



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Rolle der Mikrofilamente bei der Morphogenese des Vorderdarmes
von Hühnerembryonen - lichtmikroskopische und
immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchung**

Autor: Maria Vena
Institut / Klinik: Kinderchirurgische Universitäts-Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. K.-L. Waag

Wir führten licht- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen am Vorderdarm von Hühnerembryonen durch, um folgende Fragen zu beantworten:

Ist der Hühnerembryo ein geeignetes Modell für die Untersuchung des Vorderdarmes? Ermöglicht die Lichtmikroskopie eine Identifikation dieses Bereiches und die Beschreibung seiner Morphologie? Kann die direkte Immunfluoreszenz die Frage beantworten, ob in welcher Distribution Aktinfilamente im Bereich des Vorderdarmes verteilt sind? Um die Frage der Rolle des Zytoskeletts, insbesondere der Aktinfilamente, in der Formbildung und Formerhaltung zu analysieren, neutralisierten wir die gefundenen Aktinfilamente mit Cytochalsin D.

Die Lichtmikroskopie ermöglicht die exakte Identifikation der Leitstrukturen zur Auffindung des Vorderdarmes. An seinem Eingang liegt der rundliche Mandibularbogen, in dem distalen Bereich liegt der Tracheo-Ösophageale-Raum, aus dem Ösophagus und Trachea hervorgehen, und die durch eine domförmige Mesenchymbrücke verbunden sind. Die Hinterwand begrenzt das Lumen glatt, während die Vorderwand, durch die Impression der Kiemenbögen, eine wellige Struktur besitzt.

Im Fluoreszenzmikroskop ist im Bereich des hochprismatischen Darmepithels ein grün fluoreszierendes Band zu erkennen, welches sich am apikalen Zellpol entlangzieht. Um die Filamente besser von den Zellkernen unterscheiden zu können, wendeten wir das Prinzip der Doppelfärbung an. Im Mesenchym sind die Aktinfilamente nur vereinzelt zu identifizieren, sie sind jedoch zum größten Teil am lumennahen Zellpol lokalisiert.

Nach Neutralisation der Aktinfilamente mit Cytochalasin D wurden folgende Veränderungen festgestellt:

Die lichtmikroskopisch betrachteten Schnitte zeigen einen eher rundlichen Mandibularbogen, einen unregelmäßigen Verlauf der Hinter- und Vorderwand des Darmes, eine Dilatation seines Lumens in den jüngeren Entwicklungsstadien, während es bei den Älteren kollabiert erscheint.

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Betrachtung zeigt sich eine deutliche Desorganisation des Darmepithels und der mesenchymalen Zellen. Das in den Kontrollembryonen gefundene grün fluoreszierende Band fehlt, im Mesenchym ist die grüne Fluoreszenz diffus verteilt und der gesamte Zellverband erscheint gelockert.

Aus diesen Ergebnissen folgerten wir, dass der Hühnerembryo ein geeignetes Modell ist, um den Vorderdarm zu untersuchen, der durch die Technik der Lichtmikroskopie von der Mundhöhle bis zum Tracheo-Ösophagealen-Raum darzustellen ist. Die weiter distal liegenden Anteile sind nicht zu beurteilen.

Die Fluoreszenzmikroskopie ermöglicht die Lokalisation und Beurteilung der im Vorderdarm gelegenen Aktinfilamente. Diese können durch eine ausreichend lange Behandlung mit Cytochalasin, und eine genügend hohe Konzentration dieser Substanz, wirksam neutralisiert werden. Die durch die Zerstörung dieser tensilen Einheiten bewirkten Veränderungen weisen auf eine entscheidende Rolle der Aktinfilamente in der Formbildung und Formerhaltung hin.