



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

**In situ Untersuchungen über die intrinsische Innervation des Dün-
und Dickdarmes bei der homozygot Fibroblast growth factor (FGF)-
2-defizienten Maus**

Autor: Klara Kränzle
Institut / Klinik: Kinderchirurgische Universitätsklinik
Doktorvater: Prof. Dr. K.-L. Waag

Das Enterische Nervensystem bildet den größten Teil des peripheren Nervensystems und ist für die reguläre Funktion des Magen-Darm-Traktes von großer Bedeutung. Es koordiniert und kontrolliert die komplexen gastrointestinalen Funktionen wie Motilität, Sekretion und Resorption. Eine Dysfunktion des ENS kann sich in Form von leichten Störungen der gastrointestinalen Motilität mit Diarrhoe oder Obstipation bis hin zu manifesten Innervationsstörungen oder gar völligem Fehlen der Nervenzellen, wie z.B. bei der Aganglionose (M. Hirschsprung), äußern. Solche Innervationsstörungen des Gastrointestinaltraktes als Ursache von Motilitätsstörungen und Verdauungsbeschwerden sind Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten. Im Focus der Untersuchungen steht der Einfluss verschiedener Wachstumsfaktoren auf die Entwicklung und Erhaltung des ENS. Zahlreiche in vitro und in vivo- Studien wurden durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Wachstumsfaktoren glial cell line derived factor (GDNF), Endothelin-3 (ET-3), der ciliare neurotrophe Faktor (CNTF), leukemia inhibiting factor (LIF), sowie der Fibroblastenwachstumsfaktor (FGF) bedeutende Faktoren für die ENS-Entwicklung darstellen. Fehlen diese Faktoren oder ihre Rezeptoren, so kommt es zu mehr oder weniger starken Störungen in der Entwicklung des ENS. Die vorliegende Studie untersucht durch qualitative und quantitative Beurteilung der Morphologie der Darmnervenzellen speziell die Wirkung von FGF2 auf die regelrechte Entwicklung des ENS. Dazu untersuchten wir die Darmnervenzellen von homozygoten FGF^{2-/-}-knockout-Mäusen, denen also das Gen für FGF2 völlig fehlt und die somit selbst kein FGF2 produzieren, und verglichen sie mit entsprechenden Wildtypen entsprechenden Alters. Es wurden von 5 verschiedenen Darmabschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum, Proximales und distales Colon) von jeweils zehn FGF^{2-/-}-knockout-Mäusen und zehn Wildtypen Häutchenpräparate hergestellt. Zur optimalen Visualisierung und qualitativen Auswertung der Plexusarchitektur stellte sich die immunhistochemische Färbung mit PGP 9.5 als geeignet heraus, wohingegen die Färbung des Plexus myentericus mit Cuprolicin Blue, bei der nur die Nervenzellsomata, aber nicht ihre zahlreichen Ausläufer angefärbt werden, sich als praktikabel für die quantitative Beurteilung und Ausmessung der Ganglien- und Nervenzellgröße herausstellte. Hierfür wurden die Därme von jeweils drei FGF^{2-/-}-knockout-Mäusen und drei entsprechenden Wildtypen im Alter von 12 Tagen (P12) ausgewertet. In allen Darmabschnitten imponierte der Plexus submucosus in der PGP 9.5-Färbung bei den FGF^{2-/-}-knockout-Mäusen als „plumperes“, weniger verzweigtes Netzwerk im Vergleich zu den Wildtypen. Die Größe der Ganglien erschien in den FGF^{2-/-}-knockout-Mäusen geringer und die Ganglien enthielten weniger, aber dafür tendenziell größere Nervenzellen, d.h. die Nervenzelldichte pro Ganglionfläche war geringer. Ähnliche Beobachtungen bezüglich der Nerven- und Gangliengröße konnten in den mit Cuprolicin Blue gefärbten Häutchenpräparaten des Plexus myentericus festgestellt werden. Die quantitative Auswertung der Parameter maximaler Nervenzelldurchmesser, Nervenzellfläche, Ganglienfläche und Nervenzelldichte pro Ganglionfläche des Plexus myentericus bestätigten den optischen Eindruck: die FGF^{2-/-}-knockout-Mäuse wiesen mit Ausnahme des Duodenums in allen Darmabschnitten signifikant größere Nervenzellen auf, wohingegen die Nervenzelldichte pro Ganglion geringer war im Vergleich zu den Wildtypen. D.h. es bilden sich unter Fehlen von FGF2 weniger, aber dafür größere Nervenzellen im ENS aus; auf die reguläre Ausbildung der Plexusarchitektur scheint FGF2 keinen essentiellen Effekt zu haben, da sie weitgehend normal, wenn auch etwas plumper erschien, was aber darauf beruhen kann, dass weniger Nervenzellen vorhanden sind. Diese Abnahme der Anzahl der Nervenzellen und die gleichzeitige Größenzunahme der verbleibenden Nervenzellen könnte man dadurch erklären, dass unter Fehlen von FGF2 bestimmte Subpopulationen von Nervenzellen nicht mehr gebildet werden und dies vom Organismus durch eine Größenzunahme der verbleibenden Nervenzellen zu kompensieren versucht wird. Wie sich bei physiologischen Untersuchungen des Darmes der FGF^{2-/-}-knockout-Mäuse herausstellte, gelingt diese Kompensation aber nicht vollständig, da bei den knockout-Tieren eine Störung der sekretomotorischen Funktionen gezeigt werden konnte. Neben seiner Wirkung auf das ENS spielt FGF2 in zahlreichen anderen Bereichen wie Hämatopoese, Angiogenese und bei der Entwicklung anderer mesenchymaler Gewebe sowie bei der Entwicklung des CNS eine wesentliche Rolle. Doch scheint ein Fehlen von FGF2 in diesen Bereichen ausreichend durch andere Faktoren oder Regulationsmechanismen kompensiert zu werden, mit Ausnahme der Entwicklung sowohl der zentralen als auch der peripheren Nervenzellen. Hier können eindeutige morphologische und funktionelle Veränderungen beobachtet werden.