



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

Annäherung an ein in vitro Modell der innervierten Darmmukosa

Autor: Stephanie Bainsczyk
Institut / Klinik: Kinderchirurgische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. K.-L. Waag

Zellkulturen und die Simulation von Organen in vitro gelten als wertvolles Mittel, um ein besseres Verständnis für die Verknüpfung und funktionelle Integrität von Gewebeverbänden zu erhalten. Es existieren bereits zahlreiche Modelle der intestinalen Mukosabarriere, jedoch wurden die neuronalen Bestandteile der Darmwand zumeist vernachlässigt. Ziel dieser Studie war es, in vitro ein dreidimensionales Modell der innervierten Mukosabarriere des Darmes zu schaffen. Enterozyten und enterische Nervenzellen wurden kokultiviert, wobei sich das extrazelluläre Umfeld möglichst nahe an den natürlichen Gegebenheiten orientieren sollte. Ein einschichtiger und polarisierter Verband aus differenzierten Enterozyten sollte durch ein Netzwerk aus enterischen Nervenzellen und Axonen ähnlich dem Plexus submucosus in vivo innerviert werden.

Als geeigneter Ansatz hat sich nach verschiedenen Versuchen die Verwendung dreidimensionaler Matrices aus extrazellulären Proteinkomplexen als Grundstruktur des Modells erwiesen. Primäre enterische Nervenzellen wurden aus dem Darm junger Ratten isoliert und in einem Gel aus Extrazellulärmatrix (ECM) resuspendiert. Das Gel wurde als Tropfen auf einen Kulturträger aufgebracht und mit einer Schicht aus Kollagen-Matrix überzogen. HT 29, die von einem Adenocarcinom des menschlichen Colon abstammen, wurden auf die Oberfläche des Gelhügels ausgesät. Die Nervenzellen bildeten im Gel ein komplexes plexusähnliches Netzwerk. HT 29 proliferierten zu relativ großen konfluenten Zellverbänden auf der Oberfläche des Gels. Es konnten Kontakte und Interaktionen zwischen Nervenzellen und Enterozyten beobachtet werden, was für eine Innervation der künstlichen Mukosa spricht. Außerdem zeigten HT 29 auf innervierten Gelen im Vergleich zu Gelen ohne Nervenzellen besseres Wachstum, vermehrte Konfluenz und einen höheren Grad der Differenzierung. Um die Konfluenz der intestinalen Epithelzellen in Kultur weiter zu steigern, wurden erste Versuche mit Kollagenmembranen als Wachstumsuntergrund gemacht. Dabei hat sich Surgisis (SIS), das aus Submukosa des Schweinedarms gewonnen wird, als besonders geeignet erwiesen.

Zusammenfassend ist es gelungen, ein innerviertes Modell der intestinalen Mukosabarriere zu schaffen, das die Voraussetzungen bietet, alle relevanten Anteile der Darmwand in Zellkultur zu simulieren. In weiterführenden Versuchsansätzen wird es Ziel sein, lediglich primäre Zellen und nur humane Materialien zu verwenden, um die Vergleichbarkeit mit der Situation in vivo weiter zu steigern. Ein solches Modell der intestinalen Mukosa schafft Hoffnung auf neue Therapieoption bei Patienten mit Kurzdarmsyndrom im Sinne eines transplantierbaren Darmersatzes und könnte überdies im Studium von verschiedenen Einflüssen auf die Barrierenfunktion des Darmes beispielsweise in der Pharmaforschung von großem Nutzen sein.