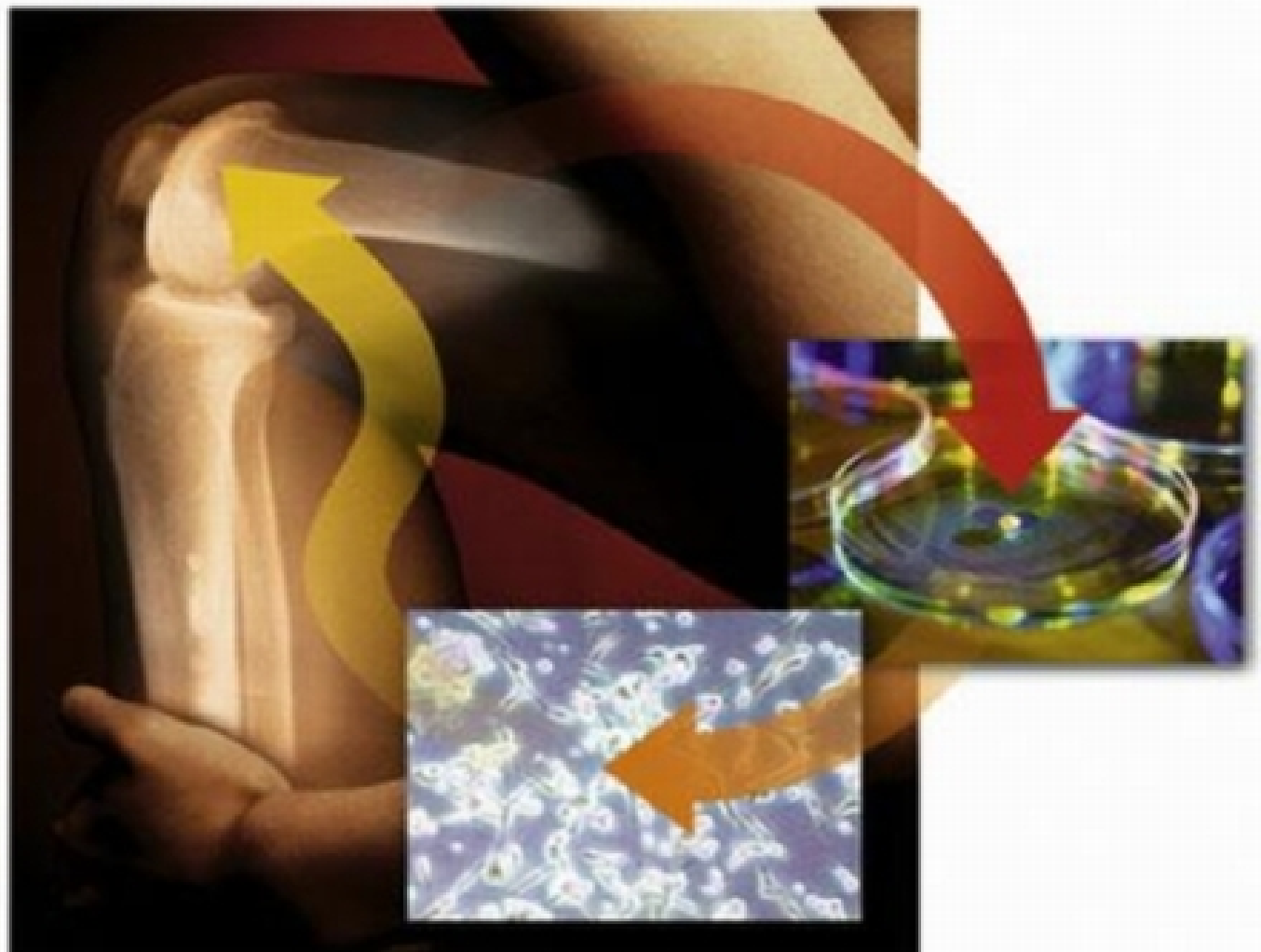


W. W. Minuth, R. Strehl, K. Schumacher

WILEY-VCH

# Zukunftstechnologie Tissue Engineering

Von der Zellbiologie zum künstlichen Gewebe



# Contents

## **Vorwort**

## **1 Entwicklungsvorgänge**

## **2 Zellen und Gewebe**

### **2.1 Die Zelle**

### **2.2 Gewebearten**

## **3 Klassische Kulturmethoden**

### **3.1 Historie**

### **3.2 Erste Kulturen**

### **3.3 Gewebekultur**

### **3.4 Organkultur**

## **4 Tissue Engineering**

### **4.1 Zelltherapien**

### **4.2 Gewebekonstrukte**

### **4.3 Organmodule**

### **4.4 Kosmetische Maßnahmen**

## **5 Konzepte zur Gewebeherstellung**

### **5.1 Quellen**

### **5.2 Stammzellen**

### **5.3 Zellen aus Geweben**

### **5.4 Matrices**

**5.5 Kulturtechniken für das Tissue Engineering**

**5.6 Praxis der Perfusionskultur**

## **6 Reifung von Gewebekonstrukten**

**6.1 Primär- und Sekundärkontakte**

**6.2 Strukturanlage**

**6.3 Terminale Differenzierung**

**6.4 Einflüsse des Kultur-Environments auf die Entwicklung von Geweben**

**6.5 Schritt für Schritt**

**6.6 Gewebefunktion nach Implantation**

**6.7 Die Gewebeentwicklung verläuft in drei Schritten**

## **7 Entwicklung des Perfusionssystems Tissue Factory**

**7.1 Ansprüche an das Kultursystem**

**7.2 Artifizielles Interstitium**

**7.3 Smart Matrices**

**7.4 Optimales Gehäuse für das Perfusionssystem**

**7.5 Versorgung des reifenden Gewebes mit Medium**

## **8 Sicherung der Gewebequalität**

**8.1 Normen und Zellbiologie**

**8.2 Beurteilung der Komplexität**

**8.3 Expressionsverhalten**

**8.4 Eignung eines Scaffolds**

**8.5 Versteckte Heterogenität**

**8.6 Untersuchung zellulärer Ultrastrukturen**

**8.7 Funktionsübertragungen**

**8.8 Qualitätssicherung**

**8.9 Implantat-Host-Interaktionen**

**9 Perspektiven**

**10 Ethische Aspekte**

**Glossary**

**Herstellerfirmen**

**Literatur**

**Register**

# Zukunftstechnologie Tissue Engineering

Von der Zellbiologie zum  
künstlichen Gewebe

*Herausgegeben von*

*W. W. Minuth, R. Strehl, K. Schumacher*



WILEY-  
VCH

WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

***Bitte beachten Sie auch folgende Titel***

R.Schwarz, M. Wenthe, H. Gasse

**Histologie Lernprogramm**

**2002**

ISBN 3-527-30636-6

B.Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter

**Molekularbiologie der Zelle**

**December 2003**

ISBN 3-527-30492-4

R.I.Freshney, R. Pfragner

**Culture of Human Tumor Cells**

**April 2003**

ISBN 0-471-43853-7

**Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) Forschung  
mit menschlichen Stammzellen/ Research with  
Human Embryonic Stem Cells**

**Denkschrift/Memorandum**

**March 2003**

ISBN 3-527-27219-4

R.D.Schmid

**Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik**

**2001**

ISBN 3-527-30865-2

P.J.Quesenberry, G.S. Stein, B. Forget, S. Weissman

**Stem Cell Biology and Gene Therapy**

**1998**

ISBN 0-471-14656-0

# ***Herausgeber***

Prof. Dr. Will W. Minuth

Universität Regensburg

Institut für Anatomie

Universitätsstrasse 31

93053 Regensburg

Dr. Raimund Strehl

Universität Regensburg

Institut für Anatomie

Universitätsstrasse 31

93053 Regensburg

Dr. Karl Schumacher

Universität Regensburg

Institut für Anatomie

Universitätsstrasse 31

93053 Regensburg

**Wichtiger Hinweis:**

Forschung und klinische Tätigkeit erweitern permanent unsere Kenntnis. Soweit in diesem Buch deshalb eine Dosierung oder Applikation angesprochen wird, so darf der Leser darauf vertrauen, dass diese Angaben dem Wissensstand bei der Fertigstellung des Buches entsprechen. Dennoch gilt für jeden Benutzer, die Beipackzettel der verwendeten Präparate und Medizinprodukte zu überprüfen und in eigener Verantwortung Empfehlungen für Dosierung und Kontraindikationen in den jeweiligen Ländern zu beachten.

## **Finden der Literatur zu den Suchbegriffen**

Da auf dem Gebiet der Zellbiologie und des Tissue Engineering ein enorm großer und vor allem ein sehr schneller Wissenszuwachs zu verzeichnen ist, haben wir anstatt Literaturreferenzen zu jedem Kapitel eine Reihe von Suchkriterien zusammengestellt. Anhand dieser ausgewählten Stichworte kann in jeder medizinischen oder biologischen Datenbank wie z.B. PubMed oder Biological Abstracts stets die aktuelle Literatur zum Thema abgerufen werden.

Das vorliegende Werk wurde sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Herausgeber, Autoren und Verlag für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler keine Haftung.



## **Bibliografische Information**

### **Der Deutschen Bibliothek**

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

© 2003 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Fotokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden.

Print ISBN 978-3-527-30793-7

Epdf ISBN 978-3-527-60890-4

Epub ISBN 978-3-527-65980-7

Mobi ISBN 978-3-527-65981-4

# ***Vorwort***

Warum zu dieser Zeit dieses Buch? Einiges ist zusammen gekommen. Bei der Umstrukturierung unseres Labors mussten wir aufräumen, ordnen und archivieren. Viel interessantes Material aus vergangenen Tagen war aus ganz unterschiedlichen Gründen liegen geblieben, nicht weiter geführt und deshalb auch nicht veröffentlicht worden. Beim Sichten der Daten und Bilder stellten wir fest, dass wir aus nicht gelungenen Experimenten eigentlich viel mehr gelernt hatten als aus Versuchen, deren Daten nahtlos in das gerade gewählte Versuchsdesign passten. Wenn wir auf Schwierigkeiten gestoßen waren, haben wir nicht aufgegeben. Immer wieder stellten wir neue Fragen und führten weitere Experimente durch, bis wir zu logischen Erklärungen kamen.

Hinzu kam, dass wir im Laufe der Jahre viele Kurse für Zell- und Gewebekultur sowie Tissue Engineering für Teilnehmer aus dem In- und Ausland durchgeführt haben. Unsere Kursteilnehmer stellten dabei häufig so interessante und grundlegende Fragen, die aber mit Hilfe der bisher geschriebenen Bücher ungenügend oder gar nicht beantwortet werden konnten. Zur Lösung der Probleme waren intensive Recherchen in Datenbanken notwendig. Die Antworten zu diesen vielen Fragen haben wir skizziert, strukturiert und als Basiswissen in den vorliegenden Text eingearbeitet.

Obwohl wir täglich Studenten in mikroskopischer Anatomie ausbilden, ist uns beim Schreiben des vorliegenden Textes immer mehr klar geworden, wie wenig über die Entwicklung von funktionellen Geweben bekannt ist. Aber gerade dieser Aspekt hat zukünftig eine enorm große Bedeutung für die Herstellung von Gewebekonstrukten aus adulten Zellen oder aus Stammzellen bei der Anwendung am Patienten. Aus einzeln vorliegenden Zellen müssen sozial agierende Zellverbände hergestellt und als funktionelle Gewebe dem

Patienten implantiert werden. Dabei darf es keine Gesundheitsgefährdung geben.

Dieses Buch stellt theoretische Grundlagen und experimentelle Konzepte vor, die den Einstieg in das neue Gebiet des Tissue Engineering ermöglichen sollen. Darüber hinaus soll das Buch Studenten, technischen Mitarbeitern und jungen Wissenschaftlern/innen Einblicke in die faszinierende Welt von entwicklungsfähigen Zellen und Geweben geben. Wir müssen uns darüber im Klaren sein, dass wir erst am Anfang einer sehr spannenden und zukunftsorientierten wissenschaftlichen Entwicklung stehen. Deshalb müssen wir uns erst darauf einrichten, viel Neues über die Entwicklung von Geweben zu lernen. Nach genügender experimenteller Erfahrung wird sich noch im Laufe dieser Dekade das Tissue Engineering von einer rein empirischen zu einer analytisch reproduktiven Wissenschaft verändern. Wir werden lernen, die Gewebeentwicklung Schritt für Schritt zu überblicken und sie experimentell zu simulieren. Neben den molekularbiologischen Abläufen einer Gewebeentwicklung werden die epigenetischen Faktoren des Mikroenvironments dabei eine sehr große Rolle spielen. Außerdem müssen wir uns darauf einstellen, dass mit den Methoden der Zellkultur kein funktionelles Gewebe generiert werden kann.

Will W.Minuth, R. Strehl, K. Schumacher

Regensburg im Februar 2003

# **1**

## ***Entwicklungsvorgänge***

Zell-, Gewebe- und Organkulturen sind heute aus der biomedizinischen Forschung nicht mehr wegzudenken. Dies hat ganz unterschiedliche Gründe. Zum einen wurden in den letzten Jahren enorme Fortschritte bei der Klärung molekular- und zellbiologischer Vorgänge mithilfe kultivierter Zellen erzielt, zum anderen ist die industrielle Produktion von vielen Medikamenten und Antikörpern ohne die verschiedenen Zellkulturen nicht mehr vorstellbar. Schließlich werden kultivierte Zellen immer wieder als eine mögliche Alternative zu Experimenten an Tieren in die Diskussion gebracht.

Alle Zellen unseres Organismus können mit den zur Verfügung stehenden modernen Methoden heute aus Geweben isoliert werden. Zudem können so gut wie alle Zellen heutzutage ohne größere Schwierigkeiten sowohl in analytisch kleinem wie auch im technisch großem Maßstab für die unterschiedlichsten Aufgaben kultiviert werden. Die Größenskala reicht von einzelnen Zellen in einem hängenden Tropfen bis zu Bioreaktoren mit tausenden von Litern Kulturmedium. Bei diesen Techniken kann man auf einer inzwischen circa 50jährigen experimentellen Erfahrung mit Zellkulturen aufbauen. Schlagworte für die moderne industrielle Anwendung und die damit verbundenen Arbeiten sind Cell culture engineering, Metabolic engineering, Bioprocessing genomics, Viral vaccines, Industrial cell culture processing, Process technology, Cell kinetics, Population kinetics, Insect cell culture, Medium design, Viral vector production, Cell line development,

Process control und Industrial cell processing. Allerdings geht es bei fast allen diesen Vorhaben um eine spezielle Art der Kultur. Die jeweiligen Zellen sollen sich so schnell wie möglich vermehren, um mit hoher Effizienz ein Bioprodukt wie z.B. ein Medikament oder einen Impfstoff zu synthetisieren. Für alle diese Arbeiten wurde im Lauf der letzten Jahre eine breite Palette an innovativen Geräten entwickelt. Zudem sind Anwendungen so gut optimiert, dass in den nächsten Jahren kaum noch Effizienzsteigerungen zu erwarten sind. Informationen zu diesem speziellen Themenkomplex stehen zudem in einer großen Auswahl an bisher erschienenen Büchern zur Verfügung.

Ganz anders muss das Arbeiten mit Gewebekulturen und damit das Tissue Engineering gesehen werden. Hierbei geht es um den Erhalt bzw. um die Herstellung von funktionellen Geweben und Organteilen auf der Basis von kultivierten Zellen. Diese Konstrukte sollen zur Unterstützung der Regeneration, als Implantate oder als bioartifizielle Module am Krankenbett genutzt werden. Beim Tissue Engineering handelt es sich um eine vergleichsweise junge Technik, die auf einem erst ca. 10-15 Jahre alten Erfahrungsschatz aufbauen kann. Ganze Wissenschaftszweige aus dem Bereich der Biomaterialforschung, den Ingenieurwissenschaften, der Zellbiologie, der Biomedizin und den einzelnen Disziplinen in der Chirurgie müssen hier eng zusammen arbeiten.

Einerseits wurden in den letzten Jahren beachtliche Fortschritte bei der Herstellung von artifiziellen Geweben mit den gegenwärtig zur Verfügung stehenden Methoden gemacht. Andererseits ist es dennoch eine Tatsache, dass die hergestellten Konstrukte noch nicht die notwendige gewebespezifische Qualität aufweisen. Leberparenchymzellen in bioartifiziellen Modulen z.B. zeigen nur einen Bruchteil ihrer ursprünglichen Entgiftungsleistung, implantierte Pankreasinselzellen verlieren mit der Zeit ihre

Fähigkeit zur Insulinsynthese, Nierenepithelien wollen die benötigte Barriere bzw. Transportfunktion nicht aufrecht erhalten und Knorpel- bzw. Knochenkonstrukte bilden eine zu wenig belastbare extrazelluläre Matrix. Zudem kommt es häufig vor, dass Proteine von den Gewebekonstrukten gebildet werden, die untypisch sind und bei der medizinischen Anwendung Entzündungen, ja sogar Abstoßungsreaktionen hervorrufen können.

In der Öffentlichkeit wird von den Medien meist der Eindruck erweckt, dass schon in den nächsten Tagen fast sämtliche bisher unheilbare Krankheiten mit einer Zelltherapie, dem Tissue Engineering oder dem Bau eines Organs therapiert werden können. Bevorzugt sollen dazu Stammzellen verwendet werden. Im Rampenlicht stehen ganz besonders die embryonalen Stammzellen, deren zukünftige Bedeutung in diesem Zusammenhang noch völlig offen ist und deren zellbiologischen Fähigkeiten kritiklos zu begeistern scheinen. Bei genauerer Betrachtung jedoch wird klar, dass die meisten Kenntnisse bisher an pluripotenten Stammzellen des hämatopoetischen Systems gewonnen wurden. Weitaus weniger Erfahrungen sind über die embryonalen Stammzellen bei Versuchs- und Nutztieren bekannt, ganz wenig und wirklich überprüfte experimentelle Daten gibt es zu den embryonalen Stammzellen des Menschen. Die in dieser Hinsicht gewonnenen Ergebnisse erscheinen neuerdings oft wenig euphorisch und offenbaren eine Menge an noch ungelösten Problemen.

Vergleichsweise wenig Kenntnis gibt es bisher auch zur Entwicklung von totipotenten Stammzellen des Menschen. Hier wird die internationale Forschung erst innerhalb des kommenden Jahrzehnts zeigen, ob die Versprechungen vieler Biotechfirmen einer kritischen Analyse wirklich standhalten. Mit isolierten Stammzellen allein kann man bei der Regeneration von funktionellen Geweben zunächst nichts bewirken. Stammzellen müssen wie alle anderen

Gewebezellen zuerst einmal in genügender Menge vermehrt werden, dann soziale Zellverbände bilden und sich durch heute noch viele unbekannt Mechanismen zu spezialisierten Geweben entwickeln. In einem entstehenden Organismus laufen diese Entwicklungsvorgänge wie selbstverständlich ab. Versucht man dagegen unter in-vitro-Bedingungen diese Vorgänge zu simulieren, so stellt man fest, dass sich mit den heutigen Strategien noch recht unvollständige Eigenschaften in den Konstrukten entwickeln.

Zukünftiger Themenschwerpunkt beim Tissue Engineering ist es deshalb aus unserer Sicht herauszufinden, wie funktionelle Gewebe in Kultur generiert werden können und wie die Ausbildung von Eigenschaften individuell gesteuert werden kann. Artifizelle Gewebe werden nur dann für den Menschen eine sinnvolle Therapieform darstellen, wenn ohne dem Patienten zu schaden damit eine Erkrankung überwunden werden kann. Dabei muss das hergestellte Gewebe die notwendigen funktionellen Eigenschaften als Regenerationsgewebe, Implantat oder Biomodul aufweisen.

Jeden Tag haben wir in der Makroskopischen sowie in der mikroskopischen Anatomie mit allen Arten von funktionellen Geweben des erwachsenen Organismus zu tun. In Bereichen des erwachsenen Organismus und damit am Endpunkt der Entwicklung kennen wir uns naturgemäß aus. Zahlreiche gesicherte Erkenntnisse gibt es auch zur frühembryonalen Entwicklung des Menschen, da viel über die Entwicklung der Urgewebe in den Keimblättern des Embryo gearbeitet wurde. Jeder Zeitpunkt und Ort der Entstehung eines bestimmten Gewebes oder Organs ist genau untersucht worden. Überraschend wenig ist dagegen über die Entwicklungsmechanismen in den entstehenden funktionellen Geweben bekannt. Die Kenntnis über diese Entwicklung allerdings beinhaltet den Schlüssel zur Herstellung von optimalen artifizellen Geweben.

Die einzelnen Datenbanken sind wenig ergiebig, wenn Daten zur funktionellen Gewebeentstehung abgefragt werden. Es mag überraschen, aber wir konnten auch kein Buch über die Vorgänge bei der funktionellen Gewebeentstehung finden. In jüngerer Zeit sind jedoch auf diesem Gebiet verstärkte Aktivitäten zu beobachten. Es gibt verschiedene Ansätze, die Entstehung der Grundgewebe mit ihren funktionellen Facetten molekularbiologisch zu erklären. Treibende Kraft dafür sind sicherlich die Stammzellen. Es hat sich gezeigt, dass sich auch diese Zellart nicht automatisch zu den einzelnen funktionellen Geweben entwickelt. Nur die genaue Kenntnis über die spezifische Entwicklungsphysiologie kann zur Generierung von optimalen Geweben führen.

Im Bereich der regenerativen Medizin gibt es faszinierende und noch völlig ungeklärte Fragen, warum sich z.B. manche Zellen in einem Organismus ein Leben, Monate oder Wochen lang nicht teilen, während andere Zellen innerhalb von Tagen erneuert werden. Häufig liegen beide Vorgänge sogar unmittelbar benachbart in den einzelnen Geweben vor. Dies kann nicht allein auf die Wirkung von Wachstumsfaktoren und morphogene Substanzen zurückgeführt werden. Vielmehr muss das jeweilige Mikromilieu und die Zellinteraktion einen wesentlichen Einfluss auf das individuelle Regenerationsverhalten haben. Dies bedeutet, dass zukünftig der Blick für die Entwicklungsbedürfnisse von Geweben neu geschärft und entsprechend erweitert werden muss.

**[Suchkriterien: Cell culture; Organ culture; Tissue culture; Tissue Engineering]**



# 2

## ***Zellen und Gewebe***

### **2.1 Die Zelle**

Sowohl natürliche Gewebe wie auch künstliche Gewebekonstrukte bestehen aus vielen verschiedenen zellulären Elementen und der dazugehörigen spezifischen extrazellulären Matrix (ECM). Dabei müssen die Zellen untereinander vielzellige Verbände bilden und in hohem Maß mit der extrazellulären Matrix interagieren. Bevor man an die Herstellung von künstlichen Geweben denkt, ist es deshalb notwendig ein grundlegendes Wissen über Zellen und natürliche Gewebe zu haben. Im Folgenden können aus verständlichen Gründen allerdings nur einige wichtige Aspekte der mikroskopischen Anatomie vermittelt werden.

#### **2.1.1 Die Zelle als funktionelle Einheit**

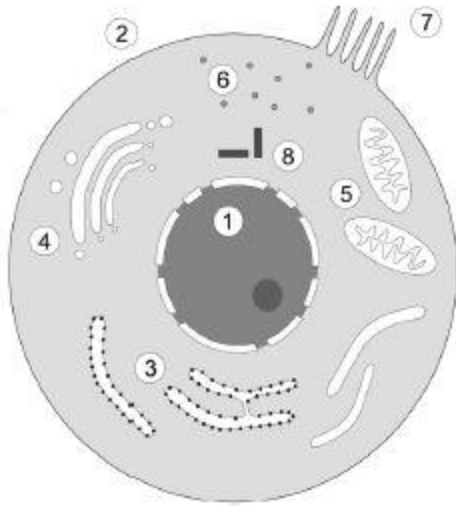
Zuerst sollen Zellen des Menschen als kleinste funktionelle Einheit des Lebens schematisch vorgestellt werden. Als typische Eigenschaft einer lebenden Zelle wird generell angegeben, dass sie adäquat auf Reize, wie z.B. auf Hormone reagiert. Ein weiteres typisches Charakteristikum ist, dass sich ihre Zellzahl durch Teilung in regelmäßigen Zeitabständen verdoppelt. Diese Aussage trifft auf alle embryonalen sowie auf Zellen des reifenden Organismus zu. Für Zellen in einem Gewebe des erwachsenen Organismus dagegen gibt es spezifische Unterschiede. Zellen in der Darmschleimhaut werden innerhalb weniger Tage erneuert, während sich Parenchymzellen in der Leber oder der Niere

nur nach Jahren teilen. Herzmuskelzellen und Neurone teilen sich normalerweise ein Leben lang nicht mehr.

Der menschliche Körper besitzt etwa  $1 \times 10^{13}$  in enger sozialer Gemeinschaft lebende Gewebezellen. Zusätzlich finden sich  $3 \times 10^{13}$  Blutzellen, die zum großen Teil in isolierter Form in der Blutbahn nachgewiesen werden. Die Zellgröße variiert dabei sehr stark. Der Durchmesser von Gliazellen (Nervengewebe) beträgt ca.  $5 \mu\text{m}$ , der von Spermien  $3 - 5 \mu\text{m}$ , von Leberzellen  $30 - 50 \mu\text{m}$  und der einer menschlichen Eizelle  $100 - 120 \mu\text{m}$ .

Ebenso wie die Größe ist die Gestalt von Zellen sehr variabel angelegt. Zwischen Kugel- oder Spindelformen und der streng geometrischen Gestalt von Zellen in Epithelien werden alle Übergänge vorgefunden. Die Zelloberflächen können sowohl glatt als auch reliefartig gestaltet sein, zudem können individuelle Oberflächenvergrößerungen von einzelnen Mikrovilli bis hin zum spezialisierten Bürstensaum ausgebildet sein. Eine tierische oder menschliche Zelle ist von einer selektiv permeablen Plasmamembran umgeben ([Abb. 2.1](#)). Im Innern befindet sich das Zytoplasma mit dem Zellkern (Nukleus) und den anderen lebenswichtigen Organellen. Lichtmikroskopisch können nach einer Färbung die überwiegend basophilen Zellkerne leicht von dem meist azidophilen Zytoplasma unterschieden werden.

**[Abb. 2.1](#)**: Schematische Darstellung einer Zelle mit ihren Organellen. Dargestellt sind Zellkern (1), Plasmamembran (2), endoplasmatisches Retikulum (3), Golgi Apparat (4), Mitochondrien (5), Sekretgranula (6), Mikrovilli (7) und Zentriolen (8).



## 2.1.2 Plasmamembran

Die Plasmamembran ist eine biologische Membran, die physikochemische Kompartimente gegeneinander abgrenzt. Sie besteht aus einer Phospholipid-Doppelschicht, wodurch unpolare Moleküle wie  $O_2$  und  $CO_2$  frei diffundieren können. Sie stellt eine Barriere für Elektrolyte, Aminosäuren und Zuckermoleküle dar. Im Elektronenmikroskop erscheint sie als trilaminäre Struktur dunkel - hell - dunkel. In dieser Lipiddoppelschicht sind zahlreiche Proteine eingebaut, die u.a. durch gezielte Transportaufgaben oder als Hormonrezeptoren eine Mittlerfunktion für den Informationsaustausch zwischen dem Zytoplasma und dem Zelläußeren haben. Eine Zellmembran ist jedoch keine mechanisch feste und damit starre Struktur, sondern eine fluide, visköse und damit recht fragile Umhüllung. Sowohl die einzelnen Phospholipide als auch die Membranproteine sind mehr oder weniger frei in dieser Schicht beweglich. Neben den Phospholipiden gibt es noch andere Lipidmoleküle in der Doppelschicht, wie z.B. das Cholesterin, das einer gewissen Stabilisierung dient.

In der äußeren Lipidschicht sind in der Plasmamembran viele Glykolipide und Glykoproteine enthalten, deren Zuckerreste nach außen ragen und eine eigene Schicht

bilden, die als Glykokalix bezeichnet wird. Die in die Plasmamembran eingebauten Proteine bestehen aus integralen und assoziierten Membranproteinen, die jeweils hydrophobe und hydrophile Anteile enthalten. Die hydrophoben Anteile dienen zur Verankerung in der Lipidschicht, während die hydrophilen Anteile in den Extrazellulärraum oder aber ins Zytoplasma hineinreichen. Bei vielen dieser Proteine handelt es sich um Glykoproteine. Funktionell kann es sich z.B. um Transportproteine für Elektrolyte oder Aminosäuren, Rezeptorproteine für Hormone oder auch um Verankerungsproteine handeln.

Eine Hauptaufgabe der Plasmamembran ist ihre Funktion als Diffusionsbarriere. Sie kontrolliert über viele aktive oder passive Transportvorgänge, welche Moleküle in die Zelle hinein oder heraus gelassen werden. Eine weitere Aufgabe der Plasmamembran speziell bei Gewebezellen ist die Kommunikationsfähigkeit. Über die Plasmamembran können Zellen untereinander kommunizieren und dabei physiologischmechanische Zellkontakte durch Tight junctions oder Kommunikationskanäle über Gap junctions ausbilden. Dies dient sowohl einem kontrollierten Stoffaustausch, als auch der Zellerkennung oder der Signalverarbeitung. Diese Funktionen sind besonders wichtig, wenn sich aus einzelnen isoliert vorliegenden Zellen soziale Verbände entwickeln, aus denen dann funktionelle Gewebe entstehen.

### **2.1.3 Zellkern**

Mit Ausnahme von Erythrozyten haben alle menschlichen Zellen einen Zellkern. Der wichtigste Bestandteil des Zellkerns sind die Chromosomen. In ihnen ist die gesamte genetische Information enthalten. Zudem ist der Zellkern das Steuerorgan für viele Zellfunktionen. Der Zellkern mit den einzelnen Chromosomen kann lichtmikroskopisch nur während der Interphase, also zwischen zwei Mitosen

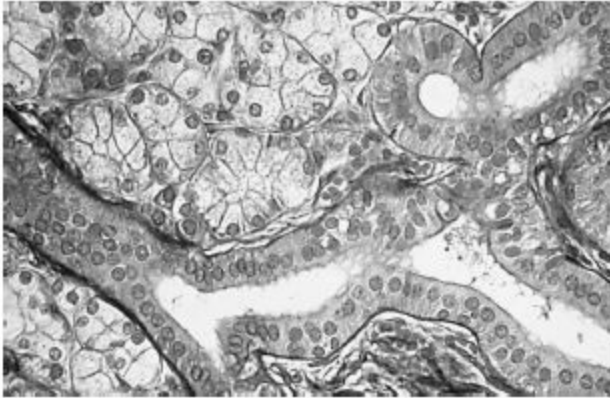
deutlich erkannt werden. Ebenfalls wird der Nucleolus nur in dieser Phase beobachtet. In der Regel besitzt eine Zelle nur einen Zellkern. Bei manchen Zellarten in speziellen Geweben kommen jedoch auch zwei oder auch mehrere Zellkerne vor. Dies ist bei Leberparenchymzellen, Osteoklasten und in der quergestreiften Muskulatur zu erkennen.

## 2.1.4 Mitochondrien

Die Mitochondrien stellen die Kraftwerke der Zellen dar und sind Träger von Enzymen, die dazu dienen, Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) zu gewinnen. Die charakteristischen Reaktionsprozesse in den Mitochondrien sind der Energie produzierende Zitronensäurezyklus und die  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren. An Stellen, an denen viele Mitochondrien innerhalb einer Zelle gefunden werden, ist davon auszugehen, dass sich auch hier Synthese- oder Arbeitsprozesse mit einem erhöhten Energiebedarf abspielen. Ein solcher Vorgang ist z.B. daran zu erkennen, dass die Plasmamembran stark aufgefaltet ist ([Abb.2.2](#)). Innerhalb der Falten kommen viele Mitochondrien zu liegen. Physiologische Transportuntersuchungen an solchen Zellen haben gezeigt, dass an dieser Stelle auch vermehrt energieverbrauchende Transportpumpen eingebaut sind, die den erhöhten Stoffaustausch bewerkstelligen. Solche Vorgänge sind z.B. deutlich als morphologisches Korrelat an den Zellen des Streifenstücks in den Speicheldrüsen zu beobachten.

**[Abb. 2.2:](#)** Histologische Darstellung einer exokrinen Drüse mit einem Streifenstück als Teil des Ausführungsganges. Die basale Plasmamembran ist stark aufgefaltet. In die Falten der Plasmamembran werden Mitochondrien eingesetzt, die die notwendige Energie für die an dieser Stelle ablaufenden Pumpvorgänge

liefern. Die Zellkerne werden aufgrund der Membranfaltung in die luminalen Zellseite gedrängt.



## 2.1.5 Endoplasmatisches Retikulum

Das endoplasmatische Retikulum spielt die entscheidende Rolle bei der Proteinbiosynthese. An freien Ribosomen (Polysomen) werden zyttoplasmatische Proteine gebildet, während am endoplasmatischen Retikulum Proteine der Plasmamembran, sowie sekretorische Proteine entstehen. Im Zytoplasma liegen die Ribosomen entweder einzeln, oder in Form kleiner Ketten vor, die Polyribosomen genannt werden. Die Polyribosomen sind über einen Strang messenger-RNA (mRNA) miteinander verbunden. An solchen Polyribosomen wird beispielsweise das sauerstoffbindende Protein Hämoglobin gebildet. Die an der Bildung von Glyko- und Lipoproteinen beteiligten Ribosomen dagegen geben ihr gebildetes Produkt nicht einfach ins Zytoplasma frei, sondern reichen es in das Lumen des endoplasmatischen Retikulums weiter. Dabei handelt es sich um ein Membransystem, das mit Röhren und Zisternen netzartig die Zellen durchzieht. Zum Teil ist es mit besonders vielen Ribosomen besetzt und wird dann als raues endoplasmatisches Retikulum (rER) bezeichnet. Bei den Ribosomen handelt es sich um Makromoleküle, die aus Proteinen und Ribonukleinsäuren aufgebaut sind und nicht von einer Membran umhüllt werden.

## **2.1.6 Golgi-Apparat**

In unmittelbarer Nachbarschaft zum endoplasmatischen Retikulum ist der Golgi-Apparat zu finden. Er besteht je nach Zelltyp aus unterschiedlich zahlreichen Dictyosomen und Golgi-Vesikeln. Die Dictyosomen oder Golgi-Felder erscheinen im elektronenoptischen Schnitt als Stapel von Membransäckchen, umgeben von zahlreichen Vesikeln. Im Golgi-Apparat werden die vom endoplasmatischen Retikulum kommenden Transportvesikel verarbeitet, in denen sich neu synthetisierte Proteine befinden.

Beispielsweise werden hier angelieferte Proteine mit speziellen Zuckermolekülen versehen. Daraus entstehen Glykoproteine oder Proteoglykane. Häufig erreichen Proteine erst durch diese Glykosilierung ihre biologische Funktionen.

## **2.1.7 Endosomen, Lysosomen, Peroxisomen**

Bei den Endosomen und Lysosomen handelt es sich um eine heterogene Organellengruppe, die den verschiedensten Stoffwechselprozessen dient. Lysosomen sind Membranbläschen mit einer sehr speziellen Enzymausstattung für die intrazelluläre Stoffaufarbeitung, Separierung und Verdauung. Die in den Lysosomen entstandenen Abbauprodukte können in das umgebende Zytoplasma weitergegeben oder gegebenenfalls wieder verwendet werden. Andererseits können die Lysosomen als Endspeicher nicht abbaubarer Restprodukte dienen. Sie werden dann als Residualkörperchen bezeichnet, die diagnostisch als Pigment- oder Lipofuchsingranula sichtbar werden. Wenn die Inhaltsstoffe der Lysosomen unkontrolliert ins Zytoplasma gelangen, können durch Autolysevorgänge die gesamte Zelle sowie die Nachbarzellen zerstört werden.

Peroxisomen kommen nicht in allen Zellen vor, andererseits sind manche Zellen wie Leberzellen oder

Tubuluszellen der Niere besonders reich an Peroxisomen. Die wichtigste Funktion dieser Organellen besteht darin, dass sie Wasserstoffperoxid bildende Oxidasen und Katalasen enthalten. Sie spielen eine wesentliche Rolle bei der Glukoneogenese, im Fettstoffwechsel und bei verschiedenen Entjngungsreaktionen.

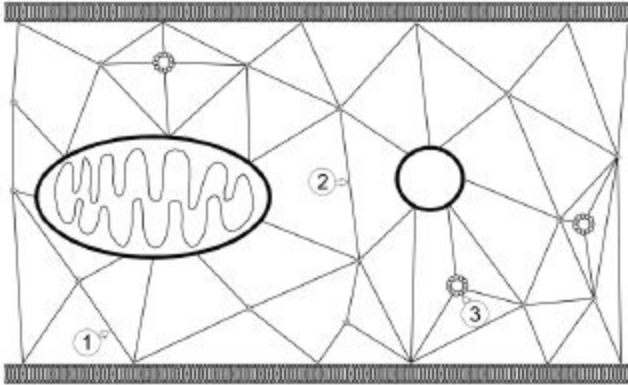
## 2.1.8 Zytoskelett

Weitere sehr wichtige Bestandteile für die Zellen bildet das Zytoskelett ([Abb.2.3](#)). Es besteht aus den Mikrotubuli, den Mikrofilamenten und den Intermediärfilamenten. Sie bilden ein Mikronetz- oder Trabekelwerk und fungieren als Skelett der Zelle.

Wichtige Proteine dieses Netzwerkes sind Tubulin, Aktin, Myosin, die vielen verschiedenen Keratine, die Nexine, Vimentin, Desmin und die Neurofilamente. Mikrotubuli dienen dem gerichteten Transport von Molekülen innerhalb der Zelle. Neurone z.B. können Axone besitzen, die 1m lang sind. Auch die Synapse als das Ende des Neurons muss vom Perikaryon gesteuert werden. Mit dem Mikrotubulussystem wird sicher gestellt, dass bei einer Transportgeschwindigkeit von bis zu 400mm pro Tag auch der entfernteste Punkt der Zelle versorgt wird.

**Abb. 2.3:** Das Zytoskelett einer Zelle besteht aus Mikrofilamenten (1), Intermediärfilamenten (2) und Mikrotubuli (3). Durch die dreidimensionale Verknüpfung dieser Strukturen entsteht ein Trabekelwerk, in welches die einzelnen Zellorganellen wie z.B. Mitochondrien eingebaut sind. Dadurch werden in gleichartigen Gewebezellen die Organellen auch immer in der gleichen Position vorgefunden.





Mikrofilamente wie Aktin und Myosin sind in Zellen in unterschiedlicher Menge zu finden. Zellen, die Ausläufer bilden, ihre Form und Lage verändern, weisen besonders viele Mikrofilamente auf. Intermediäre Filamente wie z.B. die Zytokeratine bilden das Skelettsystem in Epithelzellen aus und verleihen dadurch der Zelle eine spezifische Eigengestalt und Stabilität.

## 2.1.9 Extrazelluläre Matrix

Die meisten Zellen bilden nicht nur ihre eigenen Organellen, sondern auch Proteine der umgebenden extrazellulären Matrix. Dabei handelt es sich um ein interaktives Gerüst, welches einerseits mechanische Stabilität verleiht und andererseits Zellverankerung sowie Zellfunktionen zu steuern vermag. Für den Aufbau einer extrazellulären Matrix synthetisieren die Zellen hauptsächlich hochmolekulare fibrilläre Proteine, die aus der Zelle ausgeschleust und in der nächsten Umgebung zu einem unlöslichen Geflecht zusammengesetzt werden. Bei Epithelzellen oder Muskelzellen ist dies die folienartige Basalmembran, während Bindegewebszellen ein dreidimensionales Netzwerk ausbilden, das als perizelluläre oder extrazelluläre Matrix (ECM) bezeichnet wird. Die Basalmembran und die perizelluläre Matrix bestehen im wesentlichen aus den gleichen Proteinfamilien, jedoch sind die Einzelkomponenten wegen der teilweisen Aminosäuresequenzdifferenzen

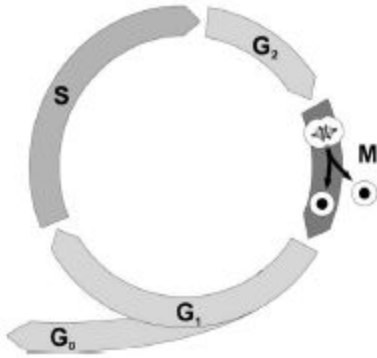
unterschiedlich miteinander verwoben. Bestandteile der extrazellulären Matrix sind die verschiedenen Kollagene, Laminin, Fibronectin und die einzelnen Proteoglykane. Bei vielen Geweben ist die extrazelluläre Matrix weich, druck- und zugelastisch, während sie bei Sehnen, Knorpel und Knochen mechanisch stark belastbare Strukturen ausbildet.

## 2.1.10 Zellzyklus

Zur Entwicklung von Geweben und zum Ersatz von abgestorbenen Zellen bei der Regeneration im erwachsenen Organismus müssen sich die Zellen vermehren. Diese Proliferation vollzieht sich im Rahmen des Teilungszyklus ([Abb.2.4](#)). Zuerst verdoppeln die Zellen ihren Inhalt und replizieren die DNA in der Interphase. Im Anschluss daran teilen sich die Zellen in der Mitose.

Eine Zelle in der Interphase ist anhand des meist deutlich mikroskopisch sichtbaren Nukleolus zu erkennen. Entschliesst sich eine Zelle zur Teilung, so erreicht sie die  $G_1$ -Phase, in der die Neubildung von wichtigen Bestandteilen wie z.B. RNA, Proteinen und Lipiden innerhalb von ca. 24 Stunden erfolgt. Zusätzlich kommt es zur Vergrößerung des Zellvolumens. In der nachfolgenden S-Phase wird die in der Zelle befindliche DNA repliziert. Ist diese wichtige Phase abgeschlossen, so gelangt die Zelle in die  $G_2$ -Phase. Die Replikation der DNA wird abgeschlossen und alles wird für die eigentliche Zweiteilung der Zelle vorbereitet.

**[Abb. 2.4:](#)** Schema zum Zellzyklus, der sich in die  $G_0$ -,  $G_1$ -, S- und  $G_2$ -Phase gliedert. In der M-Phase findet die eigentliche Zweiteilung der Zelle statt.



Die Mitose selbst dauert etwa 4 Stunden. In der beginnenden Prophase werden die DNA/Histonkomplexe kondensiert bis die 46 Chromosomen entstanden sind. An den entstehenden Zentriolen bildet sich die Mitosespindel aus. Die Kernhülle und der Nukleolus werden aufgelöst. Es erfolgt eine Phosphorylierung der Lamine in der Kernmembran, danach bilden sich wieder verwertbare Vesikel. In der Metaphase ordnen sich die Chromosomen dann in der Äquatorialebene, d.h. in der zukünftigen Teilungsebene, an. Jedes Chromosom besteht dabei aus zwei Schwesterchromatiden. Mikroskopisch lassen sich in diesem Stadium deutlich die kurzen und langen Abschnitte der einzelnen Chromosomen erkennen. Im weiteren Verlauf teilen sich die Chromosomen in die Schwesterchromatiden und werden während der Anaphase mithilfe von Motorproteinen entlang von Mikrotubuli zu den beiden Zentriolen transportiert. In der nachfolgenden Telophase werden neue Kernhüllen synthetisiert. Die Zellteilung selbst wird durch die Bildung eines Aktin- und Myosinringes beendet, der die Zelle in der Mitte durchschnürt. In dieser Phase der Zytokinese erhält jede Tochterzelle einen der neu gebildeten Zellkerne, die Hälfte des Zytoplasma und die notwendigen Organellen.

Je nach Gewebeart können sich Zellen relativ häufig binnen Tagen oder erst nach Monaten und Jahren teilen. Außerdem gibt es Zellen, die sich lebenslang nicht mehr

teilen. Solche gerade nicht proliferierenden Zellen befinden sich in der G<sub>0</sub>-Phase.

**[Suchkriterien: Cell cycle mitosis division interphase]**

## 2.2 Gewebearten

Die Entwicklung von Zellverbänden komplexer Organe spiegelt sich in den strukturellen und funktionellen Besonderheiten von Geweben wieder. Gewebe ist nicht nur eine Anhäufung von einzelnen Zellen, sondern besteht aus definierten zellulären und spezifischen extrazellulären Strukturen. Beide Anteile sind funktionell unersetzlich.

Erstaunlicherweise besitzt der Mensch nur vier verschiedene Grundgewebearten. Diese sind das Epithelgewebe, das Bindegewebe, das Muskelgewebe und das Nervengewebe. Daraus resultieren vier ganz verschiedene Funktionen, wie z.B. die Abgrenzung des Organismus gegen andere Kompartimente, Verbund von Strukturen, Bewegung sowie Steuerung.

Kein Organ des Körpers besteht nur aus einem Grundgewebe, fast alle benötigen alle vier Grundgewebe in einer spezifischen Anordnung, damit ihre speziellen Funktionen wirksam werden können. Beispielhaft ist hier das Gefäßsystem zu erwähnen. Es besteht aus Epithelgewebe, welches das Gefäßrohlumen auskleidet, aus glattem Muskelgewebe, um den Durchfluss verändern zu können, aus Nervengewebe, zur Steuerung der Durchflussmenge und aus Bindegewebe, welches die einzelnen Strukturen miteinander verbindet und das Gefäßrohr in die Umgebung einbaut. Gewebe können aus gleichartigen oder auch aus recht unterschiedlichen Zellen bestehen. Besonderes Merkmal ist, dass in den einzelnen Geweben benachbarte Zellen klar definierte, teils sehr enge, teils auch lockere soziale Kontakte zur Aufrechterhaltung spezifischer Funktionen ausbilden.

Typischerweise findet man in den Geweben viele freie Zellen wie Leukozyten, Plasmazellen und Makrophagen, die auf Abbauprodukte der Zellen, Antigene oder bakteriellen Befall reagieren und somit im Dienst der immunologischen Abwehr stehen. Dementsprechend sind in den gesunden Geweben wenige dieser Zellen zu beobachten, während bei Erkrankungen die Zellzahl drastisch zunimmt.

**[Suchkriterien: Tissue muscle epithelium connective neural]**

## 2.2.1 Epithelgewebe

Die Epithelien bestehen aus geometrischen, räumlich besonders eng verbundenen Zellen, die auf einer flächenhaften Basalmembran verankert sind ([Abb.2.5](#)). Zwischen den Epithelzellen wird so gut wie keine Interzellulärsubstanz gefunden.

Epithelgewebe bildet eine Vielzahl biologischer Barrieren. Damit ist die zentrale Funktion des Epithelgewebes im Organismus schon beschrieben. Es bedeckt Oberflächen in Form von dicht nebeneinander liegenden Zellen und bildet dadurch eine Barriere zwischen den luft- oder flüssigkeitsgefüllten Kompartimenten des Körpers. Allein das Epithelgewebe entscheidet deshalb auf zellulärer Ebene, was vom Körper aufgenommen oder abgegeben wird. Es reguliert die Gas- oder Flüssigkeitsaufnahme bzw. die Abgabe über aktive oder passive Transportmechanismen. Der epitheliale Zellverband ist luckenlos und mit Ausnahme der Stria vascularis im Innenohr gefäßlos.

Epithelzellen sitzen mit ihrer basalen Zellseite einer Basalmembran auf. Die Basalmembran ist das strukturelle Element, welches das Epithelgewebe von dem darunter liegenden Bindegewebe trennt. Ist diese Barriere funktionell nicht mehr intakt, so können z.B. Karzinomzellen das epitheliale Kompartiment verlassen und in das darunter liegende Bindegewebe infiltrieren.

An ihrer Oberfläche können die Epithelzellen unterschiedliche Zelldifferenzierungen ausbilden. Einerseits weisen sie eine mehr oder weniger glatte Oberfläche auf, andererseits können sie einen dichten Mikrovillisaum zur Oberflächenvergrößerung oder bewegliche Kinozilien zum Transport tragen. Kennzeichen aller Epithelien ist die Zellpolarisierung. Dies bedeutet, dass jede Zelle eine dem Lumen zugewandte und eine der Basalmembran zugewandte Seite hat, woraus funktionell eine Polarisierung und damit eine Abgabe bzw. eine Aufnahmeseite des Gewebes hervorgeht.

### ***2.2.1.1 Baupläne von Epithelien***

Oberflächen auskleidende Epithelien können einschichtig, mehrreihig oder mehrschichtig sein. Die in den epithelialen Verbänden vorkommenden Zellen können ganz unterschiedliche Formen haben. Sie können flach, platt oder kubisch sowie zylindrisch geformt sein. Einschichtige Epithelien zeichnen sich dadurch aus, dass alle Zellen Kontakt mit der darunter gelegenen Basalmembran haben. Abgeflachte Epithelzellen bilden die typische Zellform von Plattenepithelien, welche in Gefäßen vorkommend als Endothelzellen bezeichnet werden.

Gefäßendothelzellen sind in der Regel permanent dem Blutstrom ausgesetzt und brauchen daher eine besonders feste Verankerung mit der Basalmembran ([Abb.2.6](#)). Auf ihrer Oberfläche besitzen sie Adhäsionsmoleküle für Leukozyten in Form von Selektinen. Diese wiederum können ZuckerMoleküle auf Leukozyten binden und somit das Verlassen dieser Zellen aus der Blutbahn einleiten. Weiterhin besitzen Endothelzellen kontraktile Filamente, womit sie die Breite ihrer Interzellulargaps in gewissem Ausmaß regulieren können. Endothelzellen bilden zudem Stickstoffmonoxid (NO), welches zu einer Tonusverminderung in den glatten Muskelzellen der