

1 Einleitung

Epithelien grenzen das Körperinnere vom funktionellen Außenraum ab. Grundsätzlich erfüllen Epithelien dabei zwei wichtige Funktionen: Die des Stofftransportes (Resorption bzw. Sekretion von z.B. Nährstoffen, Elektrolyten und Wasser) und die einer Schutzbarriere (z.B. gegen Toxine, Antigene). Die epitheliale Barriere setzt sich aus einer parazellulären und transzellulären Barriere zusammen. Eine Abdichtung des parazellulären Weges (Interzellularspalt) geschieht durch Schlußleisten, sog. *Tight junctions* (Powell, 1981; Tsukita et al., 2001). Die transzelluläre Barriere wird durch die apikale und basolaterale Membran der Epithelzellen gebildet.

Unter physiologischen Bedingungen unterliegen Epithelien, insbesondere Darmepithelien, einer ständigen Erneuerung (Turnover). Der schnelle Turnover der intestinalen Epithelzellen, die eine Lebensdauer von 3-5 Tagen haben, schützt den Organismus vor potentiell gefährlichen Substanzen. Dadurch, daß die geschädigten Zellen rasch aus dem Verband gelöst werden, wird die Barriere schnell wieder hergestellt. Für den Erhalt der Barriere sind apoptotische Prozesse (programmierter Zelltod), die beim Übergang der Zellen von der Krypte auf die Oberflächenepithelbereiche initiiert werden, bedeutsam (Grossmann et al., 2002). Ein Teil der apoptotischen Zellen wird an der luminalen Oberfläche aus dem epithelialen Verband herausgelöst (*Shedding*), andere Zellen bzw. Zellfragmente werden im Zellverband durch Phagozytose entfernt. Im Dünndarm werden die Zellen an der Villusspitze, im Kolon im Oberflächenepithel zwischen den Krypten aus dem Verband gelöst. Kommt es zu einem Defekt der Barriere, muß diese schnell wieder hergestellt werden (Dignass, 2001), um das Risiko einer Entzündung des Gewebes durch Einwanderung von Fremdstoffen zu minimieren (Gitter et al., 2001). In vorausgehenden Untersuchungen konnte an der Kolonkryptenzelllinie HT-29/B6 gezeigt werden, daß Apoptosen einen lokal begrenzten Barriereverlust verursachen, welcher durch eine erhöhte lokale Leitfähigkeit gekennzeichnet ist (Bendfeldt, 2000; Gitter et al., 2000a). Von großer Bedeutung für die intestinale Barriere sind vermutlich außerdem Defekte des epithelialen Zellverbandes, die im Rahmen der Nahrungspassage mechanisch oder chemisch verursacht, auftreten können (McNeil und Ito, 1989).

Zu unterscheiden sind kleine, auf einzelne Zellen begrenzte, und größere oberflächliche oder tiefere, multizelluläre Läsionen. Im Gegensatz zur Restitution größerer epithelialer Defekte, ist wenig bekannt über die schnelle

Restitution nach kleinen epithelialen Läsionen, wie dem Verlust einer einzelnen Zelle. Die Reparatur von großflächigen und tieferen mukosalen Defekten (Heilung) geht in der Regel einher mit regenerativen Prozessen des Epithels und anderer Zellpopulationen und ist durch das Vorhandensein von Mitosen charakterisiert. Diese Prozesse dauern mehrere Tage und gehen meistens mit einer inflammatorischen Reaktion einher. Oberflächliche multi-zelluläre Defekte hingegen werden überwiegend durch die Ausbreitung und Migration von intakten, lebenden Zellen, die den Rand des Defekts umgeben, verschlossen. Dieser Prozeß wird als Restitution bezeichnet (Silen und Ito, 1985).

In der vorliegenden Dissertation wird erstmalig der Mechanismus der Restitution an Einzelzell-Läsionen im intestinalen Epithel untersucht. Mikro-läsionen können Ursache pathophysiologischer Störungen sein und spielen z.B. im Rahmen von Entzündungen eine Rolle als Eintrittspforte für Toxine. Da es sehr schwierig ist, ein lokales Leck zu messen, ist bis heute nur eine funktionelle Analyse einer Einzelzell-Restitution an der *Necturus* Gallenblase durchgeführt worden (Hudspeth, 1982). Daten zur Restitution von Einzelzell-Läsionen im Darm fehlen bisher. In der vorliegenden Arbeit wurden Messungen an der Zelllinie HT-29/B6, einem etablierten Modell des Kolonkryptenepithels (Kreusel et al., 1991), und am nativen Kolon der Maus durchgeführt. Intravitale Time lapse-Videomikroskopie und konfokale Fluoreszenzmikroskopie wurden genutzt um zu zeigen, daß sich die benachbarten Zellen schnell in den Defekt schieben ohne das eine Migration entfernter Zellen zu beobachten ist. Mit Hilfe einer Variante der neuen Conductance scanning-Methode konnte das Leck, das durch eine artifizielle Einzelzell-Läsion verursacht wird, quantifiziert und der zeitliche Verlauf der funktionellen Restitution bestimmt werden.

Bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED: z.B. Morbus Crohn und Colitis ulcerosa) wurde gezeigt, daß Änderungen der Zytokinproduktion für die Pathogenese von Bedeutung sein könnten. Basierend auf diesen Erkenntnissen werden zur Zeit u.a. Inhibitoren gegen das proinflammatorische Zytokin TNF- α therapeutisch eingesetzt. Erstmals gelang es im Rahmen dieser Arbeit, die Restitution nach einer Einzelzell-Läsion am nativen Kolon zu messen und den Effekt von Zytokinen auf die Restitution zu untersuchen. Es zeigte sich, daß proinflammatorische Zytokine nicht nur den epithelialen Zelltod durch Apoptose unterstützen (Gitter et al., 2000a), sondern auch die

Restitution hemmen. Eine medikamentöse Hemmung der Zytokine mittels Antikörpern im Rahmen von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Van Dullemen et al., 1995) könnte also auch den Restitutionsmechanismus im entzündeten Kolon beschleunigen.