Nachweis von Faktoren und Rezeptoren der Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor-Familie auf Spiralganglienzellen adulter Ratten

V. Scheper, P. Wefstaedt, T. Lenarz, T. Stöver

Hals-Nasen-Ohrenklinik der Medizinischen Hochschule Hannover

Einführung

Für den Erfolg einer Cochlea-Implant (CI) Versorgung ist die Anzahl der einer elektrischen Reizung durch das Implantat zur Verfügung stehenden Spiralganglienzellen (SGZ) mit entscheidend.

Seit einigen Jahren liegt ein Schwerpunkt der Innenohrforschung in der Aufklärung der Effekte Neurotropher Faktoren (NTF) auf SGZ. In verschiedenen Studien wurden für diese Faktoren, z.B. glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), protektive und trophische Effekte auf SGZ nachgewiesen.

Durch NTF-Applikation in das Innenohr könnte das in Folge von Hörminderung oder Ertaubung fortschreitende Zugrundegehen der SGZ gestoppt werden. Dies würde die Anzahl der einer Reizung durch das CI zur Verfügung stehenden SGZ auf hohem Niveau konstant halten und dadurch zu einem verbesserten Erfolg einer CI-Versorgung beitragen.

Ziel dieser Untersuchung war es, die Faktoren der GDNF-Familie (GDNF, Armin, Persephin, Neurturin) sowie deren Rezeptoren mittels Immunfluoreszenztest auf SGZ hörender adulter Ratten nachzuweisen um neue potentielle Kandidaten für eine SGZ-Protektion via Innenohrtherapie zu identifizieren.

Antigen	Immunfluoreszenznachweis in adulten, normal hörenden Ratten
GDNF	++
Armin	+
Neurturin	+
Persephin	+
Ret	+
GFR α -1	++
GFR α -2	+
GFR α -3	+
Kontrolle ohne Primär-Antikörper	U

Tabelle 1: Indirekter Immunfluoreszenznachweis von Faktoren/Rezeptoren der GDNF-Familie. Bewertung:
0= keine, + = schwache, spezifische, ++ = starke, spezifische Fluoreszenz, U = unspezifische Hintergrundfluoreszenz.

Abb. 1: Beispielhafte Darstellung des Immunfluoreszenznachweises von GDNF, GFR α -1, Ret sowie Armin auf Spiralganglienzellkörpern normal hörender Ratten

Methode

- mikroskopische Dissektion von adulten normal hörenden Ratten
- Fixierung in 4% PFA, Entkalkung in EDTA, Einbettung in Paraffin
- Anfertigung histologischer Schnitte (5 μ m), HE-Färbung
- Immunfluoreszenzfärbung zum Nachweis von Faktoren und Rezeptoren der GDNF-Familie (Tab.1)
- Verwendung antigenspezifischer Primärantikörper (1:40) (Tab.1) und FITC-konjugierten Sekundärantikörpern (1:50)
- Auswertung unter Fluoreszenzmikroskop

Ergebnisse

Unsere Untersuchungen bestätigen den Nachweis von GDNF und seinen Rezeptoren GFR α -1 und Ret in SGZ adulter normal hörender Ratten. Die übrigen von uns getesteten Mitglieder der GDNF-Familie und ihre Rezeptoren zeigten zwar eine schwächere Fluoreszenz als GDNF, waren aber dennoch deutlich nachweisbar (Abb.1).

Ausblick

Die Ergebnisse unsere Immunfluoreszenzuntersuchungen legen damit nahe, dass neben GDNF auch Armin, Neurturin und Persephin interessante neue Kandidaten für weiterführende Untersuchungen zur SGZ-Protektion am Tiermodell darstellen.