

Molekulare Mechanismen der Entstehung der Gastroschisis nach Bestrahlung der Mausembryonen in der Präimplantationsphase

Sonja Hillebrandt, Essen

Die Erfahrungen, die im Laufe der Jahre mit Hilfe epidemiologischer Daten beim Menschen und mit Hilfe von Tierexperimenten gewonnen wurden, machen folgende Risikozuordnungen wahrscheinlich: Hauptrisiko nach Strahlenbelastungen während der Präimplantationsphase ist der frühe Embryontod, nach Belastungen während der Organbildungsperiode das Auftreten von Fehlbildungen und nach Exposition während der Fötalperiode die Verzögerung von Wachstumsvorgängen und geistige Retardierung. Diese Darstellung der Risiken hat nun einige Autoren dazu veranlaßt, für die Präimplantationsperiode allgemein eine "Alles-oder-Nichts" Regel aufzustellen: entweder stirbt der Embryo nach einer Strahlenbelastung oder er überlebt gesund. Betrachtet man die Literatur-Daten, so kann man zunächst den Eindruck gewinnen, daß die „Alles-oder-Nichts" Regel tierexperimentell gut begründet ist. Auf der anderen Seite gibt es offensichtlich Mäusestämme, die nach Strahlenexposition während der Präimplantationsphase mit Fehlbildungen reagieren. Einen wesentlichen Beitrag zur Erforschung des Fehlbildungsrisikos nach Strahlenexposition während der Präimplantationsphase leisteten die am Institut für Medizinische Strahlenbiologie in Essen durchgeführten Experimente. Sie zeigten, daß beim Heiligenberger Mäusestamm eine dosisabhängige Zunahme der Anzahl an mißgebildeten Föten nach Bestrahlung trächtiger Weibchen 1 h nach der Konzeption (1-Zellstadium) mit Röntgenbestrahlung oder Neutronen erfolgt. Die am häufigsten beobachtete Mißbildung war die Gastroschisis. Bei dieser Mißbildung handelt es sich um einen Bauchwandbruch ohne Bruchsack. Ein Teil der Abdominalorgane, meist der gesamte Darmkanal, liegen außerhalb der Bauchhöhle.

Von der Bestrahlung im 1-Zellstadium ist nur eine Zelle betroffen, aus der alle weiteren Zellen des Organismus hervorgehen. So kann der Zelltod, die häufig diskutierte Ursache für die Induktion von Mißbildungen während der Organogenese, für die Entwicklung von Mißbildungen nach Strahlenexposition im 1-Zellstadium nicht verantwortlich sein. Hinweise, daß auf der genetischen Ebene mit Veränderungen zu rechnen ist, liefern cytogenetische Untersuchungen. Sie zeigen, daß die Häufigkeit an unspezifischen chromosomalen Aberrationen (Chromosomen- und Chromatid-Brüche) in Fibroblasten-Kulturen von Explantaten der Haut bestrahlter Mäuse mit Gastroschisis höher ist als in

den Zellen bestrahlter Tiere ohne die Mißbildung. Mit Hilfe cytogenetischer Untersuchungen können nur grobe genomische Schäden identifiziert werden. Daher erschien es von hohem Interesse, den Mechanismus der Entstehung dieser Fehlentwicklung auf den molekularen Ebenen der Proteinexpression und der DNA (Genom) zu untersuchen. Die Aufklärung dieser Mechanismen ist für die Bewertung des pränatalen Strahlenrisikos und damit für den Strahlenschutz von großer Bedeutung.

Mit Hilfe der 2-D Elektrophorese wurde die Proteinexpression in Organen von Föten mit einer durch Röntgenbestrahlung der Embryonen im 1-Zellstadium induzierten Gastroschisis analysiert. Mit dieser Methode kann eine enorm hohe Auflösung der Proteine erzielt werden. Punktmutationen, die zu einem Aminosäure-Austausch und damit zu einer möglichen Änderung des isoelektrischen Punktes führen, können so erkannt werden. In den 2-D Mustern bzw. der quantitativen Ausmessung einzelner Proteinspots kann auch eine Veränderung in der Konzentration von Proteinen erkannt werden, was für die hohe Empfindlichkeit dieses Systems spricht. Das Ziel dieser Untersuchung war, Veränderungen in der Proteinexpression in der Leber bestrahlter Föten mit Gastroschisis im Vergleich zu den Föten ohne die Mißbildung zu analysieren. Die beobachteten Proteinveränderungen sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf Mutationen zurückzuführen. Sie können jedoch nicht ursächlich für die Entwicklung von Gastroschisis sein, weil sie nicht in allen Tieren mit der Mißbildung vorkommen. Es scheint, daß die erhöhte Häufigkeit an Proteinveränderungen eher auf eine allgemein erhöhte Schädigung der DNA zurückzuführen ist als auf einen spezifischen, direkt an der Induktion dieser Mißbildung beteiligten Schaden.

Die auf cytogenetischer- und Proteinebene durchgeführten Experimente geben Hinweise darauf, daß Mutationen eine Ursache für die Entwicklung von Gastroschisis sein könnten. Es ist nun der Versuch unternommen worden, die beteiligten Gene zu kartieren. Die Voraussetzung für die Kartierung der Gastroschisis-Gene ist die Ermittlung des Vererbungsmodus dieser Mißbildung (rezessiv oder dominant). Um dieses herauszufinden, wurde der strahlensensitive HLG/Zte-Mäusestamm mit dem strahlenresistenten C57BL/6J-Stamm gekreuzt. Während im HLG/Zte-Stamm spontan 3% und nach Bestrahlung der Zygoten mit 1 Gy Röntgenstrahlung 11 % der überlebenden Föten eine Gastroschisis zeigten, kamen im C57BL/6J-Stamm selbst nach Bestrahlung keine Mißbildungen dieser Art vor. Da in den Hybriden (HLG/Zte x C57BL/6J) der Anstieg der Gastroschisis nach Bestrahlung ebenfalls nicht zu sehen ist, wird für diese Mißbildung ein rezessiver Vererbungsmodus angenommen.

Für die Kartierung der an der Entwicklung von Gastroschisis beteiligten Genregionen, ist eine Segregationsanalyse der BC1-Tiere mit Mikrosatelliten-Markern durchgeführt worden. Mit Hilfe der statistischen Kopplungsanalyse, die die Segregation von Marker-Allelen abhängig von dem Phänotyp der Tiere

vergleicht, konnten Genbereiche auf den Chromosomen 7, 13 und 19 eingegrenzt werden, die für die Entwicklung der Gastroschisis in Betracht kommen: in der Region von D7Mit148 (eng gekoppelt an das Gen für die embryonale Ektoderm-Entwicklung), D13Mit248 (gekoppelt an das Homeo-box Gen Msx-2) und D19Mit27 (gekoppelt an Pax2). Diese an Entwicklungsvorgängen beteiligten Gene sind als Kandidaten für die Gastroschisis von Interesse. Insbesondere ist das eed-Gen ein ganz wichtiger Kandidat, weil es in einer Region auf dem Chromosom 7 liegt, die eine hohe Strahlenempfindlichkeit aufweist. Es ist also möglich, daß bei Tieren mit Gastroschisis in diesen Genen Mutationen auftreten. Zur Zeit erfolgt die Sequenzanalyse der Kandidaten-Gene.

Die Gastroschisis ist ein Defekt, der auch beim Menschen vorkommt und in der medizinischen Genetik derzeit mit einem multifaktoriellen Modell behandelt wird. Es ist wichtig, daß wir als Modell einen Inzuchtmäusestamm untersuchen, der eine genetische Prädisposition für Gastroschisis hat. Diese Prädisposition bedingt möglicherweise auch die erhöhte Strahlenempfindlichkeit. In der Zukunft sind weitere Untersuchungen der Interaktionen multipler Gene und Umweltfaktoren notwendig, um das individuelle Risiko richtig bewerten zu können.