

Berichte aus der Medizin

Wolfgang Grellner

**Zytokine und Adhäsionsmoleküle
in der rechtsmedizinischen
Vitalitäts- und Wundaltersbestimmung**

Shaker Verlag
Aachen 2004

Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Zugl.: Saarbrücken, Univ., Habil.-Schr., 2004

Kontakt:

Priv.-Doz. Dr. med. Wolfgang Grellner
Institut für Rechtsmedizin
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Am Pulverturm 3
D-55131 Mainz

Copyright Shaker Verlag 2004

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-3357-1

ISSN 0945-0890

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Der Autor konnte die Erfahrung machen, daß das einst bereits der Dissertation vorangestellte Zitat - nahezu erwartungsgemäß - nichts von seiner Gültigkeit verloren hat. Es sei daher erneut angeführt:

Früchte bringet das Leben dem Mann,
doch hängen sie selten
rot und lustig am Zweig,
wie uns ein Apfel begrüßt.

Goethe

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Kurzer Abriß über bestehende Methoden der Vitalitäts- und Wundaltersbestimmung in der Rechtsmedizin	1
1.2. Zur Bedeutung von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen	5
1.3. Zielsetzung der vorliegenden Studie	13
2. Material und Methodik	15
2.1. Übersicht über das gesamte Untersuchungsgut (Wundaltersbestimmung)	15
2.2. Immunhistochemische Untersuchungen	16
2.2.1. Untersuchungsgut	16
2.2.2. Eingesetzte Primärantikörper	17
2.2.3. Grundprinzip der Immunhistochemie und Gewebepvorbereitung	20
2.2.4. APAAP-Methode	21
2.2.5. LSAB-Methode	23
2.2.6. Immunhistochemische Auswertung	24
2.3. Biochemische Untersuchungen	26
2.3.1. Untersuchungsgut	26
2.3.2. Gewebeextraktion	29
2.3.3. Proteingehaltsbestimmung	32
2.3.4. ELISA-Messungen (Zytokine und Adhäsionsmoleküle)	33
2.3.5. Auswertung und Statistik	37
2.4. Molekularbiologische Untersuchungen	39
2.4.1. Untersuchungsgut	39
2.4.2. RNA-Isolierung und Analyse der Gesamt-RNA	39
2.4.3. RT-PCR und Southern Blot	42

2.5. Postmortale tierexperimentelle Untersuchungen zur supra-	
vitalen Chemotaxis	46
2.5.1. Experimente mit Interleukin-1 α	46
2.5.2. Experimente mit FMLP	46
2.5.3. Ergänzende immunhistochemische Untersuchungen	47
3. Ergebnisse	49
3.1. Immunhistochemisches Verteilungsmuster von Zytokinen	
und Adhäsionsmolekülen in menschlichen Hautwunden	49
3.1.1. Proinflammatorische Zytokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α)	49
3.1.2. Transformierende Wachstumsfaktoren (TGF- α , TGF- β 1)	61
3.1.3. Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin, L-Selektin)	70
3.2. Biochemisch-quantitative Analytik von proinflammatorischen	
Zytokinen und Adhäsionsmolekülen in Wundextrakten	82
3.2.1. Proinflammatorische Zytokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α)	82
3.2.2. Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin, L-Selektin)	95
3.3. Amplifikation von mRNA aus postmortaler menschlicher Haut	
via RT-PCR: Modellbeispiel β-Aktin	102
3.3.1. RNA-Isolierbarkeit aus Leichenhaut	102
3.3.2. Amplifikation der β -Aktin-mRNA	103
3.4. Zytokine als potentielle Induktoren einer supravitalen	
Chemotaxis am Beispiel des IL-1α	106
3.4.1. Normale Hauthistologie (Vergleichsproben)	106
3.4.2. Hauthistologie nach supravitaler Applikation von PBS	
(Kontrollproben)	107
3.4.3. Hauthistologie nach supravitaler Applikation von IL-1 α	
und FMLP	108
3.4.4. Hauthistologie nach vitaler Applikation von IL-1 α und FMLP	111

4. Diskussion	112
4.1. Proinflammatorische Zytokine (IL-1β, IL-6, TNF-α)	112
4.1.1. Immunhistochemisches Verteilungsmuster von proinflammatorischen Zytokinen	112
4.1.2. Biochemisch-quantitative Untersuchungen von proinflammatorischen Zytokinen	120
4.2. Transformierende Wachstumsfaktoren (TGF-α, TGF-β1)	132
4.3. Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin, L-Selektin)	139
4.3.1. Immunhistochemisches Verteilungsmuster von Adhäsionsmolekülen	139
4.3.2. Biochemisch-quantitative Untersuchungen von Adhäsionsmolekülen	145
4.4. Kurze Synopse der Untersuchungen zur Vitalitäts- und Wundaltersbestimmung von menschlichen Hautverletzungen	151
4.5. Zur Amplifizierbarkeit von mRNA aus postmortaler menschlicher Haut	154
4.6. Zytokine als potentielle Induktoren einer supravitalen Chemotaxis	158
5. Zusammenfassung	163
6. Literaturverzeichnis	166
7. Danksagung	191