

Diplom-Biologin Prilloff, Sylvia

“The role of activating residual neurons in recovery of vision after partial optic nerve damage: *in vivo* observations in rats”

ZUSAMMENFASSUNG

Eine der Hauptursachen für funktionelle Verluste des zentralen Nervensystems (ZNS) nach Verletzung sind Schädel-Hirn-Trauma und Schlaganfall. Eine Verbesserung von Therapie und Rehabilitation setzt ein grundlegendes Verständnis der neurobiologischen Prozesse, die zum Tod von Nervenzellen und damit zur Schädigung des Nervensystems führen, voraus. Für die Konzeption neuer Therapieverfahren ist die genaue Kenntnis der posttraumatischen Plastizität derjenigen ZNS-Strukturen, die die Schädigung überlebt haben, von Bedeutung. Hierbei ist die Rolle der Aktivierung von Residualstrukturen bei der ZNS-Reparatur besonders hervorzuheben. Dies ergibt sich aus der Beobachtung, dass eine geringe Anzahl von Nervenzellen (10-20 %) ausreicht, um zunächst verlorene Funktionen durch Spontanerholung zu einem erheblichen Anteil wiederzuerlangen (Sabel, 1997 und 1999).

Hauptschwerpunkt der vorliegenden Dissertation war daher die Klärung der Bedeutung dieser residualen Strukturen für die Funktionserholung nach partieller Schädigung des visuellen Systems. Insbesondere galt es zu prüfen, in welchem Umfang Training und Aktivierung überlebender Nervenzellen die funktionelle Erholung anregen können. Zur Klärung dieser Fragestellung wurde die kontrollierte Quetschung des Nervus opticus der adulten Ratte genutzt, um die funktionelle Erholung durch verhaltens- und zellbiologische Methoden zu analysieren. Zunächst wurde der axonale Transport vor und nach partieller Verletzung des Nervus opticus mit Hilfe des In Vivo Confocal Neuroimaging Verfahrens (ICON) untersucht, und anschließend durch Nutzung des automatisierten Verhaltenstest (VIST) die Psychophysik der Funktionserholung nach partieller Nervus opticus Läsion dokumentiert. Durch Anwendung dieser beiden Verfahren konnten wesentliche neue Erkenntnisse über neurobiologische Mechanismen der funktionellen Erholung nach partieller Schädigung des visuellen Systems gewonnen werden:

- Durch die Verwendung von zwei verschiedenen Fluoreszenzmarkern ist die Beobachtung des retrograden axonalen Transports in retinalen Ganglienzellen (RGZ) unter *in vivo* Bedingungen möglich. Somit konnte ein geeignetes Untersuchungsprotokoll zur Darstellung des retrograden axonalen Transport und der axonalen Regeneration in verletzten RGZ etabliert werden.
- Wichtige Aspekte zur Axonreparatur konnten durch Verwendung dieser Doppelmarkierung von RGZ zur Darstellung des axonalen Transports und der axonalen Regeneration in überlebenden RGZ nach Sehnervquetschung herausgefunden werden. Es zeigte sich, dass sterbende RGZ einen dauerhaft gestörten axonalen Transport nach Sehnervquetschung hatten und zu keinem Zeitpunkt nach Läsion eine Erholung stattfand. Im Gegensatz dazu gab es eine Subpopulation von RGZ, die einen vorübergehend unterbrochenen axonalen

Transport nach Läsion des Sehnerven hatten, der sich jedoch später wieder erholte. Diese Effekte traten in allen drei Läsionsgruppen auf und können als Beleg für interne Axonreparatur angesehen werden.

- Die Sichtbarmachung der Kalziumaktivität in retinalen Ganglienzellen ist von funktioneller Bedeutung, da physiologische Kalziumaktivität in intakten Zellen die Folge von reizabhängigen Aktionspotentialen ist. In den Retinae unoperierter Kontrolltiere traten weder Änderungen in der Fluoreszenzintensität noch in der Zellgröße auf. Im Gegensatz dazu ergaben sich nach partieller Verletzung des Sehnervs zum Teil sehr drastische Änderungen in der Kalziumkonzentration. Die Schädigung von RGZs führte zunächst zu deutlichen Veränderungen in der Fluoreszenzstärke bevor dann zusätzlich auch morphologische Veränderungen eintraten. In Abhängigkeit vom Grad der Verletzung konnten unterschiedliche Zelltypen definiert werden. Nach einer milden Verletzung des Sehnervs (0.2 mm, definiert durch den Abstand der Pinzettenspitzen) zeigten 23 % aller markierten RGZ nach einer anfänglichen Abnahme der Fluoreszenzintensität eine schnelle Fluoreszenzintensitätszunahme. Nach Lichtstimulation konnte in diesen Zellen eine Kalzium-Hyperaktivität beobachtet werden. Bei 19 % der RGZ kam es nach moderater Verletzung des Sehnervs (0.1 mm) zunächst zu einer zögerlichen Abnahme der Fluoreszenzintensität, mit einer anschließenden Zunahme. Eine Hyperaktivität konnte in diesen Zellen jedoch nicht beobachtet werden. Des Weiteren gab es in beiden Läsionsstärken noch Zellen ohne Änderungen und absterbende Zellen. Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die *in vivo* Darstellung von Kalzium in RGZs ein wichtiger Hinweis auf die Funktionsfähigkeit (oder Schädigung) einzelner Zellen ist. Während überlebende RGZ eine verzögerte moderate Kalzium-Aktivierung zeigten, erfolgte in sterbenden Zellen unmittelbar nach Verletzung ein Zelltod-assoziiierter massiver Kalziumeinstrom.
- Die wiederholte Stimulation des visuellen Systems nach partieller Schädigung des Sehnervs wirkte sich positiv auf die Regeneration des Sehens aus. So führte ein 2 Stunden andauerndes „visual enrichment“ zu einer schnelleren Erholung der Sehfähigkeit bei Ratten gegenüber im normalen Hell/Dunkel Rhythmus bzw. in völliger Dunkelheit gehaltenen Tieren. Dies stimmt mit der Hypothese überein, dass eine visuelle Erfahrung ein entscheidender Faktor für die Wiederherstellung der Sehfunktion ist. Es unterstützt zudem die Hypothese, dass eine zusätzliche visuelle Stimulierung die Reparatur im geschädigten Gehirn verbessert.

Die hier dargestellten Untersuchungen stehen in direktem Zusammenhang zu klinischen Fragen der Wirkung von Gesichtsfeldtraining auf die Verbesserung der Sehleistung bei Patienten mit Sehfeldausfällen nach Schädel-Hirn-Trauma. So konnte in zwei unabhängigen klinischen Studien nachgewiesen werden, dass tägliches Restitutionstraining zu einer deutlichen Gesichtsfeldvergrößerung bei Patienten führt (Kasten & Sabel, 1995; Kasten *et al.*, 1998). Die durchgeführten Studien haben dazu beigetragen, diese klinisch relevante Neuroplastizität des visuellen Systems neurobiologisch zu erklären, so dass aus dieser Erkenntnis heraus Ansätze für eine Verbesserung des Trainingserfolgs zur Anwendung kommen können.