

Heinrich Bürgers
Dr. sc. hum

Einfluss von Anoxie und Erythropoietin auf neuronale Stammzellen aus *Rattus norvegicus*

Geboren am 9.7.1971 in München

Diplom am 10.8.2000 an der Ludwig Maximilians Universität München

Promotionsfach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. W. Kuschinsky

Diese Arbeit befasst sich mit der Frage, wie Anoxie, Glukosedepriuation und deren Kombination das Überleben, die Teilungsaktivität und die Apoptoserate von neuronalen Stammzellen beeinflussen. Es wurden neuronale Stammzellen aus der subventrikulären Zone, aber auch aus dem Bulbus olfaktorius und aus dem Hippocampus von jungen adulten Ratten *in vitro* analysiert. Außerdem wurde die Wirkung von Erythropoietin untersucht. Auf eine 24-stündige akute Anoxie ($pO_2 \leq 0,0$ mm Hg) reagierten neuronale Stammzellen mit gesteigerter Vitalität (Bulbus-Zellen um $136 \% \pm 116\%$, hippocampale Zellen um $155 \% \pm 177\%$, SVZ um $60\% \pm 50 \%$) An SVZ-Zellen wurde eine reduzierte Gesamtcaspaseaktivität (-30%) und eine Erhöhung der Teilungsaktivität (von 2% auf 16%) gezeigt. Die Nekroserate war hierbei von 7 auf 14% verdoppelt. 15% der Zellen teilten sich nicht unter Anoxie im Vergleich zu 1% unter Normoxie. Diese Zellen exprimierten auch den Stammzellmarker Nestin nicht mehr. Es wird daher geschlossen, dass akute Anoxie Zellteilung und Differenzierung stimuliert. Wenn neuronale Stammzellen bis zu 7 Tagen anoxisch kultiviert wurden zeigten sie Wachstumsmuster vergleichbar dem von normoxisch kultivierten neuronalen Stammzellen. Daraus wird geschlossen, dass die proliferativen und differenzierenden Wirkungen der Anoxie akuter Natur (24 Stunden) sind. Glukosedepriuation und Sauerstoff-Glukosedepriuation zeigten im Vergleich zu normoxischen Kontrollen binnen 24 Stunden annähernd identische Schädigungsmuster an neuronalen Stammzellen. Die Zellvitalität war in beiden Gruppen auf 30% reduziert, die Gesamtcaspaseaktivität nahm um 120% und die Caspase-3/7-Aktivität um 40% zu; die Zellteilungsrate sank auf 40% . Es wird daher geschlossen, dass in dem gängigen Modell der Zellschädigung, der Sauerstoff-Glukose-Deprivation, die Glukosedepriuation, und nicht die Sauerstoffdeprivation für eine Schädigung der neuronalen Stammzellen verantwortlich ist. Die Gabe des Zytokins Erythropoietin in Dosen von $0,1$; $0,5$; 1 ; 10 und 100 u/ml führte zu einer signifikanten Abnahme der teilungsaktiven Zellen um ca. 10% in allen vier Gruppen. Erythropoietin reduzierte auch die Gesamtcaspaseaktivität in allen vier Gruppen dosisabhängig um bis zu 6% . Nur bei Sauerstoff-Glukosedepriuation führte Erythropoietin zu einer schwachen, aber signifikanten Erhöhung der Zellvitalität. Erythropoietin hatte keinen Einfluss auf die Aktivität der Caspasen $3/7$. Es wird daher geschlossen, dass Erythropoietin auf neuronale Stammzellen eine geringe, die Differenzierung stimulierende, und eine antiapoptotische Wirkung hat, die allerdings nicht über Caspase- $3/7$ vermittelt wird. Es wird gefolgert, dass eine kurz dauernde Anoxie stimulierend auf neuronale Stammzellen wirkt und dass die Verfügbarkeit von Glukose und nicht die Verfügbarkeit von Sauerstoff essentiell ist.