



**Die Rolle der Makrophagen bei der  
Wundheilung in Zebrabärbling-  
Embryos**

Eine experimentelle Analyse

**Matura-Arbeit an der Kantonsschule Rychenberg**

Dana Niederhäuser

6d

05.12.2023

Betreuung: Patrick Faller

Zweitbetreuung: Caspar Rahm

## **Danksagung**

Diese Matura-Arbeit konnte nur durch die Unterstützung einiger Personen realisiert werden, denen ich zu Beginn dieser Arbeit danken möchte.

Besonders hervorzuheben ist dabei das Team der Universität Zürich. Sie haben mir die Zebrabärbling-Embryos sowie alle weiteren Materialien für die beiden Experimente zur Verfügung gestellt, mit mir gemeinsam die Versuche geplant und mir auch sonst immer beratend zur Seite gestanden. Einen herzlichen Dank an Frau Prof. Dr. Francesca Peri, Dr. Ambra Villani und Corinna Biermeier.

Zusätzlich möchte ich meinem Betreuer Herrn Patrick Faller danken, welcher mir während des ganzen Prozesses immer mit nützlichen Ratschlägen zur Seite gestanden ist und durch welchen ich überhaupt erst auf das Thema der Zebrabärblinge gekommen bin. Vielen Dank auch an Herrn Caspar Rahm, der meine Zweitbeurteilung übernommen hat.

## Abstract

In meiner Matura-Arbeit erforschte ich den Einfluss von Makrophagen auf die Wundheilung in Zebrafisch-Embryos. Dafür führte ich zwei Experimente durch: Im Hauptexperiment verglich ich die Wundregeneration genetisch unveränderter Fische mit derjenigen genetisch veränderter Fische. Bei Letzteren wurde das Gen zur Bildung von Makrophagen so modifiziert, dass keine Makrophagen mehr entwickelt werden konnten. Nachdem ich dann allen Fischen einen kleinen Schnitt in die Schwanzflosse zugefügt hatte, verglich ich die Wundheilung nach 24 Stunden zwischen den Zebrafischen mit und ohne Makrophagen. Die Ergebnisse zeigten, dass die Embryos mit Makrophagen eine bessere Wundregeneration aufweisen als diejenigen ohne. Dies stimmt auch mit dem aktuellen Wissensstand überein.

Über dieses Experiment hinaus untersuchte ich zusätzlich, wie die Makrophagen auf die zugefügte Schnittwunde reagieren. Um die einzelnen Riesenfresszellen sichtbar zu machen, wurden sie vor dem Experiment gentechnisch so verändert, dass sie unter blauem Licht grün fluoreszieren. Mithilfe einer ans Mikroskop angeschlossenen Kamera wurde dann ein Video erstellt, welches eine Migration der Makrophagen nach der Verletzung zur Wunde zeigte. Das Ergebnis des zweiten Experimentes steht in Einklang mit dem Resultat des ersten, da man auf dem Video erkennt, dass die Makrophagen auf die Wunde reagieren und sich zu ihr bewegen. An der verletzten Stelle angekommen, können sie dann die Heilung der Wunde unterstützen. Demzufolge zeigen Embryos mit Makrophagen eine bessere Wundregeneration auf als diejenigen ohne.

Durch diese Experimente konnte die Bedeutung der Anwesenheit von Makrophagen während des Wundheilungsprozesses verdeutlicht werden. Mithilfe des Endresultates könnte man nun neue medizinische Therapieansätze entwickeln, die zu einer Förderung der Wundheilung durch gezielte Unterstützung der Makrophagen in bestimmten Wundregenerationsphasen führen.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Theoretische Grundlagen .....</b>	<b>1</b>
1.1	Zebrabärblinge .....	1
1.1.1	Allgemeine Informationen .....	1
1.1.2	Vorteile des Zebrabärblings als Modellorganismus .....	2
1.2	Mutationen und Mutanten .....	4
1.2.1	Mutationen in der heutigen Wissenschaft .....	5
1.2.2	Mutierte Zebrabärblinge .....	6
1.3	Makrophagen und ihr Einfluss auf die Wundheilung.....	7
1.3.1	Makrophagen .....	7
1.3.2	Wundheilung .....	10
1.3.3	Einfluss der Makrophagen auf die Wundheilung .....	12
<b>2.</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>14</b>
2.1	Motivation.....	14
2.2	Entwicklung der Fragestellung .....	14
2.3	Ziele .....	15
2.4	Hypothesen.....	15
<b>3.</b>	<b>Materialien und Methoden.....</b>	<b>17</b>
3.1	Materialien .....	17
3.2	Methoden .....	19
3.2.1	Hauptexperiment.....	19
3.2.2	Zusatzexperiment .....	20
3.3	Experimentauswertung .....	20
<b>4.</b>	<b>Resultate .....</b>	<b>24</b>
4.1	Hauptexperiment.....	24
4.2	Zusatzexperiment .....	27
<b>5.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>28</b>
5.1	Diskussion.....	28
5.1.1	Diskussion des Hauptexperimentes.....	28
5.1.2	Diskussion des Zusatzexperimentes .....	32
5.2	Schwierigkeiten.....	32

---

5.3	Optimierungsvorschläge .....	33
5.4	Fazit .....	34
<b>6.</b>	<b>Schlusswort.....</b>	<b>35</b>
<b>7.</b>	<b>Glossar.....</b>	<b>36</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>38</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>44</b>
	<b>Anhang.....</b>	<b>46</b>
	<b>Ehrenwörtliche Erklärung .....</b>	<b>48</b>

# 1. Theoretische Grundlagen

Das Ziel meiner Matura-Arbeit war, mittels eines Experimentes zu untersuchen, ob Makrophagen einen Einfluss auf die Wundheilung in Embryos der Fischart Zebrabärbling haben. Für den Versuch arbeitete ich mit genetisch unveränderten Tieren, auch Wildtypen genannt, sowie mutierten Tieren. Bei Letzteren wurde das Gen zur Bildung von Makrophagen so modifiziert, dass keine Makrophagen mehr ausdifferenziert wurden. Auf diese Weise konnte ich nach dem Zufügen eines kleinen Schnittes in die Schwanzflosse jedes Embryos die Wundheilung zwischen den Tieren mit und ohne Makrophagen vergleichen. In einem Zusatzexperiment filmte ich ausserdem das Verhalten und die Bewegung der Makrophagen nach der Wundzufügung.

In diesem ersten Teil meiner Arbeit werde ich auf die theoretischen Grundlagen dazu eingehen, also auf das Versuchstier Zebrabärbling allgemein, auf mutierte Tiere und auf Makrophagen sowie deren Bezug zur Wundheilung. Dieses Kapitel dient als Hilfestellung für ein besseres Verständnis der Vorgänge, der Experimente und der anschliessenden Diskussion der Resultate.

## 1.1 Zebrabärblinge

### 1.1.1 Allgemeine Informationen

Ich habe die Experimente zur Untersuchung der Wundheilung mit Zebrabärblingen (lat. *Danio rerio*) durchgeführt. Diese Tiere aus der Ordnung der Karpfenartige kommen ursprünglich aus Südasien, genauer gesagt aus Pakistan, Nordindien, Südnepal und Bangladesch. Sie bevorzugen langsam fließende oder stehende Gewässer, unter anderem auch Reisfelder. Möglicherweise sind sie über einen Reisfeldbesitzer auch in die USA gekommen, wo sie heute ebenfalls vorkommen (Wikipedia 2023: Zebrabärbling).



Abb. 1: Zebrabärblinge (wikimedia.org 2023)

Der Name Zebrabärbling kommt von ihrer Färbung: Von den Kiemen bis zur Schwanzflosse ist ihr silberner Körper von blauen oder schwarzen Längsstreifen durchzogen (siehe Abb. 1). Männchen und Weibchen haben prinzipiell dieselbe Färbung, allerdings ist sie bei den Weibchen etwas blasser ausgefallen (Max-Planck-Institut 2023; Wikipedia 2023: Zebrabärbling).

Die Haltung der bis zu 5 cm langen und schlanken Tieren ist ziemlich unkompliziert. Sie haben kaum Ansprüche an die Beckengrösse, an das Futter, welches sich in ihrem natürlichen Lebensraum hauptsächlich aus kleinen Insekten und Krebstieren zusammensetzt, und an die Wasserqualität. Es wird jedoch trotzdem empfohlen, mindestens 8 Tiere gemeinsam bei einer Idealtemperatur von 25 - 31 °C zu halten. Ausserhalb dieser Temperatur können die Fische zwar noch überleben, es findet aber keine eigene Fortpflanzung mehr statt (Max-Planck-Gesellschaft 2023: Warum erforschen Wissenschaftler Zebrafische?; Wikipedia 2023: Zebrabärbling).

### 1.1.2 Vorteile des Zebrabärblings als Modellorganismus

Zebrabärblinge sind ein äusserst beliebter Modellorganismus in der Biologie. Nach der Maus sind sie das am zweithäufigsten eingesetzte Tier in der Forschung. Dafür gibt es verschiedene Gründe, wie zum Beispiel die einfache Haltung der Fische, also ihre anspruchslosigkeit an das Futter, die Beckengrösse und die Wasserqualität (siehe Kapitel 1.1.1). Dies macht sie zu einem sehr preiswerten



Abb. 2: Haltung der Zebrabärblinge an der Universität Zürich

Labortier. In der Abbildung 2 kann man die typische Haltung von Zebrabärblingen in einem Laboratorium erkennen, hier das der Universität Zürich (Max-Planck-Gesellschaft 2023: Modellorganismus Zebrafisch; Wikipedia 2023: Zebrabärbling).

Ein weiterer Vorteil ist die genetische Ähnlichkeit zum Menschen: 70% der Gene beider Lebewesen ähneln sich stark und 80% der Gene, welche Krankheiten auslösen können, kommen sowohl beim Zebrafisch als auch beim Menschen vor. So kann man Krankheiten statt am Menschen auch direkt an den Fischen untersuchen. Es ist Forschern sogar schon gelungen, menschliche Krankheiten, welche im Zebrafisch nicht vorkommen, wie zum Beispiel Hautkrebs, Leukämie oder Alzheimer, im Fisch zu generieren und deren Auswirkungen zu beobachten. Mit dieser Forschungsmethode versucht man, Gegenmittel zunächst im Zebrafisch zu entdecken und sie anschliessend auf den Menschen anzuwenden (Animalresearch.info 2016; Max-Planck-Gesellschaft 2023: Modellorganismus Zebrafisch; Wikipedia 2023: Zebrafisch).

Zusätzlich ist die Art der Entwicklung von den Zebrafisch-Embryos nützlich, denn diese findet wie auch bei den meisten anderen Knochenfischen vollständig ausserhalb des Mutterleibes statt. Die Ausbildung der Farbpigmente erfolgt zudem erst nach ungefähr drei Wochen, die Fische sind in den ersten Lebenswochen also beinahe transparent. So können Forscher einfacher Zellen von Auge betrachten und deren Entwicklung genau dokumentieren.

Darüber hinaus ist auch die äusserst schnelle Entwicklung der Zebrafische vorteilhaft: 2 Tage nach der Befruchtung schlüpfen die Larven und nach bereits 5 Tagen haben die Tiere alle überlebenswichtigen Organe ausgebildet. Nach 2 Monaten sind sie schliesslich schon wieder geschlechtsreif. Dieser kurze Generationszyklus ist unter anderem für Forscher, welche den Lebenszyklus im Gesamten untersuchen, sehr hilfreich (Animalresearch.info 2016; Max-Planck-Gesellschaft 2023: Warum erforschen Wissenschaftler Zebrafische?; Wikipedia 2023: Zebrafisch).

Ein weiterer Grund für die häufige Verwendung des Zebrafisches als Forschungstier ist dessen hohe Fruchtbarkeit. Pro Woche können die Weibchen bis zu 300 Eiern legen. Dies macht die Zebrafische für genetische Studien ideal, denn erzeugte Mutationen können aufgrund der vielen Nachkommen und der schnellen Entwicklung einfach und effizient untersucht werden (Max-Planck-Gesellschaft 2023: Modellorganismus Zebrafisch; Wikipedia 2023: Zebrafisch).



Zudem kennt man seit über 10 Jahren auch die stark ausgeprägte Regenerationsfähigkeit des Zebrabärblings. Diese Eigenschaft der Fische ist sehr speziell, da ausser den Zebrabärblingen nur sehr wenige Wirbeltiere derartige regenerative Fähigkeiten besitzen. Der Organismus der Zebrabärblinge ist dabei in der Lage, abgeschnittene Flossen vollständig nachwachsen zu lassen und sogar Teile überlebenswichtiger Organe zu regenerieren. So können die Fische zum Beispiel bis zu 20% des Herzens wiederherstellen, ohne zukünftige Schäden davonzutragen. Dieser Prozess der Heilung ist beim Mensch bisher unmöglich, jedoch ist die Forschung seit einiger Zeit darum bemüht, auch die Regenerationsfähigkeit des Menschen zu erhöhen (Edmond, Patricia, 2021; National Geographic: This Tiny, Transparent Fish Could Save Your Life; Wikipedia 2023: Zebrabärbling).

Ein genereller Vorteil von Untersuchungen mit Embryos bietet das Gesetz. Laut diesem gelten Embryos, welche unter 5 Tage alt sind, offiziell nicht als Tiere. Deshalb müssen Wissenschaftler für Studien mit ihnen keine Erlaubnis einfordern. Dies vereinfacht ihre Forschungsarbeit, denn eine Genehmigung für Tierversuche bedarf einer kantonalen Bewilligung, welche aufwendig zu besorgen ist (Fedlex: Tierschutzgesetz, 2005: Artikel 11 Absatz 1, Artikel 19 Absatz 1).

Schlussendlich waren die Hauptgründe für die Auswahl der Zebrabärbling-Embryos als Forschungsobjekt meiner Matura-Arbeit die Transparenz der Embryos, die Entwicklung ausserhalb des Mutterleibes und die hervorragende Regenerationsfähigkeit. Ohne diese Eigenschaften des Fisches hätten sich meine beiden Experimente als nicht durchführbar herausgestellt.

## **1.2 Mutationen und Mutanten**

Im zweiten Unterkapitel der theoretischen Grundlagen werde ich den Fokus auf Mutationen und Mutanten legen, da beides für meine Experimente von zentraler Bedeutung war.

Unter dem Begriff «Mutanten» versteht man Lebewesen, die eine Mutation im Erbgut aufweisen. Eine Mutation entsteht durch eine spontan entstandene oder künstlich

erzeugte Veränderung der Erbinformation. Sie ist dauerhaft, vererbbar und nicht mehr umkehrbar. Spontan kann sie unter anderem durch Umwelteinflüsse wie UV- oder radioaktive Strahlung oder während der Replikation entstehen. Wissenschaftler können aber auch künstlich eine Mutation erzeugen, um ihre aktuelle Fragestellung gezielter untersuchen zu können (gesundheitsinformation.de 2021; studyflix 2021: Mutation; StudyHelp; Wikipedia 2023: Mutation).

### 1.2.1 Mutationen in der heutigen Wissenschaft

Um an einer bestimmten Stelle der DNA eine Mutation herbeizuführen, arbeitet man heutzutage mit Techniken der Genom-Editierung. Bei dieser werden biologische Werkzeuge wie zum Beispiel Proteine benutzt, die exakt die zu verändernde Sequenz im Genom erkennen und bearbeiten können. Die Genom-Editierung ist deshalb deutlich präziser als die klassische Gentechnik, da sie erstmals ermöglicht, den Mutationsort exakt zu bestimmen und nicht dem Zufall zu überlassen. Zudem ist diese neuartige Technik relativ mühelos durchzuführen, weshalb sie mittlerweile stark verbreitet ist. Die gebräuchlichsten Beispiele der Genom-Editierung sind ZFNs (Zinkfinger-Nukleasen), TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) und CRISPR-Cas9, wovon letztere jedoch die bekannteste und am häufigsten verwendete Technik ist (bmuv 2023; transparenz GENTECHNIK 2023: Genome Editing).

Das Prinzip der 3 oben genannten Varianten der Genom-Editierung ist sehr ähnlich: Zuerst muss der zu verändernde DNA-Abschnitt mithilfe von Sonden gefunden werden. Daraufhin kommt ein Protein (bei ZFN und TALENs) oder ein Nukleotid (bei CRISPR-Cas9) zum Einsatz, welches an die Zielstelle der DNA bindet. An diesem Ort wird dann mittels eines Enzyms ein Doppelstrangbruch in der DNA erzeugt. Aus dem Versuch der Zelle, diesen zu reparieren, entsteht dann oftmals eine Mutation (bmuv 2023; transparenz GENTECHNIK 2023: CRISPR/Cas, TALEN, Zinkfinger, ODM: Wie die Genome Editng-Verfahren funktionieren).

Das Auslösen von künstlichen Mutationen ist für die Wissenschaft von grosser Bedeutung. Forscher können nun einfacher gezielt eine Hypothese überprüfen, wie zum Beispiel in meinem Experiment: Mithilfe der Genom-Editierung wurde eines der Gene zur Bildung von Makrophagen so mutiert, dass keine funktionsfähigen

Makrophagen mehr ausgebildet wurden. Anschliessend konnte ich dann diese Gruppe an Embryos ohne Makrophagen direkt mit den Wildtypen bezüglich der Wundheilung vergleichen und so meine Fragestellung untersuchen.

Mit dieser Methode einer relativ präzisen Änderung der DNA verfügt man auch erstmals über eine Behandlungsmöglichkeit gegen Erbkrankheiten, da man gezielt versuchen kann, die beschädigte Stelle zu reparieren.

Zudem kann der ganze Mutationsprozess nun schneller ablaufen, da nicht gewartet werden muss, bis die gewünschte Mutation allenfalls eintritt oder die Lebewesen mit vorteilhaften genetischen Eigenschaften diese selbstständig (und zufällig) weitervererben, sondern man an der gewünschten Stelle direkt und gezielt etwas verändern kann.

Demgegenüber gibt es jedoch auch Risiken, die hauptsächlich mit der Neuheit dieser Technik zusammenhängen. Da die Genom-Editierung relativ jung ist, existiert noch eine grosse Wissenslücke unter anderem über die Risiken und zukünftigen Auswirkungen. Die intensive Forschung in diesem Bereich ist sehr teuer, was zu einer Verzögerung des Fortschrittes führt (Rey, Lucienne, 2019; Ein molekulares Skalpell für Eingriffe am Erbgut: Chancen und Risiken des Genome Editing).

### **1.2.2 Mutierte Zebrabärblinge**

Für meine Experimente wurde nun in den Zebrabärblingen das Gen «IRF 8» mit der Gentechnik TALENs mutiert. «IRF» ist die englische Abkürzung für «interferon regulatory factor» und ein Oberbegriff für Transkriptionsfaktoren, die im Allgemeinen die Genaktivität regulieren. Das Protein bzw. der Transkriptionsfaktor «IRF 8» hat speziell die Funktion der Entwicklung und Ausbildung gewisser Zellen des Immunsystems, wie zum Beispiel den Makrophagen. Beim Menschen hat «IRF 8» übrigens dieselbe Aufgabe wie beim Zebrafisch. Man kann folglich gewisse Erkenntnisse, die durch die Experimente im Verlauf dieser Arbeit erworben wurden, auch auf den Menschen übertragen (Shiau, Celia *et al.*, 2015: NIH; GENTECHNIK: Transkriptionsfaktoren; Wikipedia 2023: IRF 8).

Proteine (wie «IRF 8») sind in Form von Genen auf der DNA kodiert. Damit diese Informationen in ein fertiges Protein umgewandelt werden können, braucht es den Prozess der Proteinbiosynthese. Dieser Vorgang startet mit der Transkription, welche durch die Transkriptionsfaktoren eingeleitet wird (studyflix: Proteinbiosynthese Abiwissen).

Wenn aber ein Transkriptionsfaktor aufgrund einer Mutation fehlerhaft kodiert ist, dann kann dessen Information auf der DNA nicht abgelesen werden. Folglich kann die Proteinbiosynthese für das betroffene Protein (hier «IRF 8») nicht eingeleitet werden. Da «IRF 8» wesentlich für die spätere Ausdifferenzierung von Makrophagen ist, können die Mutanten deshalb keine Makrophagen entwickeln.

Im Falle meines Experimentes wurden die anderen Transkriptionsfaktoren der Fische jedoch unverändert gelassen, folglich funktionierte die Bildung anderer Proteine wie zuvor (transparenz GENTECHNIK: Transkriptionsfaktoren).

### **1.3 Makrophagen und ihr Einfluss auf die Wundheilung**

Im dritten und letzten Kapitel der theoretischen Grundlagen werde ich auf die Makrophagen, die Wundheilung und auf den Einfluss der Makrophagen auf die Wundheilung eingehen.

#### **1.3.1 Makrophagen**

Die Makrophagen gehören zu den weissen Blutkörperchen (Leukozyten), genauer gesagt zu den Phagozyten, und stellen einen äusserst wichtigen Bestandteil des Immunsystems dar. Eine ihrer Hauptaufgaben ist die Identifikation sowie Beseitigung von feindlichen Zellen wie zum Beispiel Bakterien, Viren und Toxinen.

Darüber hinaus sind sie wichtig für die Entfernung von toten Zellen des eigenen Organismus, die Antigenpräsentation und die Unterstützung der Wundheilung. Da sie die feindlichen Zellen in sich aufnehmen und sie dort zersetzen, werden die Makrophagen auch Riesenfresszellen genannt (Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; Immun, Dettmer, Philipp, 2021; MedLexi.de 2021; studyflix: Makrophage; www.immundefekte.info 2023).

### 1.3.1.1 Aufbau der Makrophagen

Die Makrophagen haben eine durchschnittliche Lebensdauer von 30 - 90 Tagen. Mit einer Grösse von 20 - 60  $\mu\text{m}$  sind sie im Vergleich zu Bakterien (5  $\mu\text{m}$ ) oder Viren (0.1  $\mu\text{m}$ ) sehr viel voluminöser, was das Einfangen und Zersetzen dieser Erreger stark erleichtert.

Der Aufbau einer Makrophage entspricht dem einer eukaryotischen Zelle. Das heisst, sie enthält verschiedene Zellorganellen, die sich gemeinsam mit dem Cytoskelett in der Zellflüssigkeit einlagern. Das Ganze ist

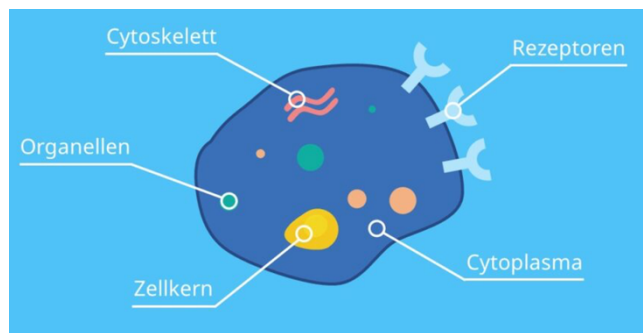


Abb. 3: Aufbau einer Makrophage (studyflix.de 2023)

umschlossen von einer Zellmembran, die die Zelle gegen aussen abgrenzt, und in welcher verschiedene Rezeptoren eingebettet sind (siehe Abb. 3). Bei den Makrophagen haben diese Rezeptoren die besondere Funktion der Feinerkennung sowie der Bindung der Antigen-Antikörper durch das Schlüssel-Schloss-Prinzip. Sie sind also essenziell für die Vernichtung feindlicher Zellen (MedLexi.de 2021; simpleclub: Cytoskelett; studyflix: Makrophage; Pflanzenforschung.de: Cytoplasma; Pflanzenforschung.de: Organell).

### 1.3.1.2 Bildung der Makrophagen

Makrophagen werden nicht als solche gebildet, sondern sie entwickeln sich bei Bedarf aus anderen weissen Blutkörperchen – den Monozyten.

Wie alle weissen Blutkörperchen werden die Monozyten im Knochenmark gebildet. Nach ihrer Bildung zirkulieren sie im Blutstrom, bis sie in Kontakt mit den Zytokinen kommen. Dies sind kleine Proteine, welche unter anderem für das Wachstum und die Ausdifferenzierung von Zellen verantwortlich sind. Beim Kontakt mit diesen Zellen entwickeln sich die Monozyten zu den Makrophagen weiter. Diese Ausdifferenzierung erlaubt ihnen die Ausbildung spezieller Merkmale wie zum Beispiel den Rezeptoren zur Erkennung feindlicher Zellen (Van den Höffel, Natascha *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; MedLexi.de 2021; Studienkreis; viamedici 2023).

### 1.3.1.3 Weg der Makrophage zur Wunde

Neben der Funktion der Ausdifferenzierung und des Wachstums von Zellen haben die Zytokine noch eine weitere wichtige Aufgabe: Sie fungieren als Botenstoffe. Demnach übertragen sie Signale zwischen verschiedenen Zellen an unterschiedlichen Orten im Körper. Am wichtigsten sind die Zytokine aber für das Immunsystem: Sie fordern andere Immunzellen auf, sich zum «Ort des Geschehens», also beispielsweise zu einer Wunde, zu begeben. Wenn eine Zelle bemerkt, dass etwas in ihrem Umfeld nicht in Ordnung ist, sendet sie Zytokine aus. Je mehr davon ausgesendet werden, desto gravierender ist der «Angriff» auf das Immunsystem.

Die kleinen Proteine locken mit ihrer Anwesenheit ausserdem auch noch weitere Zellen, wie zum Beispiel die Makrophagen, an. Letztere können mithilfe ihrer Rezeptoren die Zytokine wahrnehmen und wissen somit, wo sie gebraucht werden. Um dann an diese Stelle zu gelangen, benutzen die Makrophagen ihre Rezeptoren als Orientierungshilfe: Je höher der Zytokin-Prozentgehalt in der Umgebung, desto näher befinden sie sich an der Verletzung. Die Riesenfresszellen müssen sich dann lediglich in die Richtung mit mehr Zytokinen fortbewegen, bis sie den Ort der maximalen Zytokinen-Konzentration und somit auch die Wunde gefunden haben (Abels, Benjamin *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; Immun, Dettmer, Philipp, 2021; GESUNDHEIT.GV.AT: Zytokine; Delves, Peter, 2021: MSD MANUAL; studyflix: Makrophagen; viamedici 2023).

### 1.3.1.4 Phagozytose von schädlichen Zellen

Nachdem die Makrophagen von den Zytokinen informiert wurden und zum Ort des Geschehens gelangten, identifizieren sie zuerst mithilfe der Rezeptoren eine der feindlichen Zellen. Danach zieht die Makrophage diese mit ihren «Armen» zu sich und stülpt einen Teil ihrer Membran über sie, sodass sie von einer Art Blase umschlossen wird. Auf der Abbildung 4 kann man 3 dieser Blasen, auch Vesikel genannt, im Innern einer Makrophage erkennen. Daraufhin wird der Erreger in die Makrophage gesogen. Im Innern der Riesenfresszelle nähern sich dann Lysosome der Blase mit dem eingeschlossenen Bakterium oder Virus und verschmelzen mit ihr.

Anschließend geben die Lysosome Verdauungsenzyme frei, welche die feindliche Zelle in ihre Grundbestandteile zerlegen, also in Aminosäuren, Zucker und Fette. Dieser ganze Prozess wird Phagozytose genannt (siehe Abbildung 5). Einige der entstandenen Bestandteile braucht die Makrophage für sich selbst als Nahrung und die übrigen gibt sie in den extrazellulären Raum ab. Dort können diese dann von anderen Zellen aufgenommen und wiederverwendet werden.

Während der Phagozytose werden zudem weitere Botenstoffe ausgesendet, die noch mehr Makrophagen anlocken. Dies ist beispielsweise essenziell bei einer Infektion, da dort plötzlich sehr viele Antigene im Körper auftauchen, die vernichtet werden müssen. Je mehr Makrophagen die Infektion bekämpfen, desto schneller kann sie dann unter Kontrolle gebracht werden. (Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; Immun, Dettmer, Philipp, 2021; Hagmann, F.-G., 2011: ONKODIN; Studienkreis; studyflix: Makrophagen; Unser Immunsystem, Prof. Dr. Streeck, Hendrik 2021).

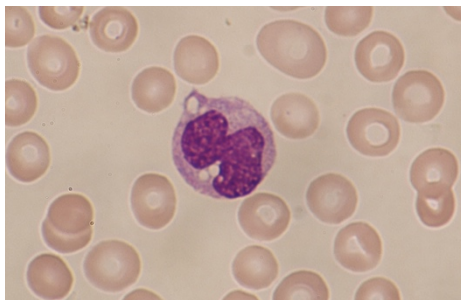


Abb. 4: Drei Vesikel im Innern einer Makrophage (ONKODIN 2011)

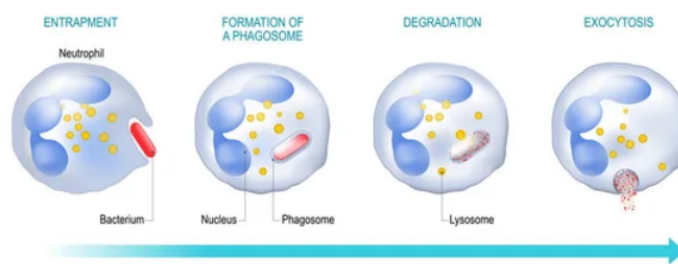


Abb. 5: Der Prozess der Phagozytose (depositphotos, © edesignua, 2023)

### 1.3.2 Wundheilung

Unter dem Begriff der Wundheilung versteht man den körpereigenen, natürlichen Prozess, bei welchem eine Wunde durch den Wiederaufbau des beschädigten Körpergewebes verschlossen wird. Die Wundregeneration ist ein essenzieller Vorgang, um zum Beispiel die Schutzfunktion der Haut für den Körper wiederherzustellen.

Normalerweise wird die Wundheilung in 4 Phasen unterteilt (siehe Abb. 6), welche sich zeitlich überschneiden: die exsudative, die resorptive, die Proliferations- und die

Reparationsphase. Vereinfacht gesagt findet während der ersten beiden Phasen eine Reinigung der Wunde statt und in den letzten beiden Phasen wird hauptsächlich neues Gewebe aufgebaut. Anschliessend folgt ein langer Prozess der Remodellierung (Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; GESUNDHEIT.GV.AT 2023: Wunden und Wundversorgung; Wikipedia 2023: Wundheilung).

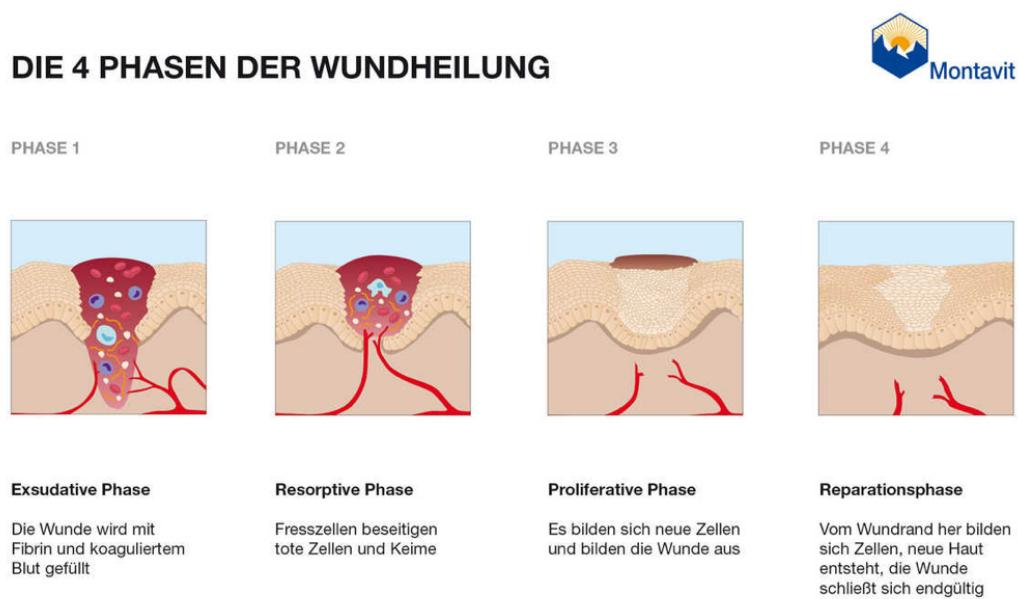


Abb. 6: Die 4 verschiedenen Phasen der Wundheilung (Montavit)

Die Wundregeneration ist ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Prozesse und beteiligter Zellen. Neben den Makrophagen, deren Einfluss auf die Wundheilung in dieser Arbeit untersucht worden ist, sind auch noch Thrombozyten, Entzündungsmediatoren, Fibroblasten, Epithelzellen und verschiedene Strukturproteine beteiligt, um nur eine kleine Auswahl zu nennen. Diese kommen je nach Wundheilungsphase zum Zuge und helfen spezifisch bei der Regeneration. Das zeitlich exakte Zusammenspiel aller Zellen ist unabdingbar für eine erfolgreiche Heilung der Wunde (Oiseth, Stanley *et al.*, 2023: lecturi; Wikipedia 2023: Wundheilung).



### 1.3.3 Einfluss der Makrophagen auf die Wundheilung

Damit die verschiedenen Phasen der Wundheilung reibungslos ablaufen können, ist die rechtzeitige Aktivierung, Differenzierung und Interaktion verschiedener Gewebe- und Immunzellen äusserst wichtig. Für all diese Prozesse spielen die Makrophagen eine bedeutende Rolle (Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon).

Nach einer Verletzung geraten viele Keime in die Wunde. Zu Beginn der Wundregeneration muss die Verletzung von diesen fremden Erregern, aber auch von den körpereigenen toten Zellen, gereinigt werden. Deshalb ist in den ersten beiden Phasen besonders die Phagozytose von Bedeutung. Anschliessend wirken die Makrophagen auch entzündungshemmend. Dies ist wichtig für den Übergang der Anfangsphasen zum Gewebeaufbau (Wikipedia 2023: Wundheilung; Woulgan 2018).

In den letzten beiden Phasen, der Proliferation- sowie der Reparationsphase, sind besonders die Fibroblasten zentral, da sie für den Aufbau des neuen Gewebes in der Wunde verantwortlich sind. Diese Zellen werden von den Makrophagen während des Wundheilungsprozesses mobilisiert. Gleichzeitig aktivieren die Riesenfresszellen Myofibroblasten, die bei der Wundkontraktion eine Schlüsselrolle spielen, und produzieren Zytokine. Letztere beschleunigen den Wachstum des neuen Gewebes zusätzlich (Franz, Sandra und Saalbach, Anja, 2020: Gepris).

Zusammengefasst haben die Makrophagen in allen Wundheilungsphasen wichtige Aufgaben. Ihre Anwesenheit während des gesamten Wundregenerationsprozesses ist von grosser Bedeutung und wirkt sich positiv auf die Heilung aus.

Trotzdem gibt neben den Riesenfresszellen auch noch andere Zellen, welche an der Wundheilung beteiligt sind (Oiseth, Stanley *et al.*, 2023: lecturi; Wikipedia 2023: Wundheilung). Dies ist der Grund, weshalb es auch ohne die Riesenfresszellen zu einer gewissen Heilung der Wunde kommen kann. Jedoch ist diese Regeneration zeitlich verlangsamt und nur unvollständig, denn für eine komplette Heilung sind die Makrophagen unabdingbar. Dies kann man auch auf der folgenden Abbildung (Abb. 7) erkennen (Bundesministerium für Bildung und Forschung Deutschland 2017; Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; Franz, Sandra und Saalbach, Anja,

2020: Gepris; Nguyen-Chi, Mai *et al.*,  
2017: TNF signaling and macrophages  
govern fin regeneration in zebrafish  
larvae; Woulgan 2018).

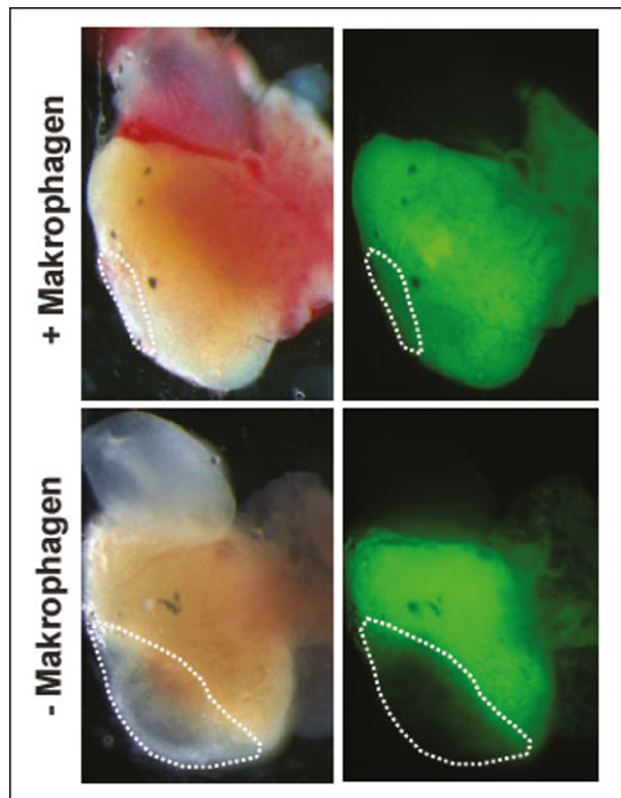


Abb. 7: Vergleich der Wundheilung zwischen Zebrafärblingen mit und ohne Makrophagen: Auf der oberen Zeile die Wundheilung eines Zebrafärblingherzen, wenn der Fisch Makrophagen hat und auf der unteren Zeile solche, wenn der Fisch keine Makrophagen hat. Auf den ersten beiden Bildern (mit Makrophagen) findet eine vollständige Heilung der Wunde statt; ohne Makrophagen wird jedoch ein relativ grosser Teil des Gewebes nicht regeneriert  
© Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Medizinische Klinik

## **2. Einleitung**

### **2.1 Motivation**

Meine Familie mütterlicherseits ist schon seit mehreren Generationen im Fischereiwesen am Bodensee tätig. Daher kam ich schon früh in Kontakt mit dem Wasser und den Lebewesen darin. Als Kind hatte ich zwar immer einen gewissen Respekt vor den Tieren im Wasser (besonders ausgeprägt war meine Angst vor Haien und Krokodilen im Bodensee), doch bin ich aber auch schon seit eh und je fasziniert davon.

Da mein allwöchentlicher Besuch des Bodensees mich sehr prägte, wollte ich meine Matura-Arbeit ursprünglich über das, wie man es auch nennt, schwäbische Meer machen. Meine erste Idee, die Wasserqualität des Sees zu untersuchen, stellte sich aber als nicht durchführbar heraus. Infolgedessen beschloss ich, mich nach einem anderen Thema in diesem Bereich umzusehen.

Daraufhin machte mich mein Betreuer Herr P. Faller auf diese kleinen wundersamen Fische aufmerksam – die Zebrabärblinge. Anfangs war ich noch eher skeptisch, doch schon nach einer kurzen Recherche zogen mich diese Fische immer mehr in ihren Bann und ich beschloss, mich durch meine Matura-Arbeit vertiefter mit ihnen auseinanderzusetzen.

### **2.2 Entwicklung der Fragestellung**

Am spannendsten fand ich von Anfang an die erstaunliche Regenerationsfähigkeit der Zebrabärblinge, da diese dem Menschen fast völlig verwehrt bleibt.

Um zu dieser Thematik auch Experimente durchführen zu können, hatte ich dann an diesem Punkt bereits verschiedene Forschungslabore für ihre Unterstützung und Bereitstellung von Materialien angefragt. Nach einigen E-Mails erklärte sich Frau Prof. Dr. Francesca Peri und ihr Team von der Universität Zürich gerne bereit, mir zu helfen.

Mithilfe meines Betreuers Herr P. Faller und den Spezialisten an der Universität Zürich grenzte ich das Thema schliesslich noch ein wenig mehr ein, da die Wundheilung an sich immer noch viel zu komplex ist, als dass sie vollständig in einer Maturaarbeit behandelt werden könnte. Infolgedessen fokussierte ich mich speziell auf die Rolle der Makrophagen während der Wundregeneration.

Da Fische in der Schweiz jedoch schon ab dem 5. Tag nach dem Schlüpfen unter Tierschutz stehen (Fedlex: Tierschutzgesetz, 2005: Artikel 11 Absatz 1, Artikel 19 Absatz 1), riet man mir, die Experimente an jüngeren Tieren, also an Embryos durchzuführen. Schliesslich gelangte ich nach der ersten Themaänderung und den anschliessenden Eingrenzungen der Thematik bei meiner finalen Fragestellung an, nämlich **welche Rolle Makrophagen bei der Wundheilung in Zebrabärbling-Embryos spielen.**

## 2.3 Ziele

Das Ziel meiner Maturaarbeit war es, zur Wundheilung und spezifisch zu den Makrophagen einen tieferen Einblick zu erhalten und die verschiedenen Prozesse der Wundregeneration besser zu verstehen. Zusätzlich erhoffte ich mir, mit den Experimenten an der Universität Zürich einen Einblick in die Forschungswelt von heute zu erlangen und mit den verschiedenen Laborgeräten vertrauter zu werden. Meine Absicht war es, mit den neu gewonnenen Fähigkeiten beide Experimente selbstständig durchzuführen und schlussendlich die Fragestellung beantworten zu können.

## 2.4 Hypothesen

Bevor die Experimente geplant und die Hypothesen aufgestellt wurden, studierten die Professorinnen der Universität und ich eine Studie über die Wundheilung bei Zebrabärbling-Embryos (Nguyen-Chi, Mai *et al.*, 2017: TNF signaling and macrophages govern fin regeneration in zebrafish larvae). Anhand dieser Studie

planten wir dann gemeinsam das Haupt- sowie das Zusatzexperiment und stellten folgende Hypothesen auf:

1. Die Wunde wird bei allen Fischen zumindest ansatzweise verheilt sein.
2. Die Wundheilung bei den Zebrabärbling-Embryos mit Makrophagen ist ausgeprägter als bei den Embryos ohne Makrophagen.
3. Makrophagen reagieren auf die Verletzung der Schwanzflosse und migrieren als Antwort darauf zur Wundregion.

### 3. Materialien und Methoden

#### 3.1 Materialien

Um meine Experimente durchführen zu können, griff ich auf verschiedene Materialien zurück, die mir von der Universität Zürich zur Verfügung gestellt wurden. Alle beschriebenen Hilfsmittel sind ausserdem auf den Abbildungen 8 und 9 zu finden: links diejenigen für das Hauptexperiment und rechts ergänzend dazu diejenigen für den Zusatzversuch.

Das wichtigste «Material» waren die 3 Tage alten Zebrabärblinge-Embryos. Bei dem zweitägigen Experimentdurchgang arbeitete ich mit ungefähr 50 bis 60 Tieren. Die Embryos lebten dabei in einem speziellen Medium (E3) aus Wasser, Kochsalz, Kalium-, Calcium- und Magnesiumchlorid, welches die natürlichen Wasserbedingungen der Embryos so genau wie möglich nachbildet. Ohne diese Lösung sind die Fische nicht überlebensfähig (Nüsslein-Volhard, C. und Dahm, R., 2002: Zebrafish: A Practical Approach).

Die Verletzung der Tiere wurden dann in Petrischalen durchgeführt (Nunc™ Petri Dishes, ThermoFisher, Katalog-Nummer 263991). Für die Ausführung der Wundzufügung wurde eine Präparier-Nadel verwendet (VWR International GmbH, Katalog-Nummer 631-7159), mit welcher die Zebrabärblinge vor dem Schnitt auch in die gewünschte Position unter dem Lichtmikroskop verschoben wurden (Stereoscope: Stemi 508; Zeiss).

Damit die Embryos sich während des Experimentes nicht bewegten, wurden sie mit ca. 1.5 ml Anästhetikum, einem Beruhigungsmittel, immobilisiert (3-amino benzoic acydehylester; Sigma, Katalog-Nummer A5040). Zudem wurden im Medium ca. 3 ml «PTU» gelöst (N-Phenylthiourea; Sigma, Katalog-Nummer P7629). Dieser Wirkstoff verlangsamt die Ausbildung der Farbpigmente, damit die Beobachtung des Heilvorganges von Auge erleichtert war.

All die verwendeten Mittel bewirkten aber keinen längerfristigen Schaden, sondern hatten nur einen kurzen Einfluss auf die Fische, um die Experimentdurchführung zu erleichtern (KZBV 2023).

Nach dem Fotografieren der Wunde mit einem iPhone 8 wurde das «PTU» ausgewaschen und durch frisches Medium ersetzt. Anschliessend wurden die Embryos in einen Wärmeschrank gebracht (uniINCU 20; LLG Labware), in welchem sie die nächsten 24 Stunden in der bevorzugten Umgebungstemperatur von 28 °C verbringen konnten.

Beim Zusatzexperiment fügte ich die Verletzung ebenfalls mit den oben verwendeten Materialien zu, doch für die anschliessenden Videoaufnahmen der Reaktion der Makrophagen auf die Verletzung benötigte ich noch zusätzliche Materialien. Darunter waren das Gel Agarose (peqGOLD Low Melt Agarose; peqLab Biotechnologie GmbH, Katalog-Nummer 35-2030), welches die Embryos fixierte, und das Fluoreszenzmikroskop (Fluorescence stereoscope: SMZ18; Nikon), durch welches die Makrophagen überhaupt erst sichtbar wurden. An Letzteres wurde ausserdem eine Kamera angeschlossen (Ds-Fi3 Microscope Camera; Nikon, Katalog-Nummer MQA18000), die regelmässige Bilder der Makrophagen aufnahm.

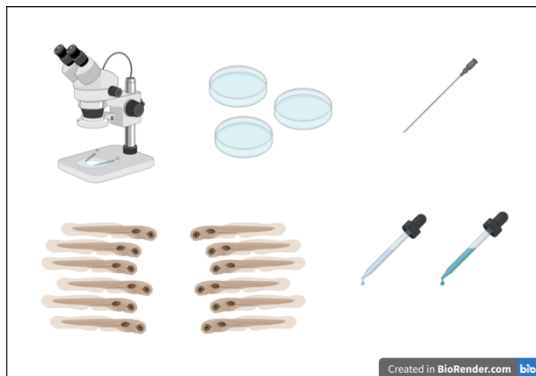


Abb. 8: Materialien für das Hauptexperiment (v.l.n.r.: ein Lichtmikroskop, verschiedene Petrischalen, eine Präparier-Nadel, Zebrafisch-Embryos mit und ohne Makrophagen, das Anästhetikum und das „PTU“)

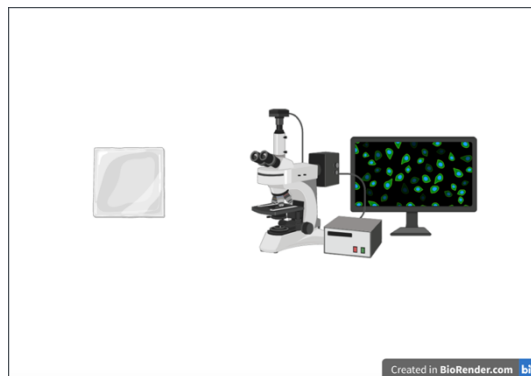


Abb. 9: Weitere Materialien für das Zusatzexperiment (v.l.n.r.: Agarose und ein Fluoreszenzmikroskop mit angeschlossener Kamera)

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Hauptexperiment

Vor der richtigen Durchführung der Experimente machte ich zuvor am 25. und 26. Mai einen Vorversuch. Bei diesem wurde das Experiment exakt so durchgeführt wie später das Hauptexperiment, um den Ablauf sowie die Verletzungszufügung in Ruhe zu üben und die Geräte kennenzulernen. Jedoch wurde die Auswertung des Versuches dann lediglich von Auge vollzogen, weshalb die Resultate nicht verwendet werden konnten. Durch diesen Übungsprozess war ich aber gut vorbereitet auf die richtige Experimentdurchführung am 5. und 6. Juli 2023, da das Hauptexperiment dann aufgrund der bereits gesammelten Erfahrung relativ schnell und exakt durchgeführt werden konnten.

Bevor letzteres begann, wurden die Embryos in verschiedene Petrischalen aufgeteilt, pro Schale 12 Fische. Insgesamt wurden 4 verschiedene Schalen benutzt, 2 für die Zebrabärblinge mit Makrophagen, 2 für diejenigen ohne. Für die Immobilisierung der Fische wurde vor der Wundzufügung ca. 1.5ml Anästhetikum in jede Schale gegeben. Danach wurden die Tiere mit der Präparier-Nadel in der Mitte der Petrischale nebeneinander aufgereiht.

Anschliessend wurde mit der grössten Vergrösserung des Lichtmikroskops auf einen Embryo fokussiert und es wurde ihm einen ca. 1mm langen Schnitt in die Schwanzflosse zugefügt. Nachdem mit allen Zebrabärblingen so verfahren wurde, wurden die einzelnen Wunden abfotografiert und die Tiere wurden jeweils getrennt in eine eigene kleine Schale transferiert. Dies hatte den Zweck, dass ich am nächsten Tag noch genau wusste, wo sich welcher Fisch befand. Schlussendlich wurden die Tiere in einen Wärmeschrank gebracht, in welchem sie während den nächsten 24 Stunden regenerieren konnten.

Vor dem Fotografieren der Wundgrösse am nächsten Tag, dem 6. Juli 2023, wurde erneut ca. 1.5ml Anästhetikum in das Medium getropft, damit sich die Tiere für die Fotos nicht bewegten. Mithilfe der Bilder wurde dann später die prozentuale Wundheilung jedes Zebrabärbling-Embryos berechnet.



### 3.2.2 Zusatzexperiment

Zusätzlich zum Hauptexperiment wurde das Verhalten und die Bewegung der Makrophagen nach der Wundzufügung gefilmt, um die 3. Hypothese zu überprüfen (siehe Kapitel 2.4). Die für diesen Versuch vorgesehenen Embryos wurden zuvor genetisch so manipuliert, dass ihre Makrophagen fluoreszieren. Dies ermöglichte eine visuelle Verfolgung der Riesenfresszellen durch das Fluoreszenzmikroskop.

Die Wunde wurde für dieses Experiment genauso zugefügt wie beim Hauptexperiment (siehe Kapitel 3.3.1), jedoch wurden die hier verwendeten Embryos unmittelbar nach dem Zufügen der Verletzung in Agarose gebettet. Letztere fixierte die Tiere zusätzlich zum Betäubungsmittel, ohne ihnen Schaden zuzufügen.

Anschliessend wurden die Zebrafische in einen Dunkelraum zum Fluoreszenzmikroskop gebracht, an welches eine Kamera angeschlossen war, die über einen Zeitraum von 90 Minuten hinweg alle 5 Minuten ein Bild der Position der Makrophagen machte. Diese einzelnen Bilder konnten schliesslich zu einem kurzen Film zusammengefügt werden, welcher das Verhalten und die Bewegung der Makrophagen nach der Wundzufügung zeigt.

### 3.3 Experimentauswertung

Am Ende des Hauptexperimentes hatte ich dann wie oben erwähnt von jedem Embryo und seiner Schnittwunde 2 Fotos; eines direkt nach dem Zufügen der Wunde und das andere ungefähr 24 Stunden danach. Für die Berechnung der Wundheilung konnte dann von diesen mithilfe des Programms «Fiji» die jeweilige Wundgrösse gemessen werden: Zuerst wurde das erste Foto (direkt nach der Wundzufügung) des verletzten Embryos eingefügt und auf 150% vergrössert. Danach wurde, wie auf der Abbildung 10 zu sehen ist, die Verletzung gelb markiert. Von dieser Fläche konnte das Computerprogramm dann die Anzahl Pixel und somit die Wundgrösse berechnen. Anschliessend wurde wieder dieselbe Wunde, aber dieses Mal 24 Stunden nach der Verletzung, vermessen. Die Daten wurden anschliessend in eine Tabelle übertragen. Dieser Vorgang wurde dann mit allen restlichen Tieren wiederholt.

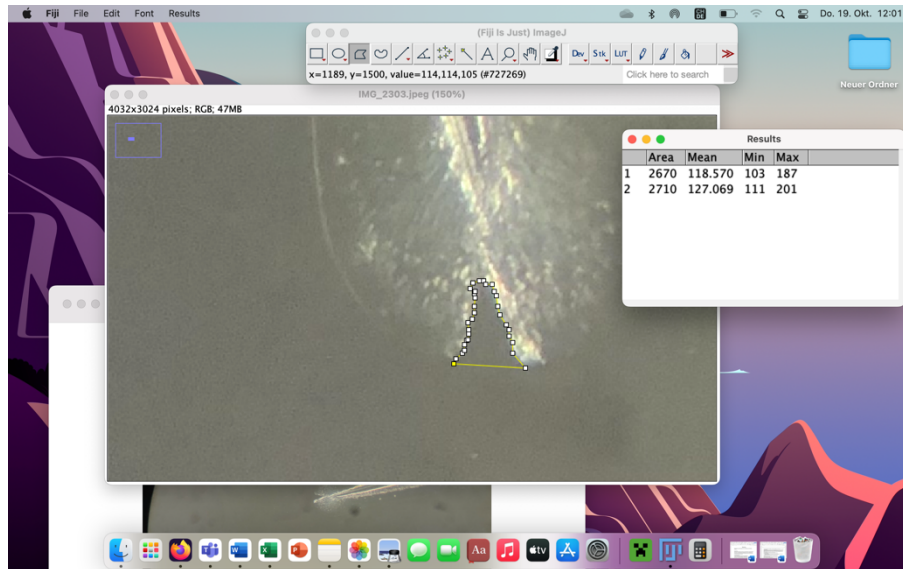


Abb. 10: Messen der Wundgrösse mit dem Programm "Fiji"

Da man den Schnitt jedes Mal einzeln von Hand markieren musste, gab es bei Messungen von ein und derselben Flosse aufgrund des natürlichen menschlichen Fehlers leichte Abweichungen in der Pixelzahl. Diese betrug ca. 1.5%. Um dem entgegenzuwirken, wurde jede Wunde mindestens 3-mal markiert und gemessen. Schliesslich wurde dann mit dem Durchschnitt aller 3 Resultate gearbeitet.

Zusätzlich zur Wundgrösse wurde von jedem Fisch auch der Gesamtumfang der Schwanzflosse gemessen, damit die Verletzung jeweils in einem Grössenverhältnis stand. Dies war wichtig, da einige Fische ungleiche Wundgrössen aufwiesen. Aufgrund dieser unterschiedlichen Ausgangslagen für die Wundheilung war es nicht möglich, nur die insgesamt regenerierte Fläche zwischen beiden Fischgruppen zu vergleichen. Um trotzdem eine Gegenüberstellung der Wundregeneration zwischen den Wildtypen sowie den Mutanten durchführen zu können, musste der prozentuale Anteil der Wunde an der Gesamtflosse ausgerechnet werden. Diese Prozentwerte konnten dann anschliessend miteinander verglichen werden.

Nachdem alle Messungen durchgeführt waren, wurden die Daten in eine Excel-Tabelle übertragen. Dabei wurden die Fische geordnet nach ihrem Erbbild (ob Wildtyp oder Mutant) und nach der Schale, in welche sie nach der Wundzufügung gebracht worden waren (Fisch Nummer). Die Mutanten wurden aufgrund des modifizierten Gens «IRF 8 -/-» genannt.

Nachdem von jedem Fisch der prozentuale Anteil der Wunde an der Gesamtflosse direkt nach der Wundzufügung und 24 Stunden danach ausgerechnet worden war, erhielt man durch das Subtrahieren beider Werte die finale Wundheilung des Zebrabärblings in Prozent. Dies wurde dann bei allen Fischen so wiederholt. Daraufhin wurde der Durchschnitt aller Prozentwerte von den Embryos mit und ohne Makrophagen ausgerechnet und verglichen. Auf diese Weise konnte man dann die endgültige Wundheilung beider Gruppen gegenüberstellen. Auf der Abbildung 11 befindet sich ein Ausschnitt der Excel-Tabelle mit den Messdaten und Berechnungen.

In der Tabelle ist ersichtlich, dass die Embryos ab und zu mehr als nur eine Wunde in der Schwanzflosse aufweisen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass durch die Zurechtlegung der Embryos mit der Präparier-Nadel manchmal noch eine zusätzliche kleine Wunde entstanden ist. Durch den Grössenunterschied ist sie aber deutlich unterscheidbar von der eigentlichen Wunde.

Die Professorinnen der Universität Zürich erläuterten, dass es für die Wundheilung keine Rolle spielt, wie viele kleine Verletzungen ein solcher Fisch hat. Wichtig ist nur, wie gross die Wundfläche insgesamt ist. Auf diese Fläche verteilen sich dann die Makrophagen und andere Immunzellen, um gemeinsam den Prozess der Wundregeneration einzuleiten.

Fisch No.	Genotyp	3 Tage-alte Embryos					Summe der Wunden		Prozent an verletzter Flosse	
		Fläche der Verletzung					Fläche der Finne	Durchschnitt von Prozent der verletzten Flosse		
		Wunde 1	Wunde 2	Wunde 3	Wunde 4	Wunde 5				
Gr. 1 A1	IRF 8 -/-	1925	612				2537	35759	7.09%	5.55%
Gr. 1 A2	IRF 8 -/-	1021					1021	34582	2.95%	
Gr. 1 A3	IRF 8 -/-	860	329	1732	175		3096	49404	6.27%	
Gr. 1 A4	IRF 8 -/-	2278					2278	45916	4.96%	
Gr. 1 B1	IRF 8 -/-	2571	164				2735	48769	5.60%	
Gr. 1 B2	IRF 8 -/-	3040					3040	42206	7.20%	
Gr. 1 B3	IRF 8 -/-	1783					1783	36156	4.93%	
Gr. 1 B4	IRF 8 -/-	2320					2320	44036	5.27%	
Gr. 1 C1	IRF 8 -/-	1198					1198	52670	2.27%	
Gr. 1 C2	IRF 8 -/-	470	2078				2548	42507	5.99%	
Gr. 1 C3	IRF 8 -/-	2893					2893	49305	5.87%	
Gr. 1 C4	IRF 8 -/-	461	664	2264			3389	41192	8.23%	

Abb. 11: Ein Ausschnitt der Excel-Tabelle mit allen Messdaten und den berechneten Prozentsätzen:

«IRF 8 -/-» bedeutet, dass bei diesen Fischen der Transkriptionsfaktor «IRF 8» modifiziert wurde, was zur Folge hatte, dass diese Zebraärbling Embryos keine Makrophagen entwickelten. Die Fischnummern beziehen sich auf die Schale, in welche der Fisch nach der Wundzufügung transferiert wurde. Die Werte der einzelnen Wundgrößen sind in Pixel aufgelistet und wurden in «Summe der Wunden» zusammengezählt. Aus dieser Gesamtzahl aller Wundgrößen und der danebenstehenden Gesamtfläche der Flosse wurde dann die «Prozent an verletzter Flosse» ausgerechnet. Dies steht für den Anteil der Wunde an der ganzen Schwanzflosse. Daneben steht der Durchschnitt aller Prozentwerte der hier dargestellten Fischgruppe, diese Zahl wurde dann mit den Werten der anderen Gruppen verglichen.

## 4. Resultate

### 4.1 Hauptexperiment

Die Berechnungen der einzelnen Wundheilungen lieferten folgende Resultate: Die Wildtypen weisen eine durchschnittliche Wundheilung von 4.995% und die Zebrabärbling-Embryos ohne Makrophagen eine durchschnittliche Heilung von 3.605% auf (siehe Abb. 12). Der Anhang dieser Arbeit enthält die komplette Exceltabelle mit den einzelnen Prozentwerten und den Rechnungsschritten bis zu diesem Resultat. Auf der Abbildung 13 ist zusätzlich die Standardabweichung der verschiedenen Wundgrößen eingezeichnet, in blau diejenige der Wildtypen und in orange diejenige der Embryos ohne Makrophagen.

Zur Illustration des Wundheilungsprozesses ist auf den nachfolgenden Abbildungen 14 - 19 der Wundheilungsfortschritt von drei Embryos zu sehen. Dabei ist das Foto direkt nach der Wundzufügung jeweils demjenigen 24 Stunden später gegenübergestellt.

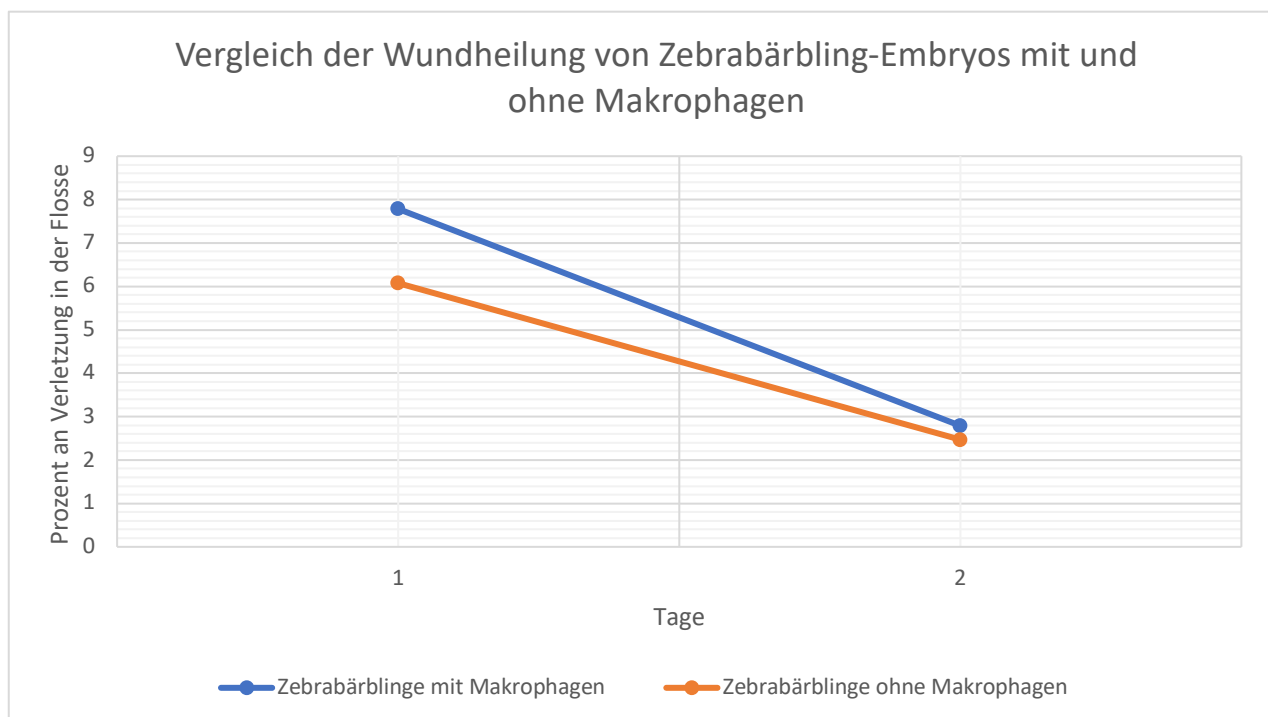


Abb. 12: Vergleich der Wundheilung zwischen Zebrabärbling-Embryos mit und ohne Makrophagen

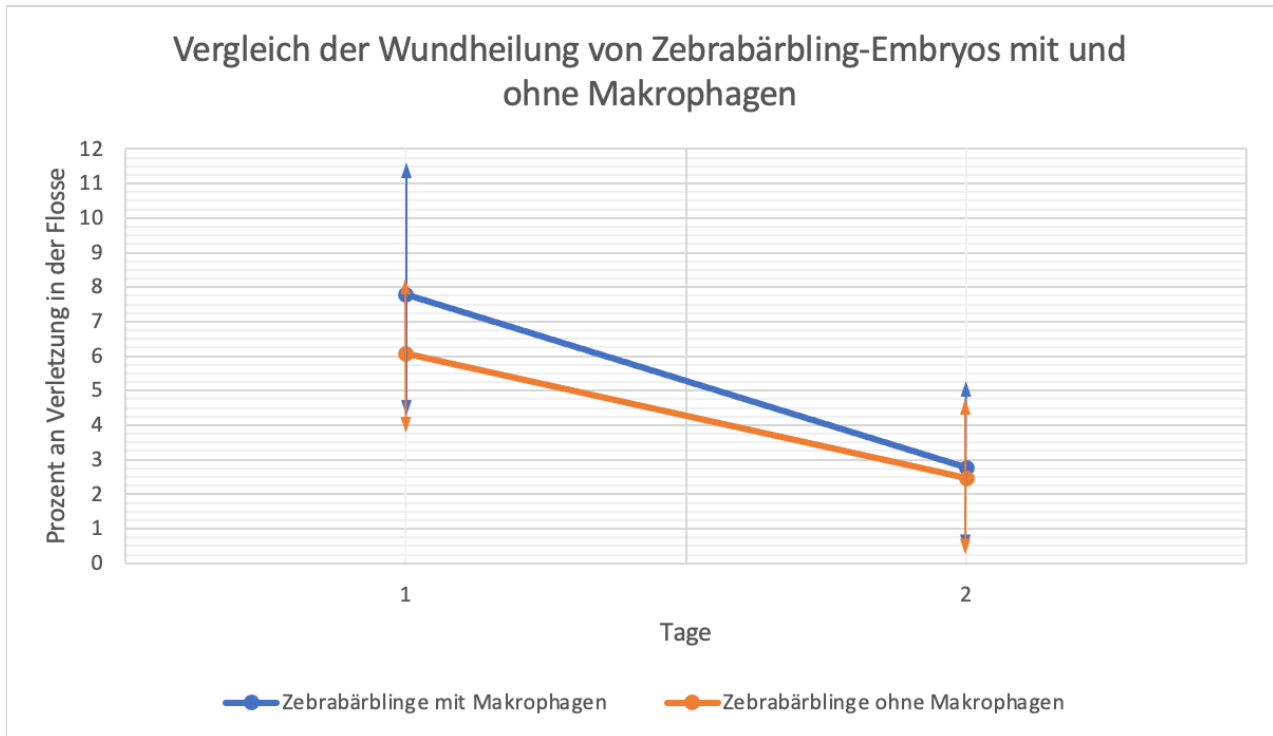


Abb. 13: Standardabweichung der verschiedenen Wundgrößen; in blau die Standardabweichung der Wildtypen und in orange diejenige der Embryos ohne Makrophagen



Abb. 14: Wildtyp (mit Makrophagen); Gruppe 2, C2; Wunde (rot umkreist) direkt nach der Verletzung der Schwanzflosse

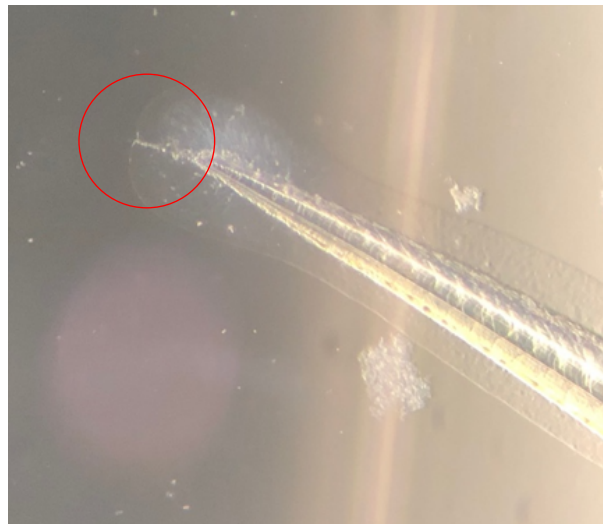


Abb. 15: Wildtyp (mit Makrophagen); Gruppe 2, C2; Wunde (rot umkreist) 24 Stunden nach der Verletzung der Schwanzflosse



Abb. 16: Fisch der Gruppe «IRF 8 -/-» (ohne Makrophagen); Gruppe 2, A2; Wunde (rot umkreist) direkt nach der Verletzung der Schwanzflosse



Abb. 17: Fisch der Gruppe «IRF 8 -/-» (ohne Makrophagen); Gruppe 2, A2; Wunde (rot umkreist) 24 Stunden nach der Verletzung der Schwanzflosse

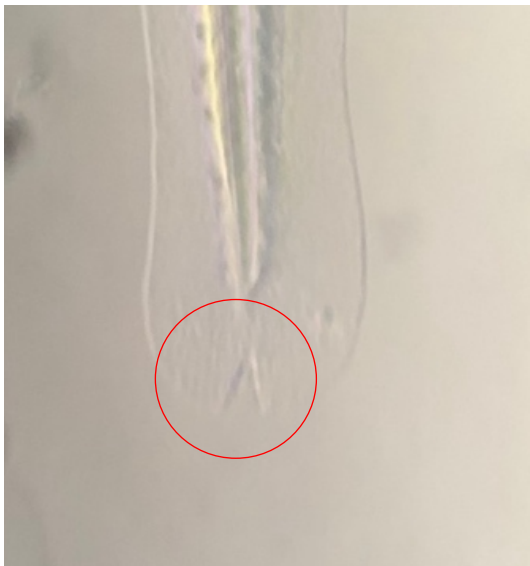


Abb. 18: Fisch der Gruppe «IRF 8 -/-» (ohne Makrophagen); Gruppe 1, C3; Wunde (rot umkreist) direkt nach der Verletzung der Schwanzflosse



Abb. 19: Fisch der Gruppe «IRF 8 -/-» (ohne Makrophagen); Gruppe 1, C3; Wunde (rot umkreist) 24 Stunden nach der Verletzung der Schwanzflosse

## 4.2 Zusatzexperiment

Als Zusatzexperiment habe ich das Verhalten und die Bewegung der Makrophagen nach dem Schnitt gefilmt. Die Aufnahmen starteten direkt nach dem Zufügen der Verletzung und dauerten insgesamt 90 Minuten, da zu diesem Zeitpunkt die Migration der meisten Makrophagen abgeschlossen war.

Während des Videos kann man deutlich erkennen, dass sich die Mehrheit der sichtbaren Makrophagen unmittelbar nach dem Zufügen der Verletzung in Richtung der Wunde bewegt. Auf den unten angehängten Standbildern vom Anfang und Ende des kurzen Filmes ist farbiger der Weg mehrerer Makrophagen zur Wunde zu erkennen (Abbildung 20 und 21). Die beiden vollständigen Videos (original und mit nachträglich eingefärbten Makrophagen) sind im Anhang zu finden.

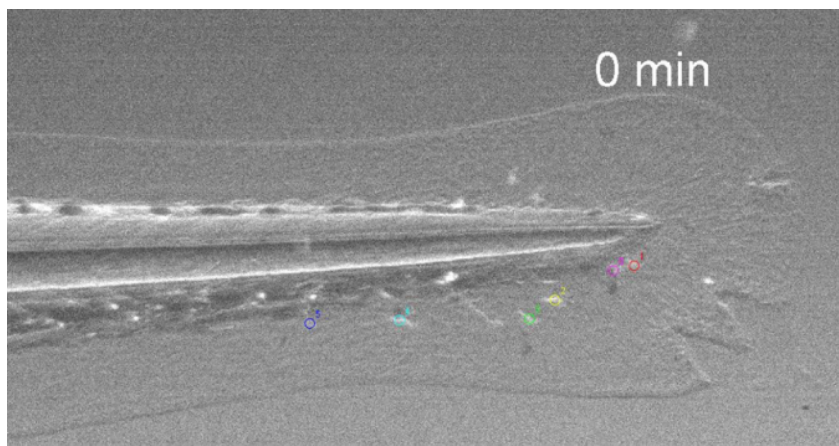


Abb. 20: Makrophagen gleich nach dem Zufügen der Wunde (noch am ursprünglichen Ort)

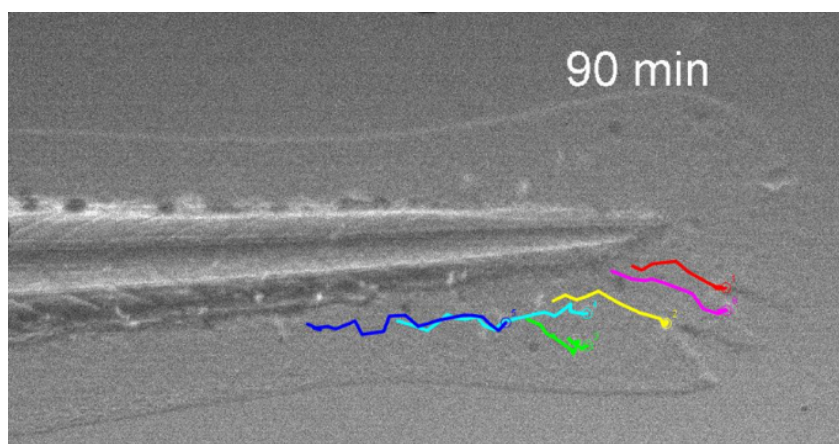


Abb. 21: Makrophagen 90 Minuten nach dem Zufügen der Wunde (migriert)



## 5. Diskussion

### 5.1 Diskussion

Für die Diskussion der Experimente beziehe ich mich auf die Abbildungen 12, 20 und 21 aus Kapitel 4. Darunter befinden sich das Diagramm mit dem Vergleich der Wundheilung zwischen den Wildtypen und den Mutanten sowie die beiden Standbilder des kurzen Videos, welches das Verhalten und die Bewegung der Makrophagen nach der Wundzufügung zeigt.

#### 5.1.1 Diskussion des Hauptexperimentes

Die in Kapitel 4.1 dargestellten Ergebnisse konnten aufgrund gewisser Komplikationen nicht aus allen Versuchstieren ermittelt werden. Von den insgesamt 48 Versuchstieren konnte bei einem wegen mangelhafter Bildqualität keine Wundmarkierung und somit auch keine Beurteilung der Heilung dieses Fisches stattfinden. Ferner wurden 2 Embryos vor der Experimentauswertung tot aufgefunden, doch laut den Expertinnen wohl unabhängig von den Versuchen. In seltenen Fällen schien zudem die Gesamtgrösse der Schwanzflosse über Nacht geschrumpft zu sein, was jedoch unmöglich ist. Möglicherweise ist bei den betroffenen Tieren die Wirbelsäule stärker gewachsen als bei den anderen Fischen. (Bei der Messung der Gesamtgrösse der Schwanzflosse wurde jeweils vom Ende der Wirbelsäule aus gemessen. Wenn letztere aber bei den betroffenen Tieren vergleichsweise stärker gewachsen wäre, hätte sich bei ihnen die Position der Messung weiter in Richtung Schwanzflosse verschoben.) Das würde dazu führen, dass ihre Flosse im Vergleich zu Embryos mit durchschnittlichem Wirbelsäulenwachstum kleiner erscheint. Aufgrund des eigenartigen Wachstumswertes konnte ich die betroffenen Fische jedoch nicht für die Experimentauswertung berücksichtigen. Neben den oben beschriebenen Fällen hatte ich aber immer noch genügend andere Fische für eine gründliche Auswertung der Experimente.

Meine beiden Hypothesen für das Hauptexperiment lauteten, dass alle Fische die Wunde zumindest ansatzweise regenerieren und dass die Wildtypen nach 24 Stunden eine ausgeprägtere Wundregeneration als die Embryos ohne Makrophagen aufweisen.

Laut den Resultaten in Kapitel 4.1 haben die Wildtypen eine durchschnittliche Wundregeneration von 4.995% und Embryos ohne Makrophagen eine durchschnittliche Heilung von 3.605%. Anhand der Prozentzahlen erkennt man den höheren Wundheilungswert der Wildtypen. Sie regenerieren um beinahe 1.4% mehr als die Embryos ohne Makrophagen. Dies ist ebenfalls im Diagramm in Kapitel 4.1 durch den Vergleich der Linien ersichtlich (Abbildung 12): Die blaue Linie der Wildtypen ist steiler als die orange der IRF 8-Mutanten. Dies weist auf einen ausgeprägteren Wundheilungsprozess über die vorgegebene Zeit hinweg hin. Trotzdem zeigen aber beide Gruppen eine gewisse Regeneration der Wunde auf, denn sowohl die Embryos mit Makrophagen als auch diejenigen ohne haben kleinere Wundgrößen als am Tag zuvor.

Dass die Tiere ohne Makrophagen ebenfalls regenerieren, hängt mit der Komplexität des Wundheilungsprozesses zusammen. Die Regeneration einer Wunde hängt von vielen verschiedenen Faktoren ab, die zeitlich exakt koordiniert sein müssen. Die Makrophagen spielen zwar eine wichtige Rolle während des ganzen Regenerationsprozesses, doch für eine partielle Wundheilung sind sie nicht essenziell, da viele weitere Zellen ebenfalls beteiligt sind (Oiseth, Stanley *et al.*, 2023: lecturi; Wikipedia 2023: Wundheilung; Woulgan 2018).

Nichtsdestotrotz wurde durch die Resultate bestätigt, dass die Makrophagen eine derart wichtige Rolle im Regenerationsprozess spielen, dass nach 24 Stunden bereits ein merklicher Unterschied in der Wundheilung zwischen den Zebrabärbling-Embryos mit und ohne Makrophagen erkennbar ist. Diese verbesserte Wundregeneration von Tieren mit Makrophagen im Vergleich zu solchen ohne deckt sich mit dem heutigen Wissensstand und auch dem Resultat der Studie, an welche wir unser Experiment angelehnt haben (Nguyen-Chi, Mai *et al.*, 2017: TNF signaling and macrophages govern fin regeneration in zebrafish larvae). Laut einer anderen Studie (Bundesministerium für Bildung und Forschung Deutschland 2017) kann es ohne Makrophagen gar nicht zu einer vollständigen Wundheilung kommen, da die

Riesenfresszellen während des ganzen Wundheilungsprozesses dafür zu wichtige Funktionen ausführen (Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; Franz, Sandra und Saalbach, Anja, 2020: Gepris).

Auch wenn unsere Experimentplanung im Wesentlichen auf der Studie von Nguyen-Chi und ihrem Team basierte, wiesen unsere Experimente doch einige Unterschiede in der Durchführung auf. Da dies möglicherweise Auswirkungen auf das Endergebnis hatte, werde ich in den folgenden Abschnitten kurz darauf eingehen und die wesentlichen Abweichungen unseres Experimentes von der Studie genauer erläutern.

Ein grosser Unterschied war die Grösse der Wundfläche: Im Gegensatz zum kleinen Schnitt bei meinem Experiment wurde in der Studie die gesamte Schwanzflosse amputiert. Dies hatte unter anderem den Vorteil, dass aufgrund ähnlicher Wundgrössen aller Fische der Vergleich der Wundheilung unkomplizierter war.

Zudem wurde der Wundheilungsfortschritt ihrer Embryos deutlich häufiger überprüft als in meinem Experiment. Das Team der Studie führte insgesamt 5 Kontrollen der Wundregeneration (nach 6, 20, 24, 48 und 72 Stunden) durch, ich hingegen lediglich eine nach 24 Stunden. Dies ergab für Nguyen-Chi und ihr Team ein geschlosseneres und somit aussagekräftigeres Bild des gesamten Wundheilungsprozesses.

Ein weiterer Unterschied ist die Häufigkeit der Durchführung des Experimentes. Um in der Wissenschaft ernst genommen zu werden, muss man laut den Professorinnen der Universität Zürich seine Experimente mindestens dreimal unter den exakt selben Bedingungen durchführen, damit die finalen Ergebnisse u.a. unabhängig von der Tagesform der forschenden Person seien. Zudem sei die Verwendung vieler Versuchsobjekte notwendig, denn je mehr erhobene Daten, desto exakter das Ergebnis. Die mehrfache Durchführung und die Verwendung von noch mehr Embryos waren im Rahmen der Matura-Arbeit jedoch nicht möglich.

Doch trotz den oben genannten Unterschieden in der Durchführung entsprechen sich die Endresultate beider Experimentdurchgängen, nämlich dass sich die Anwesenheit der Makrophagen positiv auf den Wundheilungsprozess auswirkt.

Während in meinem Experiment der Unterschied der Wundheilung zwischen Wildtypen und Mutanten ca. 1.5% betrug, war er in der Studie deutlich ausgeprägter:

Die Schwanzflosse der Tiere mit Makrophagen wuchs um ca. 170  $\mu\text{m}$ , während diejenige der Embryos ohne Makrophagen lediglich ein durchschnittliches Wachstum von 60  $\mu\text{m}$  aufzeigte. In der Studie sind jedoch ausschliesslich die Endwachstumswerte aufgelistet, nicht aber die Anfangswerte, weshalb man eine Heilungsrate in Prozent nicht ausrechnen kann. Dies erschwert einen direkten Vergleich unserer beider Endergebnisse.

Zusätzlich zum oben genannten Resultat wurden in der Studie, welche von mehreren zusammenarbeitenden Laboren lanciert wurde, auch noch weiterführend die verschiedenen Unterarten der Makrophagen untersucht. Darauf kann ich an dieser Stelle jedoch nicht weiter eingehen, da es den Rahmen dieser Matura-Arbeit sprengen würde.

Auch wenn beide Endergebnisse die gleiche Tendenz aufweisen, ist das Ergebnis der Studie doch um einiges klarer ausgefallen als das meine. Nguyen-Chi und ihr Team hatten einen grossen Unterschied in der Wundheilung zwischen Embryos mit und ohne Makrophagen festgestellt, in meinem Experiment hingegen ist die Differenz der Wundregeneration deutlich geringer ausgefallen. Gründe dafür könnten zum Beispiel die zu kleine Wundgrösse, die zu seltene und zu wenig lange Überprüfung der Wundheilung oder möglicherweise eine zu geringe Anzahl an Zebrabärbling-Embryos als Versuchsobjekte sein. Wahrscheinlich wäre besonders bei einer grösseren Wundfläche und bei einer längeren Regenerationszeit (z.B. 72 Stunden statt 24) der Unterschied der Wundheilung zwischen Wildtypen und Mutanten deutlicher gewesen.

Trotzdem konnten die 1. und 2. Hypothese (siehe Kapitel 2.4) meiner Matura-Arbeit bestätigt werden: Es trifft zu, dass die Wunden von beiden Gruppen sich zumindest etwas schliessen konnten. Ebenfalls konnte in dieser Arbeit die Bedeutung der Anwesenheit von Makrophagen für die Wundheilung hervorgehoben werden. Zebrabärbling-Embryos mit Makrophagen regenerieren in der vorgegebenen Zeit effizienter als Embryos ohne. Demnach konnte die 2. Hypothese ebenfalls bestätigt werden.

### 5.1.2 Diskussion des Zusatzexperimentes

Meine Hypothese für das Zusatzexperiment war, dass Makrophagen auf die Verletzung reagieren und als Antwort darauf zur Wundregion migrieren.

Auf den Videos im Anhang (oder auf den Standbildern 20 und 21) kann man deutlich eine Reaktion der Makrophagen auf die Wundzufügung feststellen: Innerhalb 90 Minuten verlassen sie den Ort, an welchem sie sich vor der Verletzung befunden haben, und migrieren zur Wundregion. Diese Bewegung der Riesenfresszellen zur Wunde steht im Einklang mit dem Ergebnis des Hauptexperimentes und dem aktuellen Wissensstand, dass sich die Anwesenheit von Makrophagen positiv auf die Wundheilung auswirkt (Nolte, Janica *et al.*, 2023: DocCheck Flexikon; Franz, Sandra und Saalbach, Anja, 2020: Gepris; Nguyen-Chi, Mai *et al.*, 2017: TNF signaling and macrophages govern fin regeneration in zebrafish larvae; Woulgan 2018).

Um die Wundregeneration überhaupt beeinflussen zu können, müssen die Makrophagen in unmittelbarer Nähe der Verletzung selbst sein, da ansonsten keine direkte Einwirkung möglich ist. Diese Reaktion und Migration der Makrophagen zur Wundregion, um die Regeneration dort positiv zu beeinflussen, wurde anhand des aufgezeichneten Videos eindrucksvoll demonstriert (Bundesministerium für Bildung und Forschung Deutschland 2017).

Die 3. Hypothese, dass Makrophagen auf den Schnitt reagieren und sich zur Wunde bewegen, konnte also ebenfalls bestätigt werden.

## 5.2 Schwierigkeiten

Die grösste Schwierigkeit meiner Matura-Arbeit war, angesichts unerwarteter Ergebnisse und der aufwendigen Auswertung beider Experimente, nie die Zuversicht zu verlieren. Insbesondere während der Experimentauswertung, die lange Zeit nicht im Einklang mit der gängigen Theorie zu stehen schien und die viel Zeit in Anspruch nahm, erlebte ich kurzzeitig einen Motivationsverlust.

Ausserdem hatte ich anfangs Probleme mit dem Auswertungsprogramm «Fiji». Ich musste die Markierung einer einzelnen Wunde ungefähr 10 Stunden ein ums andere Mal wiederholen, bis ich den Dreh endlich herausgefunden hatte. Schliesslich

verbrachte ich dann weitere 30 - 40 Stunden nur mit der Messung und Berechnung der Wundgrößen, bevor ich damit beginnen konnte, die Ergebnisse auszuwerten. Auch während des weiteren Messens der Wundgrößen gab es einige Hindernisse wie unscharfe Fotos oder eigenartige Resultate. Doch für alle Unstimmigkeiten wurde schlussendlich, wie anfangs Kapitel beschrieben, eine mögliche Erklärung gefunden und ich konnte weiterfahren.

Im Endeffekt lohnten sich aber die viele Arbeit und Geduld, als ich nach all den Stunden des Zählens, Berechnens und Auswertens ein Resultat bekam, welches mit der gängigen Theorie übereinstimmte.

### **5.3 Optimierungsvorschläge**

Nach der Versuchsplanung, Durchführung, Auswertung und dem Vergleich mit der Studie sind mir einige Punkte aufgefallen, die ich bei einer zukünftigen Wiederholung dieses Experimentes anders handhaben würde. Dazu gehört zum Beispiel die zeitliche Kontrolle der Wundheilung. Um mehr Ergebnisse und einen klareren Verlauf des Regenerationsprozesses sehen zu können, würde ich öfters und über einen längeren Zeitraum hinweg (zum Beispiel alle 6 Stunden bis zu 72 Stunden nach der Verletzung) jeden einzelnen Fisch fotografieren und die Wundheilung dann in vielen kleinen Schritten berechnen. So könnte man sich einen detaillierteren Überblick über die Unterschiede in der Wundheilung zwischen Zebrabärbling-Embryos mit und ohne Makrophagen verschaffen.

Ausserdem wäre es für die Experimentauswertung von Vorteil, wenn ich bei allen Fischen ähnlich grosse Wunden zufügen könnte, wie dies in der Vergleichsstudie gemacht wurde. Dafür könnte entweder wie in der Studie die ganze Schwanzflosse amputiert werden oder ich könnte noch mehr üben, meine Hand ruhig zu halten, um einen präziseren Schnitt anzufertigen. Eine höhere Präzision der Stelle und des Ausmasses der Verletzung ist zwar aufgrund der kleinen Grösse der Fische ziemlich schwierig, jedoch in meinem Falle sicherlich noch weiter optimierbar.

Ferner würde ich für die Fotos zukünftig ein anderes Gerät verwenden, da das hier verwendete Handy relativ alt und dementsprechend die Kameraqualität nicht sehr gut

ist. Smartphones werden ausserdem für den Alltagsgebrauch konstruiert und nicht für das Fotografieren sehr kleiner Objekte, wie im Falle dieser Experimente. Dies war manchmal etwas mühsam bei der Markierung der verletzten Fläche für die Wundgrössenberechnung, da aufgrund leicht unscharfer Fotos der Übergang von Wunde und Flosse teilweise nicht klar definierbar war. Bei einem nächsten Experimentdurchgang wäre ein moderneres, für derartige Aufnahmen hergestelltes Kameragerät definitiv von Vorteil.

Schliesslich würde ich bei einem Experiment unter anderen Umständen (nicht für eine Abschlussarbeit) neben den Professorinnen, die mich in dieser Arbeit unterstützt haben, auch noch zusätzliche Expertise von weiteren Personen einbringen wollen. Dies würde einerseits die Legitimität der Ergebnisse erhöhen, da verschiedene Forschende die Experimente durchführen, auswerten und alles überprüfen würden. Andererseits wäre es auch deutlich zeitsparender, da verschiedene Aufgaben gleichzeitig durchgeführt werden könnten.

## **5.4 Fazit**

In meiner Matura-Arbeit fokussierte ich mich auf die Fragestellung, welche Rolle die Makrophagen bei der Wundheilung in Zebraabärbling-Embryos spielen. Basierend auf den Ergebnissen meiner Experimente und dem Vergleich mit dem aktuellen Wissensstand kann ich den Schluss ziehen, dass die Anwesenheit von Makrophagen einen positiven Einfluss auf die Wundheilung hat: Die Fische mit Makrophagen regenerieren die Wunde in der vorgegebenen Zeit effizienter als diejenigen ohne.

Auch wenn Zebraabärblinge und Menschen im Allgemeinen viele Unterschiede aufweisen, sind sie genetisch doch relativ ähnlich (Animalresearch.info 2016; Max-Planck-Gesellschaft 2023: Modellorganismus Zebrafisch). Deshalb können die Erkenntnisse aus meiner Arbeit dazu beitragen, den Prozess der Wundheilung auch beim Menschen besser zu verstehen. Trotzdem bleiben aber nach wie vor viele Aspekte der Wundregeneration unbekannt und lassen somit ein grosses, vielversprechendes Feld für zukünftige Studien und Entdeckungen.

## 6. Schlusswort

Durch die Arbeit im Labor der Universität Zürich und der intensiven Auseinandersetzung mit den dazugehörigen theoretischen Grundlagen lernte ich viel. Die beiden Experimentdurchgänge (der Vorversuch sowie die richtige Durchführung) waren jeweils Höhepunkte des ganzen Arbeitsprozesses: Ich durfte die Versuche selbstständig vorbereiten und durchführen. Durch dieses Vertrauen der Expertinnen an der Universität fühlte ich mich wie eine richtige Forscherin. Auch stand mir das ganze Abteilungsteam immer sehr freundlich zur Seite und half, wann immer ich eine Frage hatte. Zwischenzeitlich benötigte ich zwar viel Geduld und Durchhaltewillen, aber als schlussendlich das Endergebnis mit der Theorie übereinstimmte, wurde ich für all die Anstrengungen belohnt.

Auch jetzt noch, ganz am Schluss des Arbeitsprozesses, habe ich immer noch Spass daran, an dieser Matura-Arbeit zu arbeiten und meine Erkenntnisse, sowohl theoretische wie praktische, zu präsentieren und darzustellen. Ich bin sehr dankbar dafür, dass ich die seltene Gelegenheit hatte, in einem Forschungslabor an der Universität Experimente durchzuführen und das Vorgehen sowie die Ergebnisse mit Expertinnen vor Ort besprechen zu können. Dies ist ein neuer, exklusiver Einblick, der einem sonst im zeitintensiven Schul- oder Arbeitsalltag leider verwehrt bleibt.



## 7. Glossar

### **Antigen**

Eine körperfremde Substanz, die eine spezifische Immunantwort auslöst (DZIF)

### **Entzündungsmediatoren**

Botenstoffe, welche die Entzündungsreaktion koordinieren und verstärken (vetion.de)

### **Epithelzellen**

Zellen des Epithelgewebes; dem Oberflächengewebe des Körpers gegen innen und aussen (Missmahl, Marc, 2023: kenhub)

### **Fibroblasten**

Teilungsaktive Zellen des Bindegewebes (Pacharzina, Inga, 2020: anvajo)

### **Genome Editing**

Eine Sammelbezeichnung für neue molekularbiologische Verfahren, um gezielte Mutationen in genau bestimmten Abschnitten der DNA auszulösen (transparenz GENTECHNIK: Genome Editing)

### **Lysosom**

Ein Zellorganell mit Hauptaufgabe des Partikelabbaus im Innern einer Zelle (simpleclub: Lysosom)

### **Proteinbiosynthese**

Herstellungsprozess eines Proteins welcher sich zusammengesetzt aus der DNA-Transkription und der RNA-Translation in Aminosäuren, diese werden anschliessend in Polypeptidketten umgewandelt, die das fertige Protein bilden (studyflix: Proteinbiosynthese Abiwissen)

### **Remodellierung**

Zelluläre Um- und Ausbauprozesse am Ende der verschiedenen Wundheilungsphasen (Wikipedia 2023: Wundheilung)

### **Replikation**

Verdopplung der Erbinformation (studyflix: DNA Replikation einfach erklärt)

### **Transkription**

Überschreibung der notwendigen Informationen für die Proteinbiosynthese von DNA auf mRNA (serlo)

**Translation**

2. Teil der Proteinbiosynthese: Übersetzen der Basentriplets auf der mRNA in Aminosäuren (Pflanzenforschung.de: Translation)

**Thrombozyten**

Auch Blutplättchen genannt; zirkulierende Zellfragmente, die für die Blutgerinnung zuständig sind (Kuter, David, 2022: MSD MANUAL)

## Literaturverzeichnis

### Gedruckte Quellen:

Alexander Lang *et al.* (2019): Ein molekulares Skalpell für Eingriffe am Erbgut: Chancen und Risiken des Genome Editing. TA-SWISS, Bern

Dettmer, Philipp (3. Auflage 2021): Immun. Ullstein extra, Berlin

Nguyen-Chi, Mai *et al.* (2017): TNF signaling and macrophages govern fin regeneration in zebrafish larvae. «Cell death & disease 8.8 (2017): e2979-e2979

Nüsslein-Volhard, C. und Dahm, R. (1. Auflage 2002): Zebrafish: A Practical Approach. Oxford University Press, United Kingdom

Streeck, Hendrik (2. Auflage 2021): Unser Immunsystem. PIPER, München

### Internetseiten:

Abels, Benjamin *et al.* (17.05.2023); DocCheck Flexikon: *Zytokin*

<https://flexikon.doccheck.com/de/Zytokin>

(18.10.2023, 17:24)

animalresearch.info (19.12.2006): *Zebrafisch*

<https://www.animalresearch.info/de/forschungsdesign/forschungstiere/zebrafish/>

(16.09.2023, 14:51)

BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung) (Nov. 2017): *Selbstheilung von Zebrafischen – Hinweise für neue Behandlungsansätze nach einem Herzinfarkt?*

<https://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/selbstheilung-von-zebrafishherzen-hinweise-fur-neue-behandlungsansatze-nach-einem-7236.php>

(21.08.2023, 23:35)

BMUV (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz) (28.06.2023): *Was ist der Unterschied zwischen Genome Editing und klassischer Gentechnik*

<https://www.bmuv.de/faq/was-ist-der-unterschied-zwischen-genome-editing-und-klassischer-gentechnik>

(04.11.2023, 21:14)

Delves, Peter (Sept. 2021); MSD MANUAL: *Humanes Leukozyten-Antigensystem (HLA)*

<https://www.msmanuals.com/de/profi/immunologie,-allergien/biologie-des-immunsystems/humanes-leukozyten-antigen-system>

(18.10.2023, 17:28)

DZIF: *Antigen*

<https://www.dzif.de/de/glossar/antigen>

(02.10.2023, 23:59)

Edmond, Patricia (2021); National Geographic: *This Tiny, Transparent Fish Could Save Your Life*

<https://www.nationalgeographic.com/magazine/article/basic-instincts-zebrafish-transparent-biomedical-research>

(23.08.2023, 17:44)

Fedlex, die Publikationsplattform des Bundesrechts (Schweizer Eidgenossenschaft) (16.12.2005): *Tierschutzgesetz*

<https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2008/414/de>

(30.09.2023, 17:19)

Franz, Sandra und Saalbach, Anja (2020); GEPRIS: *Regulation der Polarisierung von Makrophagen durch Fibroblasten – Bedeutung für die Wundheilung*

<https://gepris.dfg.de/gepris/projekt/285654762>

(23.08.2023, 23:58)

GESUNDHEIT.GV.AT (15.06.2023): *Wunden und Wundversorgung*

<https://www.gesundheit.gv.at/krankheiten/verletzungen/wunden-wundheilung.html>

(19.10.2023, 18:05)

GESUNDHEIT.GV.AT: *Zytokine*

<https://www.gesundheit.gv.at/lexikon/Z/lexikon-zytokine.html>

(18.10.2023, 17:09)

gesundheitsinformation.de: *Glossar: Mutation*

<https://www.gesundheitsinformation.de/glossar/mutation.html>

(30.09.2023, 11:04)

GreenFacts (13.07.2023): *Zellmembran*

<https://www.greenfacts.org/de/glossar/wxyz/zellmembran.htm>

(17.10.2023, 11:03)

Hagmann, F.-G. (28.03.2011); ONKODIN: *Mononukleäre Phagozyten im Blut*  
[https://www.hemato-images.eu/content/e3774/e3776/e3851/e9857/index\\_ger.html](https://www.hemato-images.eu/content/e3774/e3776/e3851/e9857/index_ger.html)  
(19.11.2023, 20:35)

Kuter, David (Juni 2022); MSD MANUAL: *Thrombozytenstörungen im Überblick*  
<https://www.msmanuals.com/de/profi/h%C3%A4matologie-und-onkologie/thrombozytopenie-und-thrombozyt%C3%A4re-dysfunktionen/thrombozytenst%C3%B6rungen-im-%C3%BCberblick>  
(25.11.2023, 18:08)

KZBV (Kassenzahlärztliche Bundesvereinigung) (Nov. 2023): *Wie die Lokalanästhesie wirkt*  
<https://www.kzbv.de/wie-die-lokalanaesthesie-wirkt.173.de.html>  
(20.11.2023, 08:32)

MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT: *Modellorganismus Zebrafisch*  
<https://www.mpg.de/10886445/zebrafisch>  
(16.09.2023, 14:46)

MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT: *Warum erforschen Wissenschaftler Zebrafische?*  
<https://www.mpg.de/10886458/warum-erforschen-wissenschaftler-zebrafische>  
(21.08.2023, 23:08)

MAX-PLANCK-INSTITUT: *Zebrafisch*  
<https://www.ie-freiburg.mpg.de/4758379/Zebrafisch>  
(16.09.2023, 15:07)

MedLexi.de (16.11.2021): *Makrophage*  
<https://medlexi.de/Makrophage>  
(16.10.2023, 14:46)

Missmahl, Marc (30.10.2023); kenhub: *Epithelgewebe*  
<https://www.kenhub.com/de/library/anatomie/epithelgewebe>  
(25.11.2023, 17:57)

Nolte, Janica *et al.* (28.02.2023); DocCheck Flexikon: *Wundheilung*  
<https://flexikon.doccheck.com/de/Wundheilung>  
(16.10.2023, 15:05)

Oiseth, Stanley *et al.* (12.02.2023); lecturi: *Wundheilung*  
<https://www.lecturio.de/artikel/medizin/wundheilung/>  
(22.11.2023, 21:39)

Pacharzina, Inga (12.11.2020); anvajo: *Fibroblasten und ihre Bedeutung in der Forschung*

<https://anvajo.com/de/inspiration/fibroblasten>

(02.10.2023, 23:48)

Pflanzenforschung.de: *Lexikon A-Z: Cytoplasma*

<https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/lexikon-a-z/cytoplasma-224>

(16.10.2023, 14:37)

Pflanzenforschung.de: *Lexikon A-Z: Organell*

<https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/lexikon-a-z/organell-963>

(16.10.2023, 14:39)

Pflanzenforschung.de: *Lexikon A-Z: Translation*

<https://www.pflanzenforschung.de/de/pflanzenwissen/lexikon-a-z/translation-204>

(03.11.2023, 00:13)

Serlo: *Transkription - 1. Schritt der Proteinbiosynthese*

<https://de.serlo.org/biologie/83786/transkription-1.-schritt-der-proteinbiosynthese>

(03.11.2023, 00:11)

simpleclub: *Cytoskelett*

<https://simpleclub.com/lessons/biologie-zytoskelett>

(16.10.2023, 14:42)

simpleclub: *Lysosom*

<https://simpleclub.com/lessons/biologie-lysosom>

(25.11.2023, 18:01)

Shiau, Celia *et al.* (23.01.2015); NIH (National Library of Medicine): *Differential Requirement for irf8 in Formation of Embryonic and Adult Macrophages in Zebrafish*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4304715/>

(30.09.2023, 16:32)

Studienkreis: *Wie funktionieren Fresszellen (Makrophagen)*

<https://www.studienkreis.de/biologie/fresszellen-makrophagen-funktion/>

(17.10.2023, 18:30)

Studyflix: *DNA Replikation einfach erklärt*

<https://studyflix.de/biologie/dna-replikation-3826>

(03.11.2023, 00:08)

Studyflix: *Makrophagen*

<https://studyflix.de/biologie/makrophagen-2742>

(22.08.2023, 23:53)

Studyflix: *Mutation*

<https://studyflix.de/biologie/mutation-2582>

(30.09.2023, 10:54)

Studyflix: *Proteinbiosynthese Abiwissen*

<https://studyflix.de/biologie-schueler/proteinbiosynthese-abiwissen-4313>

(02.10.2023, 23:57)

StudyHelp: *Mutation*

<https://www.studyhelp.de/online-lernen/biologie/mutation/>

(30.09.2023, 17:04)

Thieme via medici: *Makrophagen in der Immunantwort*

<https://viamedici.thieme.de/lernmodul/549602/539527/makrophagen+in+der+immuna+ntwort>

(17.10.2023, 12:03)

transparenz GENTECHNIK: *Transkriptionsfaktoren*

<https://www.transgen.de/lexikon/2796.transkriptionsfaktoren.html>

(18.10.2023, 16:40)

transparenz GENTECHNIK: *Genome Editing*

<https://www.transgen.de/lexikon/1844.genome-editing.html>

(04.11.2023, 22:24)

transparenz GENTECHNIK: *CRISPR/Cas, TALEN, Zinkfinger, ODM: Wie die Genome Editng-Verfahren funktionieren*

<https://www.transgen.de/forschung/1545.neue-zuechtungsverfahren-uebersicht.html>

(04.11.2023 23:30)

Universität Münster, medizinische Fakultät (15.12.2014): *Zebrafisch-Venen machen Arterien Beine: MPI-Forscher entwickeln Verfahren, das einzigartigen Einblick in Gefäßbildung erlaubt*

<https://www.medizin.uni-muenster.de/en/fakultaet/news/zebrafisch-venen-machen-arterien-beine-mpi-forscher-entwickeln-verfahren-das-einzigartige-einblicke-in-gefaessbildung-erlaubt.html>

(01.09.2023, 00:01)

Van den Höffel, Natascha *et al.* (20.06.2023); DocCheck Flexikon: *Monozyt*  
<https://flexikon.doccheck.com/de/Monozyt>  
(16.10.2023, 14:48)

vetion.de: *Lexikon: Entzündungsmediatoren*  
<https://www.vetion.de/lexikon/detail/Entzuendungsmediatoren/1789/>  
(25.11.2023, 17:45)

Wikipedia (13.08.2023): *IRF 8*  
<https://en.wikipedia.org/wiki/IRF8>  
(22.11.2023, 17:46)

Wikipedia (11.03.2023): *Mutation*  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Mutation>  
(21.08.2023, 22:49)

Wikipedia (29.3.2023): *Wundheilung*  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Wundheilung>  
(16.10.2023 15:07)

Wikipedia (28.06.2023): *Zebrabärbling*  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Zebrab%C3%A4rbling>  
(21.08.2023, 11:08)

Woulgan (17.09.2018): *Die Rolle der Makrophagen in der Wundheilung*  
<https://woulgan.com/de/die-rolle-der-makrophagen-in-der-wundheilung/>  
(22.08.2023, 23:31)

www.immundefekte.info: *Phagozyten*  
<https://www.immundefekte.info/immundefekt/grundlagen/das-immunsystem/phagozyten.php>  
(17.10.2023, 12:22)



## Abbildungsverzeichnis

- Abb. 0 (Titelseite): Zebrabärblinge.....0  
<https://www.unibas.ch/de/Universitaet/Administration-Services/Bereich-Rektorin/Kommunikation-Marketing/Kommunikation/Service-Medien/Mediendatenbank;jsessionid=97209988564E8B8D9E799D602E216EC6?currentPage=6>  
 Abgerufen am 5.11.23 um 9:38
- Abb. 1: Zebrabärblinge.....1  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Zebrab%C3%A4rbling>  
 Abgerufen am 21.08.2023 um 11:18
- Abb. 2: Haltung der Zebrabärblinge an der Universität Zürich.....2  
 Foto Dana Niederhäuser am 25.05.2023 um 15:01 (mit einem iPhone 8)
- Abb. 3: Aufbau einer Makrophage.....8  
<https://studyflix.de/biologie/makrophagen-2742>  
 Abgerufen am 22.08.2023 um 23:53
- Abb. 4: Drei Vesikel im Innern einer Makrophage.....10  
[https://www.hemato-images.eu/content/e3774/e3776/e3851/e9857/index\\_ger.html](https://www.hemato-images.eu/content/e3774/e3776/e3851/e9857/index_ger.html)  
 Abgerufen am 19.11.2023 um 20:35
- Abb. 5: Der Prozess der Phagozytose.....10  
<https://depositphotos.com/de/vector/phagocytosis-neutrophil-uses-its-plasma-membrane-engulf-bacterium-endocytosis-exocytosis-426980424.html>  
 ©edesignua  
 Abgerufen am 12.10.2023 um 14:45
- Abb. 6: Die 4 verschiedenen Phasen der Wundheilung.....11  
<https://www.montavit.com/de/ratgeber/haut-allergie/wundheilung/>  
 Abgerufen am 22.11.2023 um 16:30
- Abb. 7: Vergleich der Wundheilung zwischen Zebrabärblingen mit und ohne Makrophagen.....13  
<https://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/selbstheilung-von-zebrafischherzen-hinweise-fur-neue-behandlungsansatze-nach-einem-7236.php>  
 © Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Medizinische Klinik  
 Abgerufen am 21.08.2023 um 23:35
- Abb. 8: Materialien für das Hauptexperiment.....18  
 Erstellt mit «Biorender» am 28.10.2023 um 16:15
- Abb. 9: Weitere Materialien für das Zusatzexperiment.....18  
 Erstellt mit «Biorender» am 28.10.2023 um 16:45

Abb. 10: Messen der Wundgrösse mit dem Programm "Fiji".....	21
Screenshot vom 19.10.2023 um 12:01	
Abb. 11: Ein Ausschnitt der Excel-Tabelle mit allen Messdaten und den berechneten Prozentsätzen.....	23
Screenshot vom 19.10.2023 um 14:45	
Abb. 12: Vergleich der Wundheilung von Zebrabärbling-Embryos mit und ohne Makrophagen.....	24
Erstellt am 28.10.2023 um 17:46	
Abb. 13: Standardabweichung der verschiedenen Wundgrössen.....	25
Erstellt am 22.11.2023 um 21:23	
Abb. 14: Wildtyp (mit Makrophagen); Gruppe 2, C2; Wunde (rot umkreist) direkt nach der Verletzung der Schwanzflosse .....	25
Fotografiert von Dana Niederhäuser am 05.07.2023 um 15:51	
Abb. 15: Wildtyp (mit Makrophagen); Gruppe 2, C2; Wunde (rot umkreist) 24 Stunden nach der Verletzung der Schwanzflosse.....	25
Fotografiert von Dana Niederhäuser am 06.07.2023 um 17:06	
Abb. 16: Fisch der Gruppe "IRF 8 -/-" (ohne Makrophagen); Gruppe 2, A2; Wunde (rot umkreist) direkt nach der Verletzung der Schwanzflosse.....	26
Fotografiert von Dana Niederhäuser am 05.07.2023 um 16:12	
Abb. 17: Fisch der Gruppe "IRF 8 -/-" (ohne Makrophagen); Gruppe 2, A2; Wunde (rot umkreist) 24 Stunden nach der Verletzung der Schwanzflosse.....	26
Fotografiert von Dana Niederhäuser am 06.07.2023 um 17:26	
Abb. 18: Fisch der Gruppe "IRF 8 -/-" (ohne Makrophagen); Gruppe 1, C3; Wunde (rot umkreist) direkt nach der Verletzung der Schwanzflosse.....	26
Fotografiert von Dana Niederhäuser am 05.07.2023 um 15:12	
Abb. 19: Fisch der Gruppe "IRF 8 -/-" (ohne Makrophagen); Gruppe 1, C3; Wunde (rot umkreist) 24 Stunden nach der Verletzung der Schwanzflosse.....	26
Fotografiert von Dana Niederhäuser am 06.07.2023 um 15:58	
Abb. 20: Makrophagen gleich nach dem Zufügen der Wunde.....	27
Screenshot vom 18.10.2023 um 15:55	
Abb. 21: Makrophagen 90 Minuten nach dem Zufügen der Wunde.....	27
Screenshot vom 18.10.2023 um 15:56	





QR-Code zum Film,  
welcher die Bewegung  
der Makrophagen zur  
Wunde zeigt (Original)



QR-Code zum Film,  
welcher die Bewegung  
der Makrophagen zur  
Wunde zeigt (farbig  
markierte  
Makrophagen)

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit versichere ich, Dana Niederhäuser, ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Maturaarbeit mit dem Titel: «Die Rolle der Makrophagen bei der Wundheilung in Zebrabärbling-Embryos» selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Die Stellen der Arbeit, die dem Wortlaut oder dem Sinn nach anderen Werken entnommen wurden, sind in jedem Fall unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Winterthur, 5. Dezember 2023