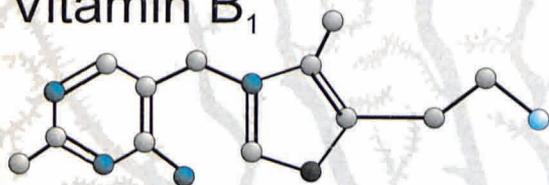


Die Kleinhirnrinde ist gegenüber Alkohol sehr empfindlich: Schon moderater Konsum führt zu einem Verlust der hier lokalisierten Purkinjezellen\*. Doch lange bevor die gesamte Zelle untergeht, verändert sich unter dem Einfluß von Alkohol die Gestalt ihrer Dendriten, die wie die Zweige eines Spalierobstbaums von den Purkinjezellen abzweigen, und von den feinen „Dornen“, die wiederum auf den Dendriten sitzen. Mit konventionellen Lichtmikroskopen lassen sich solche Details zwar noch erkennen; doch nur mit der Laserscanmikroskopie können die Schäden präzise erfaßt werden

# Alkohol und Nervenzellen

Alkoholschäden an Purkinjezellen der Kleinhirnrinde als Folge eines zellulären Vitamin-B<sub>1</sub>-Mangels trotz optimaler Zufuhr?

## Vitamin B<sub>1</sub>



- Stickstoff
- Kohlenstoff
- Schwefel
- Sauerstoff

■ Von Sabine Wenisch,  
Bettina Fortmann, Irmgard  
Bitsch und Rudi Leiser

\*Der böhmische Physiologe Ritter von Johannes Evangelista Purkinje wurde am 17. Dezember 1787 in Libochowitz bei Leitmeritz geboren. Er war zunächst Mönch, studierte dann Medizin und wurde aufgrund seiner Dissertation „Zur Physiologie des Sehens“ auf Goethes Empfehlung 1823 Professor in Breslau. Dort gründete er 1839 eines der ersten physiologischen Laboratorien. 1850 wechselte er auf eine Professur in Prag, wo er am 28. Juli 1869 starb. Purkinje entdeckte unter anderem das Keimbläschen im Hühnerei und prägte den Begriff „Protoplasma“. Sein Name lebt in den Purkinjefasern des Herzens, im Purkinje-Phänomen beim Farbensehen und in den Purkinjezellen des Kleinhirns weiter.

**DENDRITEN**  
Nervenfaser, die elektrische Signale aufnehmen und dem Nervenzellkörper zuleiten

Die Rinde ist in allen Regionen des Kleinhirns aus drei Schichten aufgebaut (Abbildung 2): Nahe der Oberfläche liegt die Molekularschicht, die arm an Zellen ist, es folgt eine Schicht Purkinjezellen und in der Tiefe die äußerst zellreiche Körnerschicht. Die Purkinjezellen sind nicht nur die größten und charakteristischsten Zellen des Kleinhirns, sie fallen auch auf, weil sie gleichmäßig zwischen Molekular- und Körnerschicht verteilt sind (Abbildung 3). Dem birnenförmigen Zellkörper einer Purkinjezelle entspringen zwei oder drei primäre Dendriten, die sich in weitere Äste – sogenannte Sekundär- und Tertiärdendriten – aufteilen und schließlich fein verzweigt – in sogenannten paarigen oder unpaarigen Dendriten – enden. So entsteht regelrecht ein

Dendritenbaum: Die paarigen Dendritenendigungen sind als die letzten Verzweigungen des Dendritenbaumes vornehmlich in dessen Randbereich lokalisiert; die unpaarigen dagegen besonders im Inneren (Abbildung 1).



paarig ← Parallelfasern



unpaarig ← Kletterfasern

Abbildung 1: Typisierung der Dendritenendigungen der Purkinjezellen nach ihrer Aufzweigungsart und ihren jeweiligen Kontaktstrukturen.

Der Dendritenbaum kann durch eine spezielle Färbung mit Silber-salzen, die Golgi-Imprägnierung, sichtbar gemacht werden (Abbildung 4, besonders Mitte).

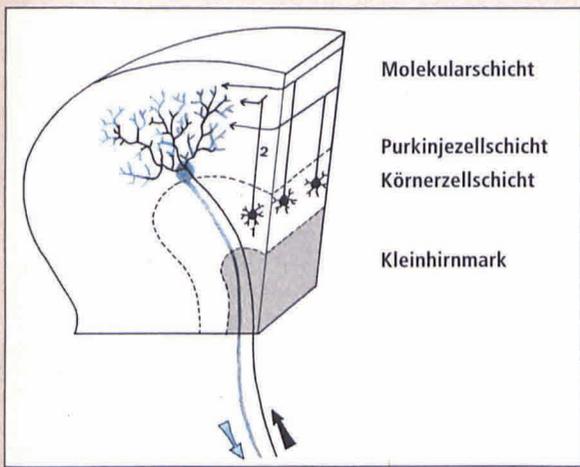
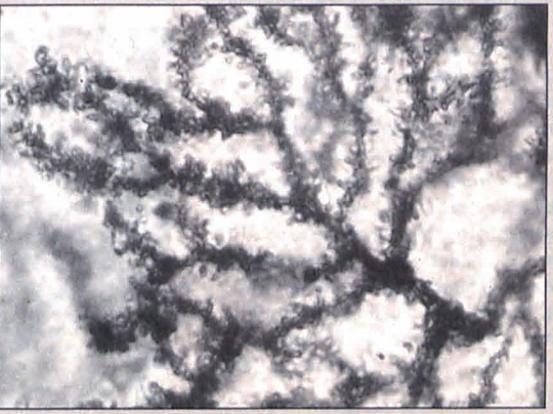
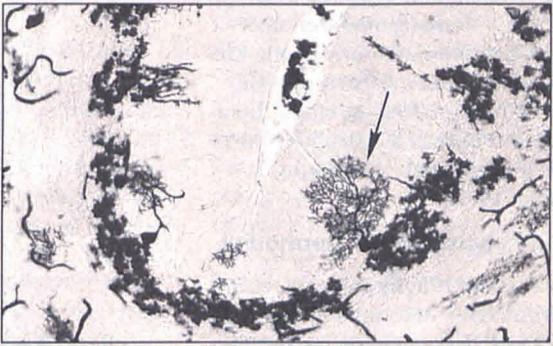


Abbildung 2: Schema des Aufbaus der Kleinhirnrinde mit einer Purkinjezelle (blau) und drei Körnerzellen (1), die ihre Axone (2) in die Molekularschicht entsenden, wo sie auf die paarigen Dendritenendigungen der Purkinjezelle stoßen. Axone der unteren Olivenkerne ranken als Kletterfasern am Dendritenbaum einer Purkinjezelle nach oben und kontaktieren insbesondere die unpaarigen Dendritenendigungen dieser Zelle. Die Pfeile deuten die Richtung des Signalflusses an.



Abbildung 3: Die Nissl-Färbung, mit der selektiv die Nervenzellkörper angefärbt werden, enthüllt die zelluläre Architektur der Kleinhirnrinde einer Ratte. Auf diesem Längsschnitt in 28facher Vergrößerung erscheint die Molekularschicht in der Nähe der Oberfläche hell, weil sie wegen ihrer relativen Armut an Zellen nur schwach angefärbt wurde. Die tiefer gelegene Körnerzellschicht ist reich an Zellen und deswegen dunkel angefärbt. Zwischen diesen beiden Schichten befinden sich die sogenannten Purkinjezellen, deren Zellkörper hier nur als winzige Pünktchen zu identifizieren sind.

Abbildung 4 (rechts): Kleinhirnrinde einer Ratte nach einer spezifischen Silberfärbung, der sogenannten Silber-Imprägnation nach Golgi, bei der aus unbekanntem Gründen immer nur circa fünf Prozent aller Nervenzellen eines Gewebes angefärbt werden. Vorteil dieser Methode ist jedoch, daß sich neben dem Zellkörper auch alle Fortsätze der Nervenzelle darstellen lassen. Oben ist in dieser 54fachen Vergrößerung der Kleinhirnrinde einer alkoholbehandelten Ratte in der rechten Bildhälfte eine vollständig imprägnierte Purkinjezelle (Pfeil) zu erkennen, deren auffällig gestaltete Dendriten sich wie die Zweige eines Spalierobstbaumes in der Molekularschicht entfalten, aber nicht die Gehirnoberfläche erreichen. Diese Verkleinerung des Dendritenbaumes ist auf den Einfluß des Alkohols zurückzuführen, der die Nervenzelle „veranlaßt“, ihre reizempfangende Region zurückzuziehen (Retraktion). Die Photographie in der Mitte (412fache Vergrößerung) enthüllt den Verzweigungsmodus des Dendritenbaumes und dessen Ursprung aus dem oberen Bereich des birnenförmigen Nervenzellkörpers. Das Bild unten zeigt in 3.500facher Vergrößerung, wie sämtliche Äste dieses Baums von winzig kleinen Dornen übersät sind, die sich nach Alkoholeinfluß signifikant verlängern.



Sabine Wenisch studierte Veterinärmedizin in Gießen und arbeitet seit ihrer Dissertation über die Entwicklung von Gehirnnervenkernen im verlängerten Mark beim Rind über die Entwicklungsprozesse verschiedener Gehirnregionen bei dieser Spezies. Neben der Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie untersucht sie seit 1988 in interdisziplinärer Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Prof. Irmgard Bitsch die durch Alkohol verursachten morphologischen Veränderungen an Nervenzellen und den Einsatz neuroprotektiv wirkender Substanzen.

Die Dendriten besitzen jedoch keine glatte Oberfläche, sondern sind bis in die feinsten Endverzweigungen von Dornen auf kurzen Stielen übersät: Das sind die eigentlichen Strukturen, mit denen eine Purkinjezelle Signale empfängt (Abbildung 4 unten). Ihrerseits gibt die Zelle Signale an das Kleinhirnmark über Axone weiter, die unten am Zellkörper der Purkinjezellen entspringen. Diese Signale dämpfen insgesamt die Aktivität der Nervenzellen im Kleinhirnmark, auch wenn es sich paradox anhört: Wenn über die Axone der Körnerzellen – die sogenannten Parallelfasern – oder über Kletterfasern aus den Nervenzellansammlungen im Hirnstamm – den sogenannten unteren Olivenkernen – erregende Einflüsse kommen, werden sie von den Purkinjezellen zu einem hemmenden Impuls auf das Kleinhirnmark umgesetzt (Abbildung 2, blauer Pfeil).

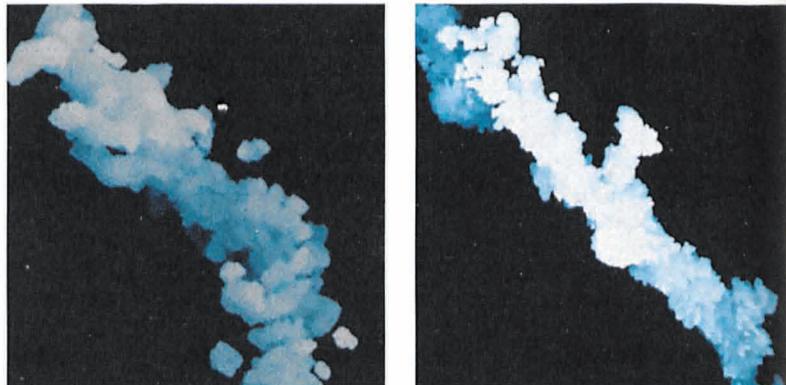
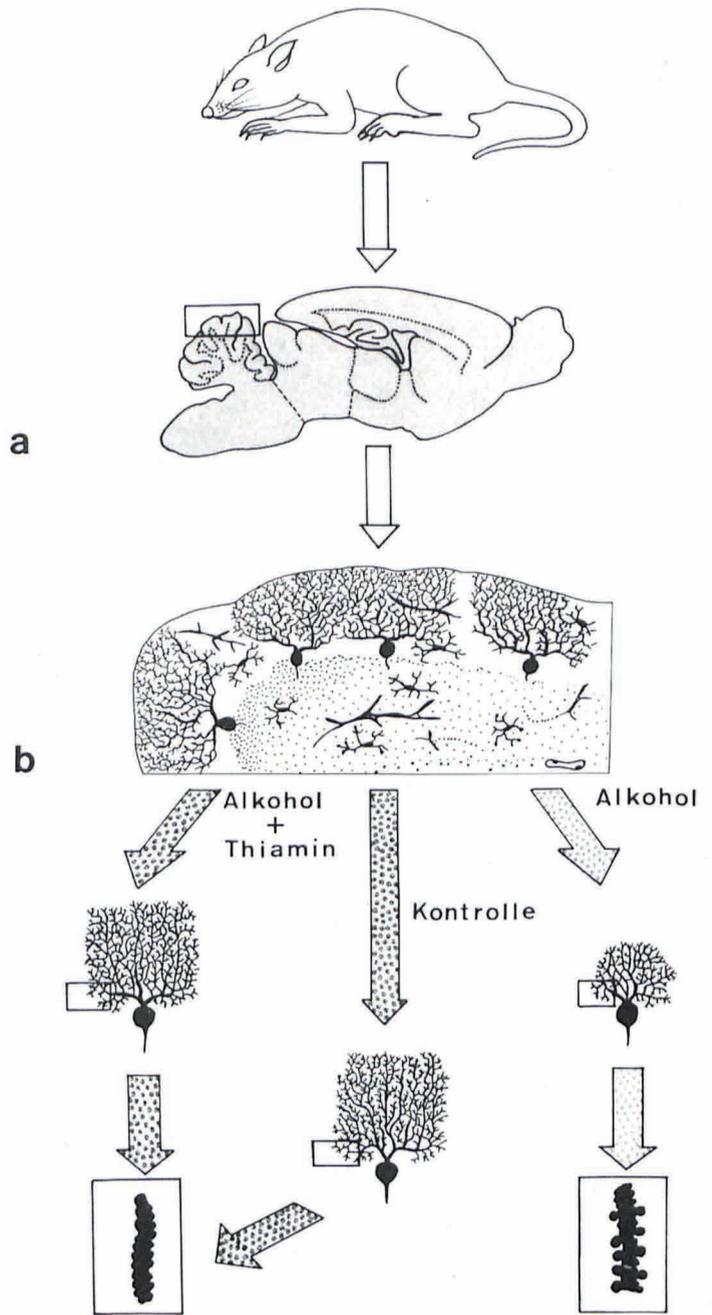
**AXONE**  
Fortsätze der Nervenzelle, die die Erregung vom Nervenzellkörper weggleiten

Rudi Leiser studierte Veterinärmedizin in Bern. 1990 wurde er nach Gießen auf die Professur für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie berufen. Sein Hauptforschungsgebiet ist die vergleichende Plazentologie. Darüber hinaus betreut und unterstützt er interdisziplinäre Forschungsprojekte, wie das über alkoholinduzierte Schäden am zentralen Nervensystem von Ratten.

**Alkoholwirkung im Tiermodell**

Zwar ist weitläufig bekannt, daß chronischer Alkoholkonsum zum Tod von Nervenzellen im zentralen Nervensystem führt, doch weiß man kaum, über welche Mechanismen Alkohol wirkt und wie er genau die Gestalt der Nervenzellen verändert. Um einen Einblick in die vielfältigen strukturellen und funktionellen Veränderungen

Abbildung 5: Die Kleinhirne werden entnommen (a) und gefärbt (b). Die Purkinjezellen der alkoholbehandelten Tiere zeigen einen deutlich geschrumpften Dendritenbaum und verlängerte dendritische Dornen (Pfeil rechts) im Unterschied zu den Kontrolltieren (Pfeil Mitte) und den mit Thiaminmegadosen behandelten Alkoholtieren (Pfeil links). Die Dornenverlängerung wird in der am konfokalen Laserscanmikroskop durchgeführten dreidimensionalen Rekonstruktion deutlich (rechts unten). Links unten ist dagegen die räumliche Struktur eines Dendritensegmentes zu erkennen, das von einer Alkoholratte stammt, der gleichzeitig Thiaminmegadosen verabreicht wurden. Die hier nur stummelförmig ausgeprägten Dornen verweisen auf die „intakte“ Morphologie dieses Dendriten.



## Mögliche Ursachen des alkoholinduzierten Nervenzelltods:

- **Vorzeitige Alterung**  
(z.B. massive Ansammlung des Alterungspigments Lipofuszin)
- **Rezeptorenveränderung**  
(GABA, NMDA, Dopamin)
- **Freisetzung von Radikalen**  
(Aktivierung der NO-Synthase)
- **Einleitung des programmierten Zelltods**  
(Apoptosis)

gen zu bekommen, verabreichten wir männlichen Wistarratten anstelle des Trinkwassers fünf Monate lang eine Lösung mit 20 Volumenprozent Ethanol – das ist der Alkohol, der landläufig „Alkohol“ genannt wird. Ratten zeigen eine natürliche Aversion gegen Alkohol, so daß wir den Geschmack mit fünf Gramm Saccharose pro 100 Gramm Lösung verbessern mußten. Jedes Tier nahm so durchschnittlich 12 Gramm Ethanol pro Tag auf.

Ratten verteilen bei diesem Versuchsansatz die Alkoholaufnahme praktisch über den ganzen Tag, so daß ihre Blutalkoholkonzentration selten den sogenannten physiologischen Bereich überschreitet – für Ratten liegt er bei 0,4 Promille. Mit dem Futter bekamen die Tiere ausreichend Nährstoffe und Vitamine inklusive einem Sicherheitszuschlag. Vor allem der Gehalt an Thiamin – bekannt als Vitamin B<sub>1</sub> – war so hoch angesetzt, daß eine optimale Gewebesättigung garantiert war. Nach fünf Monaten untersuchten wir im Licht- und im Laserscannmikroskop die Purkinjezellen der Kleinhirnrinde, die aus noch nicht bekannten Gründen sehr empfindlich und früh auf Alkohol reagieren.

### Die Degenerationskaskade

Die chronische Aufnahme von Ethanol über fünf Monate verän-

dert bei Ratten die Gestalt der Purkinjezellen massiv. Der Dendritenbaum schrumpft (Abbildung 4 oben), wobei vor allem die paarigen Dendritenendigungen degenerieren, die sich als viel sensibler gegenüber Alkohol erweisen als die unpaarige Varietät. Diese unterschiedliche Empfindlichkeit innerhalb derselben Zelle verweist auf alkoholbedingte Veränderungen im Reizleitungssystem der Parallelfasern. Sie bringen die Signale aus der Körnerschicht und kontaktieren hauptsächlich die paarigen Dendritenendigungen (Abbildung 1 oben und 2).

Der Dendritenbaum schrumpft also nicht – wie zu vermuten wäre – weil die Purkinjezelle unmittelbar geschädigt wäre, sondern weil der frühe Tod von Körnerzellen eine regelrechte Degenerationskaskade auslöst: In den tiefen Schichten der Kleinhirnrinde gehen alkoholsensible Körnerzellen samt ihren Parallelfasern zugrunde, die elektrische Übertragung von Signalen in Richtung auf die paarigen Dendriten des Dendritenbaums unterbrochen, der daraufhin degeneriert. Die unteren Olivenkerne sind dagegen wesentlich toleranter gegenüber Alkohol als die Körnerzellen. Entsprechend schrumpfen die unpaarigen Dendritenendigungen der Purkinjezellen, die von ihnen insbesondere über die intakt gebliebenen Kletterfasern kontaktiert

werden, kaum, weil sie weiterhin mit elektrischen Signalen versorgt werden (Abbildung 1 unten und 2).

### Das neuronale Netzwerk

Die Schrumpfung der Dendriten war jedoch nicht der einzige Hinweis auf eine Schädigung durch Alkohol. Interessanterweise zeigen die Purkinjezellen der mit Alkohol behandelten Ratten auch signifikant verlängerte Dornen an den Dendriten. Nicht alle Dornen wachsen, aber stellenweise verlängern sie sich um das Drei- bis Vierfache der ursprünglichen Ausmaße. Die Dornen bleiben in ihrem äußeren Erscheinungsbild scheinbar unverändert, und erst die ultrastrukturelle Untersuchung gibt Aufschluß über ihren näheren Funktionszustand: Die verlängerten Dornen übernehmen als intakte neuronale Strukturen die einlaufenden Signale von den Parallelfasern, während die normal langen Dornen von der elektrischen Impulsübertragung abgeschnitten worden sind, weil ihre Impulsgeber – die Körnerzellen – an Alkohol zugrunde gegangen sind. Dies legt die Vermutung nahe, daß Strukturen, die nicht mehr in das neuronale Netzwerk integriert sind, degenerieren. Eine portugiesische Forschergruppe um Tavares, die einen Rückgang der Dornendichte an den Dendriten der Purkinjezellen nach chronischen Ethanolgaben dokumentiert hat, bestätigt das. Anscheinend werden aber nicht alle Dornen von der Degeneration im gleichen Ausmaß erfaßt: Einige, ursprünglich durch den Körnerzelltod vom Signalfluß abgeschnittene Dornen verlängern sich kom-

**WISTARRATTEN**  
Ursprünglich von H.D. King in den Jahren 1913 bis 1919 im „Wistar Institute of Anatomy and Biology“ der Universität von Pennsylvania in Philadelphia gezüchteter Stamm von Albino-Laborratten, der später weltweite Verbreitung gefunden hat. Das Wistar Institute wurde nach dem Botaniker und Anatomen Wistar (1761 bis 1818) benannt.

JUSTUS-LIEBIG-

UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Prof. Dr. Rudi Leiser  
Dr. Sabine Wenisch

Institut für Veterinär-Anatomie,  
-Histologie und -Embryologie  
Frankfurter Straße 98  
35392 Gießen  
Telefon (06 41) 702-4806

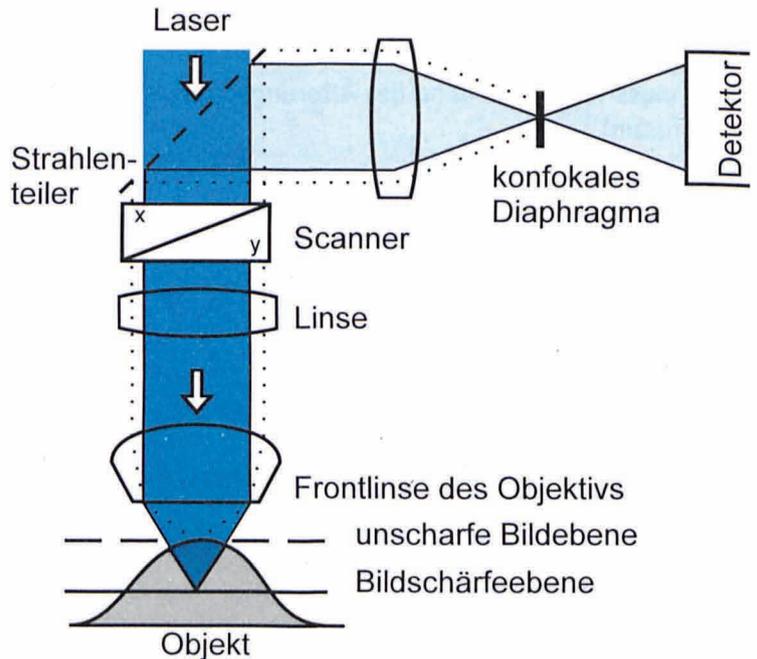


Bettina Fortmann studierte Ernährungswissenschaften in Gießen und untersuchte im Rahmen ihrer Diplomarbeit die Auswirkungen von chronischen Alkoholapplikationen auf die Purkinje-Zelle der Kleinhirnrinde von Wistaratten. Seit 1993 untersucht sie in ihrer Dissertation die morphologischen Veränderungen in Klein- und Großhirn der Ratte, wie sie durch den normalen Alterungsprozeß und durch chronische Alkoholapplikation hervorgerufen werden. Darüber hinaus startete sie den Versuch, ethanolinduzierte, zentralnervöse Schäden mit megadosiertem Vitamin B<sub>1</sub> zu therapieren.

## Ein dreidimensionales Mikroskopbild

Wollte man sich früher ein dreidimensionales Bild von einer biologischen Struktur machen, so mußte man das Objekt in Schnitte zerlegen, jeden Schnitt einzeln betrachten und daraus mühsam die dreidimensionale Struktur rekonstruieren. In der konfokalen Laserscannmikroskopie kann das Objekt optisch in Schnitte zerlegt werden, ohne daß es mechanisch zerschnitten werden muß. Serien solcher optischen Schnitte werden in digitale Bilddaten umgewandelt und über geeignete Software schließlich als dreidimensionale Strukturen dargestellt (Abbildung 5 unten).

Das Funktionsprinzip eines solchen Laserscannmikroskops verdeutlicht die Abbildung rechts: Blickt man durch ein Lichtmikroskop, so erscheint nur eine Ebene scharf, die sogenannte Bildschärfeebene. Ein Punkt aus Laserlicht wird zeilenförmig von einem Scanner über das Objekt geführt. Dabei werden natürlich nicht nur die Strukturen in der Bildschärfeebene belichtet, sondern auch Strukturen, die dar-



über oder darunter liegen. Das sogenannte konfokale Diaphragma blendet jedoch dieses Licht der unscharfen Bildebenen aus (gepunktete Linie), so daß nur das Licht aus der scharfgestellten Bildebene auf den Detektor – ein Photomultiplier – fallen kann.

Schicht um Schicht wird das Objekt nun abgetastet, indem nach und nach die Bildschärfeebene verschoben wird. Aus den Bildern der einzelnen Schichten rekonstruiert der Computer dann die dreidimensionale Struktur.

pensatorisch auf der Suche nach neuen Kontakten, um den neuronalen Signalfluß aufrechtzuerhalten.

Zwei gegenläufige Prozesse laufen also bei chronischem Alkoholkon-

sum ab: Eine Degeneration beim Schrumpfen der Dendriten und eine Kompensation, wenn einzelne Dornen auf diesen Dendriten übermäßig wachsen. Der Dendritenbaum in der Kleinhirnrinde samt seinen Dornen reagiert also dynamisch auf äußere Einflüsse und gibt nicht zuletzt durch seine strukturellen Veränderungen wichtige Hinweise auf den Funktionszustand der Nervenzellen.

### Eine wirksame Therapie

Diese auf der morphologischen Ebene offensichtlichen Effekte des Alkohols am zentralen Nervensystem der Ratte drücken sich auch im Stoffwechsel und im klinischen Bild aus, was gerade beim

Menschen die Frage nach wirksamen Therapiemaßnahmen laut werden läßt. Hier rückt die Wechselwirkung des Alkohols mit dem Stoffwechsel in den Vordergrund, denn chronischer Alkoholkonsum führt zu einer eingeschränkten Verfügbarkeit der Nährstoffe im allgemeinen und der Vitamine im besonderen. Die Vitamine des B-Komplexes und speziell das Vitamin B<sub>1</sub>, das Thiamin, hängen mit der Nervenversorgung zusammen. Da Thiamin ein wichtiges Coenzym bei einer Reihe von Stoffwechselreaktionen der Nervenzelle ist, wirkt sich sein alkoholbedingter Mangel nicht nur fatal auf die Gestalt der Nervenzellen aus, sondern auch auf das All-

JUSTUS-LIEBIG-  
UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Prof. Dr. Irmgard Bitsch  
Dipl. oec. troph. Bettina Fortmann

Institut für Ernährungswissenschaft  
Wilhelmstraße 20  
35392 Gießen  
Telefon (0641) 702-9914



Irmgard Bitsch, seit 1972 Professorin für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaft, arbeitet in interdisziplinären Ansätzen über Analytik, Kinetik, Mechanismen und Wirkung Lebensmittelinhaltsstoffen. Alkohol wird in diesem Kontext bei moderater, das heißt lebensmitteldäquater, Zufuhr an gesunde Versuchspersonen und im Tiermodell untersucht. Die gewählten Dosierungen werden mit Präferenz den Aufnahmemengen angepaßt, die die überwiegende Mehrzahl der Bevölkerung in Deutschland bevorzugt, und sollen einem maßvollen Umgang mit alkoholischen Getränken entsprechen.

gemeinbefinden von Alkoholikern. Neben Gleichgewichtsstörungen ändert sich vor allem die Reizleitung, mit der Empfindungen aus den Sinnesorganen wahrgenommen und Befehle für Bewegungen gegeben werden. Bei drei bis zehn Prozent der Patienten entwickelt sich nach alkoholbedingtem Thiaminmangel sogar die Wernicke-Enzephalopathie, bei der die Augenmuskeln gelähmt werden, die Bewegungen unkoordiniert wirken und das Gedächtnis Ausfallserscheinungen zeigt. Wird der Alkoholmißbrauch fortgesetzt, kann diese Krankheit in das nahezu irreversible Stadium der Korsakoff-Psychose übergehen. Durch rechtzeitige Thiamingaben lassen sich jedoch die alkoholbedingten Schäden am zentralen Nervensystem verhüten oder nahezu heilen. Wenn also die fatalen zentralnervösen Effekte des Alkohols vom Thiaminmangel verursacht werden, müßten sich die Gestaltänderungen, die wir nach chronischem Alkoholkonsum an den Dendriten der Purkinjezellen gefunden haben, von vornherein durch Thiamingaben vermeiden

lassen. Aufgrund dieser Überlegung haben wir einer weiteren Versuchstiergruppe über die Dauer von fünf Monaten Alkohol über das Trinkwasser verabreicht, doch darüber hinaus erhielten sie mit dem Futter gleichzeitig eine Megadosis Thiamin von der hundertfachen Dosis der Empfehlung. Die Auswertung der Daten, wobei wiederum die Ausdehnung des Dendritenbaums der Purkinjezellen samt seiner Dornen gemessen wurden, lieferte erstaunliche Ergebnisse: Weder die paarigen, noch die unpaarigen Dendriten weichen in ihrer Länge und der Art der Verzweigung von den gemessenen Normalwerten der Kontrollgruppen ab, auch waren die Dornen nicht wie bei den Alkoholtieren verlängert. Zwar schädigt Alkohol auch andere Gehirnbezirke, wobei die Lokalisation der geschädigten Region von der verabreichten Dosis abhängig ist, und trotzdem: Auch wenn diese Daten nur an einem Typ von Nervenzelle erhoben wurden, so geben sie doch einen wichtigen Hinweis auf den Mechanismus der Krankheit und auf die prophylaktischen Maßnahmen, die bei chronischem

Alkoholmißbrauch angestrebt werden sollten. Selbst wenn im Gewebe die Thiaminspiegel normal sind, herrscht auf zellulärer Ebene in der Kleinhirnrinde nach chronischem Alkoholkonsum ein Thiaminmangel. Er kann durch Gaben von Vitamin B<sub>1</sub> kompensiert werden, der Kohlenhydratstoffwechsel der Nervenzelle bleibt erhalten, weil nunmehr ausreichende Mengen des Coenzym Thiamin vorhanden sind, und der Tod der Nervenzelle, dessen Vorstufen bei den Alkoholtieren sich in der Gestaltänderung der Purkinjezellen abzeichnete, wird verhindert. ■

LITERATUR

- Iwata, H.: Possible role of thiamine in the nervous system. Trends in Pharmacol. Sci. 1982; 3-4: 171-173.
- Karhunen, P.J., Erkinjuntti, T., Laippala, P.: Moderate alcohol consumption and loss of cerebellar Purkinje cells. Brit. Med. J., 1994; 308: 1663-1667.
- Lundquist, F. Interference of ethanol in cellular metabolism. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975; 252: 11-20.

„Worauf es hinausläuft: Du mußt herausfinden, was für eine Reaktion sie haben wollen und ihnen diese Reaktion zeigen“  
 Karikatur: Sidney Harris

