

Nils Janis Herion
Dr. med.

Embryonic cell migratory capacity is impaired upon exposure to glucose in vivo and in vitro

Fach/Einrichtung: Institut für Anatomie und Zellbiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Joachim Kirsch

Neuralrohrdefekte gehören zu den häufigsten Geburtsfehlern beim Menschen. Mütterlicher Diabetes mellitus, der bereits vor der Schwangerschaft besteht, zählt zu den wichtigen Risikofaktoren für Neuralrohrdefekte. Bisherige Studien und Mausmodelle für mütterlichen Diabetes mellitus deuteten auf eine gestörte Migration von Zellen des Mesoderms während der Gastrulation als Ursache für eine fehlerhafte Neurulation und die daraus resultierenden Neuralrohrdefekte.

Das Ziel dieser Studie war es, ein in vitro Modell für die während der Gastrulation beeinträchtigte Migration der Zellen des Primitivstreifens zu etablieren, welches weitere Untersuchungen der Pathogenese der gestörten Zellwanderung erlaubt.

Für das in vitro Modell embryonaler Zellwanderung wurden primäre embryonale Fibroblasten mesodermaler Herkunft aus Mäuse Embryonen isoliert, die entweder einem normalen oder einem diabetischen schwangeren Muttertier eines Non-Obese-Diabetic Mausstamms entnommen wurden. Die isolierten primären embryonalen Maus-Fibroblasten wurden in vier verschiedenen Zelllinien aufgezogen und kultiviert: Zellen, die einer normalen Schwangerschaft entstammten (normale Zellen) und Zellen, die aus einer diabetischen Schwangerschaft stammten (Diabetes-exponierte Zellen) wurden jeweils in niedriger und hoher Glukose-Konzentration im Zellkulturmedium kultiviert. Für die Untersuchung der Zellwanderung und die Bestimmung des zellulären Energieumsatzes wurden die vier Zelllinien zusätzlich noch während der Messungen ebenfalls jeweils niedriger oder hoher Glukosekonzentration im Medium ausgesetzt.

Das in vitro Modell machte deutlich, dass viel Glukose im dauerhaften Zellkulturmedium zwar nur geringe Auswirkungen auf normale Zellen hatte, dafür aber die Zellwanderung von Diabetes-exponierten Zellen signifikant einschränkte, ganz besonders, wenn diese Zellen auch noch während des Experimentes einer hohen Glukose-Konzentration im Medium ausgesetzt waren. Eine längere Belastung durch hohe Glukose-Konzentrationen im Zellkulturmedium verschlimmerte die eingeschränkte Zellwanderung weiter, insbesondere bei Diabetes-exponierten Zellen. Eine hohe Glukose-Konzentration schränkte folglich solche Zellen am

stärksten ein, die bereits zuvor in vivo, also während der Schwangerschaft, einer Hyperglykämie ausgesetzt waren.

Während sich die reine Migrationsdistanz zwischen den Zelllinien unterschied, war das Migrationsverhalten, d.h. eine geradlinige oder kurvige Migration zwischen den Zelllinien sehr ähnlich und ohne signifikante Unterschiede.

Antioxidantien, die einen eventuell existierenden oxidativen Stress abmildern oder aufheben können, brachten keine Verbesserung der beeinträchtigten Migration, was die Rolle von oxidativem Stress bei der Beeinträchtigung der Migration infrage stellt.

Auch könnte eine veränderte metabolische Leistungsfähigkeit oder eine veränderte Nährstoffverwertung der Diabetes-exponierten Zellen die Migrationsunterschiede der Zelllinien erklären. Jedoch fand sich kein Unterschied in der zellulären Atmung oder Glykolyse der verschiedenen Zelllinien.

Ebenfalls untersucht wurde die Genexpression von Nährstofftransportern wie Glukose- und Fettsäuretransportern. Die Genexpression variierte zwar zwischen den Zelllinien, jedoch konnte aus der variablen Genexpression nicht direkt geschlossen werden, dass eine veränderte Nahrungsaufnahme oder ein beeinflusster Metabolismus Ursachen für die eingeschränkte Zellmigration sind.

Zusammenfassend wurde in dieser Studie ein Zellkulturmodell für mesodermale Zellmigration während der Gastrulation dahingehend erfolgreich etabliert, dass es möglich war, die eingeschränkte Zellmigration darzustellen, die nach längerer in vivo und in vitro Belastung mit hoher Glukose-Konzentration auftritt. Das Zellkulturmodell und die Zelllinien, die hier etabliert wurden, werden die Suche nach der molekularen Grundlage für die gestörte Zellmigration erleichtern, die für die Diabetes mellitus induzierten Neuralrohrdefekte ursächlich ist.