



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

In vitro-Kultur von Hühnerembryonen und ihre Anwendung in der experimentellen Embryologie

Autor: Valeska Ariane Kist
Institut / Klinik: Kinderchirurgische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. S. Hosie

Im Rahmen dieser Arbeit haben wir die Durchführbarkeit der 2 Phasen in vitro-Kultur von Hühnerembryonen gezeigt. Anhand eines Anwendungsbeispiels mit Adriamycin wurde demonstriert, dass sich diese Technik für teratologische Untersuchungen in der experimentellen Embryologie hervorragend eignet.

Wir wählten die in vitro-Kulturmethode nach Flamme et al. 1987/1991 aus und führten Modifikationen durch. Wir kultivierten Hühnerembryonen der Stadien 10-15 nach Hamburger und Hamilton über 2 Tage einem in vitro-Kultursystem bestehend aus Petrischalen, Filterpapierringen und einem Stahlring. Die in vitro-Kultur bestand aus zwei Phasen, in welchen der Hühnerembryo zuerst einem künstlichen Nährmedium und dann dem natürlichen Medium Eiweiß/Eigelb ausgesetzt war. Bei einem Teil der Embryonen wurde in der ersten Phase der Kultur die Substanz Adriamycin dem Medium hinzugefügt, um hiernach dessen Effekte auf die Anzahl der apoptotischen Zellen im Vorderdarm des Hühnerembryos zu untersuchen. Mit Hilfe des Apoptosemarkers Annexin V markierten wir die apoptotischen Zellen im Bereich des Vorderdarmes und untersuchten anhand von histologischen Schnitten, ob sich bei Versuchs- und Kontrollgruppen signifikante Unterschiede bezüglich der Anzahl der apoptotischen Zellen ergaben. Sowohl Kontrollen, in vitro-Gruppe als auch in vitro plus Adriamycin-Gruppe zeigten signifikante Unterschiede der Anzahl der apoptotischen Zellen zwischen Pharynx und tracheoösophagealem Übergang. Wir konnten feststellen, dass Adriamycin einen Einfluss auf sich entwickelnde Gewebe ausübt. Die Anzahl der apoptotischen Zellen im Bereich des Vorderdarmes war bei mit Adriamycin behandelten Tieren signifikant geringer als bei in vitro kultivierten Tieren der Kontrollgruppe.

Unser in vitro-Kultursystem hat sich für die oben beschriebenen Untersuchungen sehr bewährt. Wir waren in der Lage, Hühnerembryonen in frühen Stadien der Entwicklung aus dem Ei zu explantieren und hiernach den Einfluss von Adriamycin auf den Vorderdarm zu untersuchen. Durch die Zweiphasigkeit der in vitro-Kultur war die exakt definierte und kontrollierte Exposition von Adriamycin möglich. Danach konnte der Hühnerembryo in dem natürlichen Medium Eiweiß/Eigelb weiterwachsen.