

Karin Monika Lindner  
Dr. med.

## **Die Entwicklung der sympathoadrenalen Zelllinie in der Glucocorticoidrezeptor-defizienten Maus : Eine ultramorphologische und immunhistochemische Analyse**

Geboren am 31.12.1972 in Saarlouis  
Reifeprüfung am 22.05.1991 in Saarlouis  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991/92 bis WS 1998  
Physikum am 26.08.1993 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg und Montpellier, Frankreich  
Praktisches Jahr in Heidelberg und Montréal, Kanada  
Staatsexamen am 09.11.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. K.Unsicker

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Faktoren, die zu einer catecholaminergen (CA)-Differenzierung der frühen Neuralleistenzellen und die Faktoren, die in einem späteren Schritt zu einer Differenzierung der sympathoadrenalen (SA)-Progenitoren führen, zu analysieren, wobei der Schwerpunkt auf dem Glucocorticoid-Einfluß lag.

Zahlreiche Wachstumsfaktoren und Hormone waren für ihre CA-begünstigenden Effekte bekannt, so z.B. BMP-2 und TGF- $\beta$ 3 als Mitglieder der TGF- $\beta$ -Superfamilie, Dexamethason als synthetisches Glucocorticoid und Retinolsäure (RA). *In vitro* konnte mit cytochemischen Methoden gezeigt werden, daß die genannten Faktoren auch Proliferation stimulieren können und, daß RA die Wirkung eines Cocktails aus BMP-2, TGF- $\beta$ 3 und Dexamethason bezüglich proliferationsfördernder Eigenschaften noch potenzieren konnte.

Die entscheidende Rolle der Glucocorticoide (GC) in Bezug auf eine Beeinflussung der Differenzierung der SA-Progenitoren zu chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks, sympathischen Neuronen, Paraganglien und Small Intensely Fluorescent (SIF)-Zellen wurde *in vivo* mit Hilfe Glucocorticoid-Rezeptor (GR)-defizienter Mäuse untersucht.

Die Auswertung von immunhistochemischen Serienschnitten von embryonalen Nebennieren an E 13,5 und E 18,5 ergaben kleine, nicht signifikante Diskrepanzen der Anzahl von TH-positiven und Phox-2-positiven Zellen in Wildtyp- und Knockout-Mäusen. Die unterschiedlichen Entwicklungsstadien betrachtet, war in Wildtyp- und Knockout-Mäusen eine ungefähre Verdreifachung von annähernd 5000 auf 15000 Zellen zu verzeichnen.

Weiterhin konnte im Rahmen ultrastruktureller Analysen gezeigt werden, daß sich die Hypothese von einem inhibitorischen Effekt von GC an SA-Progenitoren, nämlich die neuronale Differenzierung zu unterdrücken, nicht bestätigt. Die spezifischen chromaffinen Granula waren bezüglich ihrer Durchmesser und Häufigkeit ihres Vorkommens in Wildtyp und GR-Mutanten nicht signifikant verschieden. Die Befunde meiner Arbeit belegen eindeutig, daß sich die entwickelnden chromaffinen Zellen in der GR<sup>-/-</sup>-Maus ultrastrukturell deutlich von sympathischen Neuronen unterscheiden. Dies bedeutet, daß GC nicht entscheidend den neuronalen Phänotyp in der Frühentwicklung von SA Progenitoren unterdrücken können, d.h. GC nicht für eine Entwicklung zum chromaffinen Phänotyp maßgebend sind.

Im Rahmen morphometrischer Analysen konnte beobachtet werden, daß „Volumendichte“ und „Granuladurchmesser“ während der Embryonalentwicklung von E 14,5 und E 16,5 sowohl bei Knockout- als auch bei Wildtyp-Embryonen zunehmen.

An den Embryonaltagen E 14,5 und E16,5 erschienen die Parameter „Volumendichte“ und „Granuladurchmesser“ in GR-defizienten Tieren tendenziell kleiner als im Wildtyp. Dieser Unterschied schien zum E 18,5 zwischen Wildtyp- und Knockout-Maus nicht mehr zu bestehen, und läßt auf einen eventuellen geringen Entwicklungsrückstand in der Knockout-Maus schließen.

Ergebnisse aus früheren GR<sup>-/-</sup>-Untersuchungen und die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß chromaffine Zellen auch in Abwesenheit von GC aus SA-Progenitor-Zellen entstehen können. Den chromaffinen Zellen in der GR<sup>-/-</sup>-Maus fehlen Phenylethanolamin-N-methyltransferase (PNMT) und Adrenalin; der morphologische Phänotyp bleibt aber im Knockout erhalten. Somit können GC nicht *das* essentielle Signal für die Ausbildung des chromaffinen Phänotyps darstellen, sondern eher für die direkte/indirekte Modulation einer Expression von Genen verantwortlich zu sein, die mit dem „adrenergen“ Phänotyp assoziiert sind, wie z.B. PNMT und TH. Die Ergebnisse meiner Arbeit erlauben somit die Revision eines wichtigen Kapitels der Entwicklungsneurobiologie.