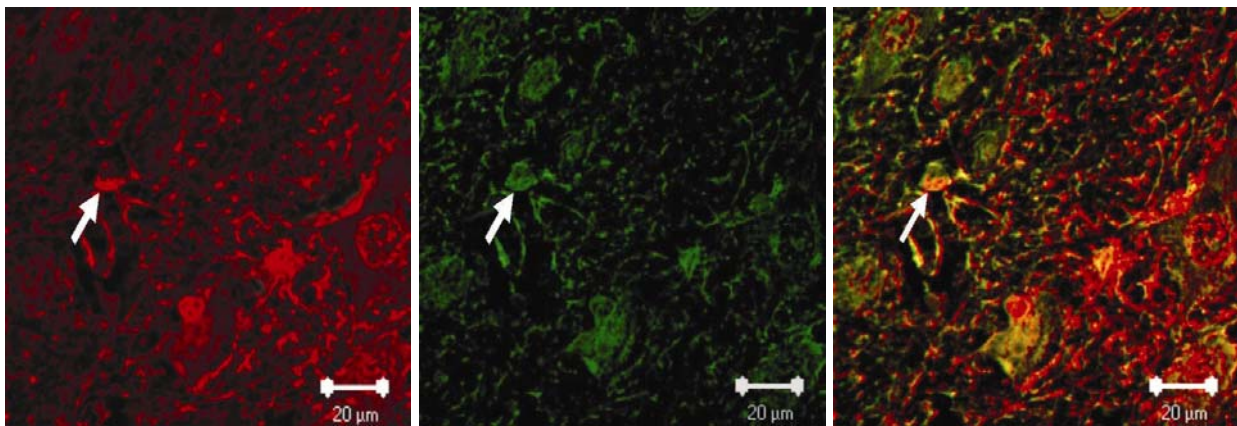
c) Overlay

Abb. 3.27. Doppelmarkierung CNP/PACAP27 (Pfeile: positiver Oligodendrozyt; Pfeilspitze: Axon)



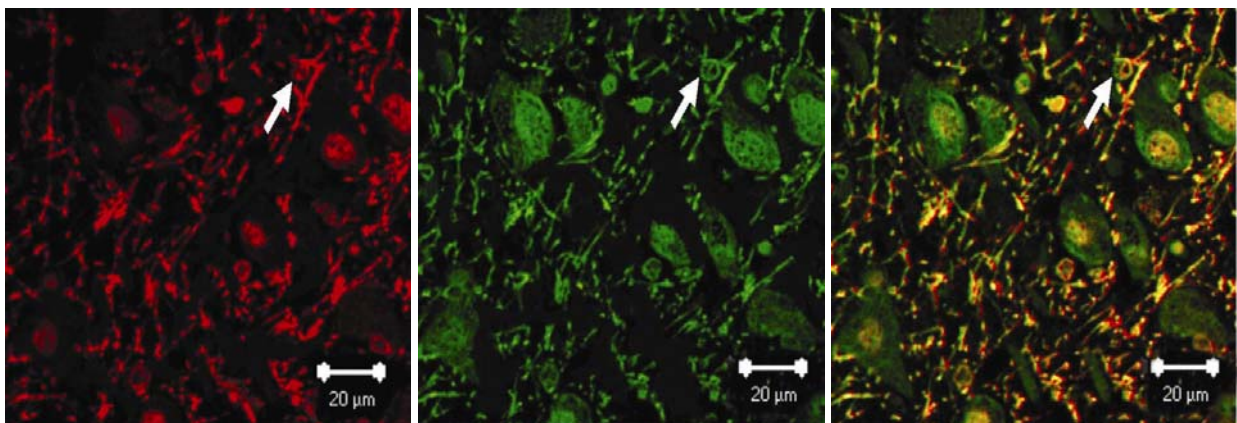
a) GFAP                      b) EAAT1                      c) Overlay

Abb. 3.28. Doppelmarkierung GFAP/EAAT1 (Pfeile: positiver Astrozyt)



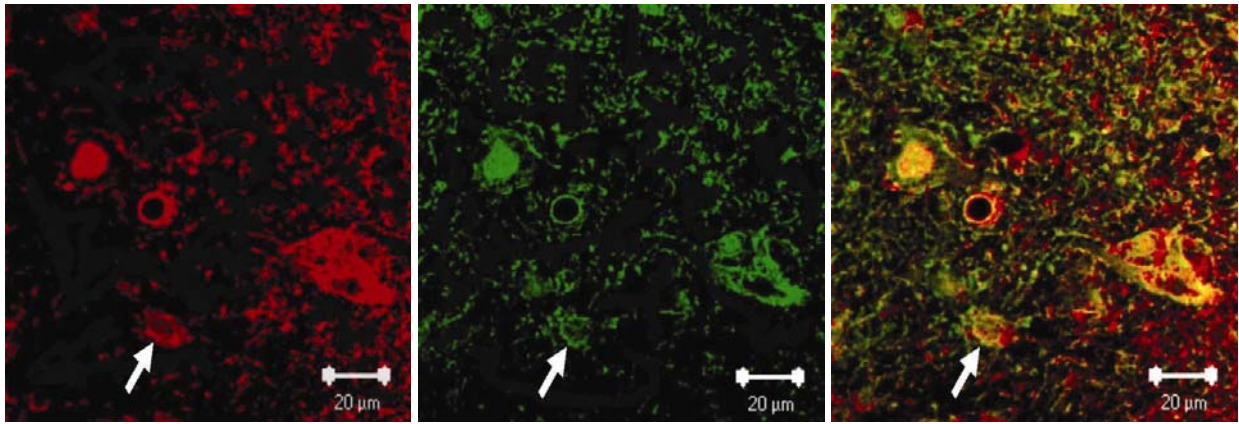
a) GFAP                      b) EAAT2                      c) Overlay

Abb. 3.29. Doppelmarkierung GFAP/EAAT2 (Pfeile: positiver Astrozyt)



a) GFAP                      b) PACAP38                      c) Overlay

Abb. 3.30. Doppelmarkierung GFAP/PACAP38 (Pfeile: positiver Astrozyt)



a) GFAP

b) PACAP27

c) Overlay

Abb. 3.31. Doppelmarkierung GFAP/PACAP27 (Pfeile: positiver Astrozyt)