

Peter Roman Köck
Dr. med.

Induktion verschiedener 'Immediate Early Gene'-kodierter Proteine im Neokortex der Ratte nach fokaler Ischämie - Eine vergleichende immunzytochemische Untersuchung zur sequentiellen Expression von FOS- und JUN-Proteinen und deren pharmakologischer Beeinflussung durch den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptorantagonisten Dizolzipin

geboren am 28. Januar 1966 in Kirchheim unter Teck
Reifeprüfung am 11.06.1985 in Wendlingen/Neckar
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1987 bis SS 1994
Physikum am 14.09.1989 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Esslingen/Neckar u. Walenstadt/Schweiz
Staatsexamen am 16.05.1994 an der Universität Tübingen

Promotionsfach: Pathologie
Doktormutter: Frau Prof. Dr. Kiessling

Nachdem sich die Grundlagen orientierte Forschung bei zerebralen Durchblutungsstörungen lange Jahre auf biochemische Veränderungen im Energiestoffwechsel, Perfusion und andere elektrophysiologische Prozesse konzentriert hatte, wurde mit der Untersuchung neuronaler genetischer Programme als möglicher Ursache von Nervenzelldegeneration und neuronalem Zelltod ein völlig neuer Weg eingeschlagen. Dies war 1983 durch die Entdeckung einer neuen Klasse von Genen, den sogenannten 'immediate early'- oder 'early response'-Genen (IEGs) möglich geworden. Diese Genklasse reagiert unmittelbar auf eine Aktivierung exzitotoxischer Glutamat-Rezeptoren im ZNS durch zerebrale Krampfanfälle oder Ischämie mit einer raschen Induktion. Ihre Proteinprodukte sollen dabei als Transkriptionsfaktoren eine Veränderung der Expression wichtiger Zielgene verursachen und damit eine langfristige Änderung in Struktur und Funktion der Nervenzellen als neuronale Antwort auf extrazelluläre Noxen einleiten.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression fünf verschiedener IEG-kodierter Proteine der fos- und jun-Genfamilie im Gehirn männlicher Wistar-Ratten unter physiologischen Kontrollbedingungen, nach Auslösung einer fokalen Ischämie, und nach Einsatz eines neuroprotektiv wirksamen N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptorantagonisten (MK-801, Dizolzipin) untersucht. Um reproduzierbare Kortexinfarkte zu erzielen, wurde ein fast atraumatisches photochemisches tierexperimentelles Modell mit intravenöser Verabreichung des lichtempfindlichen Farbstoffs 'Bengal Rose' und nachfolgender transkranieller Bestrahlung mit punktförmiger Kaltlichtquelle eingesetzt. Die Expression der IEG-kodierten Proteine wurde bei Kontrolltieren und nach unterschiedlichen postischämischen Zeitintervallen (zwischen 1 Stunde und 24 Stunden) mit spezifischen Antisera gegen c-FOS, FOS B, c-JUN, JUN B und JUN D immunzytochemisch dargestellt. Einer weiteren Tierversuchsgruppe wurde vor Induktion der fokalen Ischämie der neuroprotektiv wirksame NMDA-Rezeptorantagonist Dizolzipin intraperitoneal appliziert.

Für jeden der untersuchten IEG-kodierten Transkriptionsfaktoren konnte dabei ein spezifisches zeitlich und topographisches Induktionsprofil im gesamten ipsilateralen Kortex nachgewiesen werden. Generell ausgespart von der postischämischen IEG-Expression blieben neben dem Infarktkernbereich auch die ipsilateralen subkortikalen Gehirnabschnitte, sowie die gesamte kontralaterale Hemisphäre. Die Ausdehnung der postischämischen IEG-Induktion auf den gesamten Kortex der betroffenen Hemisphäre folgt dem Muster der CSD ('cortical spreading depression'), die klassischerweise durch topische Verabreichung von KCl auf die Kortexoberfläche erzielt wird und legt nahe, daß eine Ischämie-assoziierte CSD Ursache der Expression aller fünf untersuchten IEG-kodierten Proteine in nicht-ischämischen Arealen der ipsilateralen Großhirnhemisphäre ist. Da sowohl CSD und IEG-Induktion über NMDA-Rezeptoren vermittelt werden, sollten beide durch die Applikation eines NMDA-Rezeptor-antagonisten inhibiert werden können. Während die FOS-Expression nahezu vollständig unterdrückt wurde, konnte mit MK-801 nur eine Reduktion der JUN-Expression erreicht werden. Somit muß davon ausgegangen werden, daß die Transkriptionsfaktoren der jun-Familie auch über andere, nicht NMDA-Rezeptor-abhängige Mechanismen induziert werden. Dies gilt interessanterweise auch für die JUN- und FOS-Expression im Bereich der ischämischen Penumbra. Eine IEG-Induktion konnte somit nur in vitalen, ischämisch geschädigten, aber überlebenden Nervenzellen nachgewiesen werden. Die als 'metabolic mapping' bezeichnete Untersuchung des ¹⁴C-Deoxyglukose-Metabolismus zum Nachweis eines veränderten neuronalen Energiestoffwechsels wird bei nachgewiesenen Diskrepanzen zum immunzytochemischen Nachweis der c-FOS-Induktion auch weiterhin ihre Bedeutung als wichtige Untersuchungstechnik beibehalten.