

5 Zusammenfassung

Die „spotting lethal rat“, ein Tiermodell für die Hirschsprung Erkrankung des Menschen, entstand aus einer Spontanmutation, die erstmals von IKADA et al. (1979) beschrieben wurde. Dieser Rattenstamm besitzt eine Deletion des ET_B -Gens, welche einen funktionellen Ausfall des ET_B -Rezeptors verursacht. Der ET_B -Rezeptor moduliert die Endothelin-Wirkungen auf Gefäße und die Zellproliferation sowie -migration während der Embryonalphase. Wildtypen und heterozygote Tiere dieses Rattenstammes weisen denselben Phänotyp auf, während die homozygoten Mutanten nur fokale pigmentierte Stellen besitzen und sich von Geburt an nicht adäquat entwickeln. Sie weisen eine Konstriktion distaler Darmabschnitte mit sekundärer Dilatation der proximal dieser Stenose gelegenen Abschnitte auf.

In dieser Dissertation wurde unter anderem die Effekte von Homo- (sl/sl) und Heterozygotie (+/sl) auf den Phänotyp, die intestinale Morphologie und die Überlebenszeit untersucht.

Neben der Messung des Gewichts der Tiere, des Bauchumfangs und der Serum-Albumin-Spiegel erfolgten histologische Untersuchungen aller Organe sowie immunhistochemische Reaktionen mit den Antikörpern Peripherin, S-100 und GFAP von Darmquerschnitten aus verschiedenen Lokalisationen des Dün- und Dickdarmes. Außerdem wurden mit dem Antikörper Peripherin immunhistochemisch gefärbte Querschnitte von Jejunum und Kolon morphometrisch analysiert. Ein "Sepsis-Screening" beinhaltete die Suche histologischer Anzeichen von Enterkolitiden, bakterieller Infektionserreger, Endotoxinen und iNOS (induzierbaren Stickoxid-Synthasen).

Die sl/sl-Ratten starben innerhalb der ersten vier Lebenswochen, wobei sich eine früh sterbende („early onset“) und eine spät sterbende („late onset“) Gruppe unterscheiden lassen. Bauchumfang und Körpergewicht nahmen sowohl bei den Wildtypen als auch bei den sl/sl-Ratten zunächst kontinuierlich zu, bis die sl/sl-Ratten dann im moribunden Stadium schließlich eine weitere Zunahme des Bauchumfangs ohne korrelierende Gewichtszunahme aufwiesen. Serum-Albumin-Spiegel waren in beiden Gruppen erniedrigt, während es kaum Anzeichen für eine Sepsis gab und iNOS-Expression, Endotoxine und positive bakteriologische Organkulturen nur sporadisch vorkamen. Durch die Immunhistochemie konnten Vakuolisierung und teilweise vollständiges Fehlen der Nerven- und Gliazellen im gesamten Darm der sl/sl-Ratten und in geringerem Grad auch bei den +/sl-Ratten, welche klinisch normal erschienen, erkannt werden. Morphometrische Analysen der Peripherin-positiven Flächen in

Jejunum und Kolon der verschiedenen Genotypen erbrachte lediglich statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich der sl/sl-Ratten mit den Wildtypen. Die anderen Organe waren ohne besonderen Befund.

Die sl/sl-Ratten sterben primär aufgrund der Mangelernährung ohne Anzeichen einer Sepsis. Ratten der „late onset“-Gruppe sind ein adäquates Modell, um den ET_B-Rezeptor *in vivo* zu untersuchen. Geringgradig ausgeprägte Abnormitäten im enterischen Nervensystem der Heterozygoten unterstreichen die bedeutende Rolle des Heterosiseffektes bzw. der Gen-Dosis (Anzahl der mutierten Allele im Genom) für die funktionelle Kompensation.

6 Summary

Pathomorphological characterization of spotting lethal rat

The spotting lethal rat is a model für Hirschsprung's disease first described by IKADAI et al. (1979). They carry a deletion in the ET_B gene, causing functional lack of ET_B receptors. The ET_B receptor mediates endothelin actions on vessels, cell proliferation and migration in the developing embryo. Wild types and heterozygous animals show the same inconspicuous phenotype, whereas homozygous animals develop poorly from birth and only occasionally have coat pigments. They also show a persistently contracted distal segment of the gut, with dilated normal gut proximally to the aganglionic segment.

This study investigated the effect of homo- (sl/sl) or heterozygosity ($+/sl$) on phenotype, intestinal morphology and survival. For this purpose weight, abdominal circumference, and serum albumin were measured. In addition to the histology of organs, immunoperoxidase reactions for Peripherin, GFAP and S-100 were performed in small and large intestine. Peripherin-immunostained sections of colon and jejunum were morphometrically analyzed. Screening for sepsis included search for enterocolitis, bacterial infection, endotoxin and iNOS mRNA.

The sl/sl rats died within the first four weeks of life, revealing an early („early onset“) and a late („late onset“) death group. Contrary to the sl/sl group, the ratio of weight to abdominal circumference showed a steady increase in the control group, with a reduction in weight gain and an increase in abdominal circumference noted in the moribund stage. Serum albumin levels were lower in sl/sl rats, but signs of sepsis were rare and endotoxin, iNOS mRNA and bacterial infections were found only occasionally. Alterations highlighted by immunostaining included vacuolisation and partly total loss of nerve and glial cells throughout the gut of sl/sl rats and to a mild degree also in clinically normal $+/sl$ rats. Morphometrical quantification only yielded statistically significant alterations in sl/sl rats in comparison with the wildtypes only. No obvious abnormalities were found in other organs.

Sl/sl rats die from malnutrition rather than sepsis, too early for ischemic complications to occur. Rats of the later death group are a suitable model for studying the ET_B receptor *in vivo*. Mild abnormalities in the enteric nervous system of heterozygous rats underline the critical role of the gene dose (number of mutant alleles in the genome) for functional compensation.