

Sascha Wohnsland
Dr. med.

Einfluss von Sauerstoff, Glukose und Laktat auf das Überleben neuronaler Zellkulturen aus der Ratte

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med Martin H. Maurer

Glukose gilt als zentraler Metabolit für Neuronen. In den letzten Jahren ergaben sich zunehmend Hinweise, dass auch Laktat von Neuronen verstoffwechselt werden kann. In dieser Arbeit untersuchte ich, wie unterschiedliche Glukose- und Laktatkonzentrationen bei Normoxie und Anoxie das Überleben von differenzierten Neuronen und neuronalen Stammzellen *in vitro* beeinflussen.

Wir haben hierfür differenzierte Cortexneurone aus embryonalen Rattenhirnen und neuronale Stammzellen aus der Subventrikularzone aus adulten Rattenhirnen in Zellkulturplatten kultiviert. Wir inkubierten die Zellen mit unterschiedlichen Glukose- und Laktatkonzentrationen in Normoxie und Anoxie, um nach 24 Stunden die Vitalitäten und Caspaseaktivitäten zu messen und fluoreszenzmikroskopische Zellzählungen von lebenden und toten Zellen durchzuführen. Die Vitalität ist hierbei ein biochemisches Maß für die Anzahl an lebenden Zellen.

Im ersten Teil der Arbeit konzentrierten wir uns auf den Einfluss von Sauerstoff und Glukose und haben die Resultate mit denen aus Vorarbeiten von neuronalen Stammzellen verglichen. Das Fehlen von Sauerstoff und Glukose (OGD = Oxygen Glucose Deprivation) führte zu einem deutlichen Vitalitätsrückgang und somit zu einem verminderten Zellüberleben. Eine isolierte Anoxie hat hingegen bei ausreichendem Glukoseangebot keinen schädigenden Effekt auf differenzierte Neurone in einem Zeitraum von bis zu 24 Stunden. Die Vitalität von differenzierten Neuronen ab 12,5 mmol/l Glukose war bei Anoxie genauso hoch wie bei Normoxie. Bei neuronalen Stammzellen hingegen ist die Vitalität nach 24 Stunden Anoxie bei 20 mmol/l Glukose um 60 % höher als bei Normoxie.

Im zweiten Teil der Arbeit ersetzten wir bei differenzierten Kortexneuronen und neuronalen Stammzellen den Metaboliten Glukose durch Laktat. Wir fanden, dass nach 24 Stunden die Vitalität bei 20 mmol/l Laktat höher war als mit 10 mmol/l Glukose (Diese Glukose-Konzentration ist äquiengetisch zu 20 mmol/l Laktat). Dieser Effekt war bei Stammzellen noch deutlich ausgeprägter als bei den differenzierten Kortexneuronen. Wir konnten nachweisen, dass Laktat *in vitro* ein spezifisches Substrat des aeroben Stoffwechsels ist.

Zudem weisen neuronale Stammzellen und differenzierte Neurone mit Laktat sogar ein besseres Überleben auf als mit Glukose.

Als Folgerungen aus dieser Arbeit ergeben sich: Neuronen können in Kultur sowohl Glukose als auch Laktat verstoffwechseln. Bei ausreichender Menge an Glukose sind Neurone für einen Zeitraum bis zu 24 Stunden nicht auf Sauerstoff angewiesen. Offen bleibt die Frage, in welchem Verhältnis Neurone Glukose bzw. Laktat *in vivo* metabolisieren.