

Aus der Klinik und Poliklinik für Kleine Haustiere
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

In vitro Kultivierung und Expansion caniner Schwanzzellen

INAUGURAL - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Johanna Pauls
Tierärztin aus Hamburg

Berlin 2003

Journal – Nr.: 2719

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. L. Brunberg
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. L. Brunberg
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. J. Plendl
Dritter Prüfer:	Univ.-Prof. Dr. V. Bergmann

Tag der Promotion: 23.05.2003

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	1
II.	Literaturübersicht	1
1.	Übersicht über das Nervensystem der Säuger	1
2.	Neuron und Nerv	3
3.	Neuroglia	4
a.	Definition	4
b.	Die Schwannzelle und die Myelinogenese im Peripheren Nervensystem	4
4.	Die Regeneration peripherer Nerven	8
a.	Prinzip des axonalen Auswachsens	8
b.	Hintergründe des axonalen Auswachsens	9
c.	Die retrograde Antwort des Zellkörpers	14
d.	Die Wallersche Degeneration	16
e.	Der Stofftransport in Nervenzellen	19
f.	Das neuronale Zytoskelett	21
5.	Periphere Nervenverletzungen	23
a.	Definitionen	23
b.	Traumatische Nervenverletzungen	24
c.	Iatrogene Nervenverletzungen	27
6.	Konventionelle Methoden zur chirurgischen Behandlung peripherer Nervenläsionen	28
a.	Nervennaht	28
b.	Muskeltranspositionen	28
c.	Neurotisation	29
d.	Nerventransplantate	30
e.	Die nichtnervale Defektüberbrückung	32
7.	Problematik der Nervenheilung	33
8.	Neuere Methoden zur Behandlung peripherer Nervenläsionen	36
a.	Tubulisation	36
b.	Die Kultivierung Schwannscher Zellen	42
c.	Schwannzellen-Marker	48
III.	Material und Methode	49
1.	Gewinnung von Nervengewebe	49
2.	Präparation des Nervengewebes	51
3.	Explantieren	51
4.	Inkubation	52

5. Passagieren	52
6. Verdauung	53
7. Mediumwechsel	54
8. Abtrypsinieren	54
9. Färbung per indirekter Immunfluoreszenz	55
10. Auswertung der Färbung	57
11. Statistik	59
IV. Ergebnisse	60
1. Qualitative Ergebnisse	60
2. Quantitative Ergebnisse	66
V. Diskussion	82
A. Methodik	82
I. Wahl der Methode	82
II. Grundproblematik der Methode	83
III. Spezifische methodische Aspekte	84
B. Ergebnisse	88
I. Qualitative Ergebnisse	88
II. Quantitative Ergebnisse	89
C. Spezies-Differenzen	92
D. Funktionalität und Transformationspotential von mit Hilfe von Mitogenen kultivierten Schwanzzellen	93
E. Ausblick: Zur Unterstützung der neuralen Regeneration im Zentralen Nervensystem	95
F. Schlussfolgerungen	96
VI. Zusammenfassung	97
VII. Summary	99

VIII.	Literaturverzeichnis	101
IX.	Verzeichnis Abbildungen, Tabellen und Graphiken	117
X.	Danksagung	119
XI.	Lebenslauf	120

X. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. L. Brunnberg für die freundliche Überlassung des Themas.

Bei Herrn Dr. F. Forterre bedanke ich mich für die Einführung in das Gebiet der Neurologie und promptes Korrekturlesen.

Zu Dank verpflichtet bin ich außerdem Herrn Prof. Dr. H. Kettenmann vom Max-Delbrück-Zentrum für Molekulare Medizin in Berlin Buch (MDZ) für die großzügige Bereitstellung sämtlicher Laborkapazitäten.

Vom MDZ möchte ich ganz besonders danken Frau Dr. C. Nolte und Frau C. Gras für die geduldige Einarbeitung in die praktischen Arbeiten und dafür, daß sie beide immer ein offenes Ohr für mich hatten. Ich danke ihnen außerdem für das Korrekturlesen.

Vielen Dank auch an Herrn Dr. A.N. Garratt vom MDZ für die Überlassung des Heregulins sowie an Herrn Dr. T. Müller vom MDZ für die Bereitstellung des p75-Antikörpers.

Schließlich danke ich Manuel Schubbe für seinen Beistand in Computerfragen, meinen Schwestern, die mir eine moralische Stütze waren, und meinen Eltern, die mir diese Doktorarbeit ermöglicht haben.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, Johanna Pauls, die vorliegende Dissertation selbständig sowie nur mit den in dieser Arbeit aufgeführten Hilfsmitteln und Hilfen verfasst zu haben.

Diese Arbeit wurde noch in keinem früheren Promotionsverfahren angenommen oder abgelehnt.