

Dorothee Kalka

Dr. sc. hum.

Etablierung eines Zellkulturmodells zur neuronalen Alterung

Geboren am 08.03.1968 in Karlsruhe

Reifeprüfung am 04.06.1987 in Herten/Westfalen

Studiengang der Fachrichtung Lebensmittelchemie vom WS 1987 bis SS 1992

Vorprüfung der Staatsprüfung am 16.11.1989 an der Universität Karlsruhe

1. Staatsexamen am 07.08.1992 an der Universität Karlsruhe

Praktisches Jahr an der Chemischen Landesuntersuchungsanstalt Freiburg

2. Staatsexamen am 18.07.1994 an der Chemischen Landesuntersuchungsanstalt Freiburg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Hoyer

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit der humanen Neuroblastomzelllinie SK-N-MC ein Zellkulturmodell für die neuronale Alterung zu entwickeln, mit dem Tierversuche in Teilbereichen der Grundlagenforschung ersetzt werden könnten.

Zu den für das alternde Gehirn wesentlichen biochemischen Merkmalen gehören eine Beeinträchtigung des Energiemetabolismus sowie eine erhöhte Vulnerabilität. Unter anderem werden freie Radikale als wichtiger Faktor beim Prozeß des Alterns und bei der Entstehung neurodegenerativer Krankheiten wie der DAT genannt. Auch könnte das Zusammenwirken mehrerer geringer metabolischer Schädigungen über einen längeren Zeitraum zur vermehrten Neurodegeneration führen.

Durch Veränderung der Kultivierungsbedingungen sollten entsprechende degenerative Prozesse in der SK-N-MC Zelllinie induziert werden. Das im Medium enthaltene und für die Zellproliferation notwendige Serum schützt wegen seiner hohen Konzentrationen an Wachstumsfaktoren, Hormonen und Antioxidantien die Zellen effektiv vor toxischen Einflüssen, was für Langzeitstudien nachteilig ist. Durch chronische Serumreduktion im Medium konnte eine Erhöhung der Vulnerabilität und eine Herabsetzung des Energiestatus erreicht werden. Die Induktion freier Radikale durch Inkubation der Zellen mit FeSO_4 (Fe) führte zu einer weiteren Verstärkung dieser Effekte. Anders als in Akutversuchen, in denen nur mit hohen

Dosen Schädigungen der Zellen bewirkt werden konnten, resultierte die chronische Behandlung der Zellen mit wesentlich niedrigeren Fe-Konzentrationen in einer signifikanten Beeinträchtigung des Energiemetabolismus. Chronisch war die Schädigung der Zellen zwar weniger drastisch, jedoch entsprach sie eher den für das alternde Hirn typischen Veränderungen.

Auch mit dem synthetischen Glukokortikoid Dexamethason (Dex) konnte eine zusätzliche Beeinträchtigung des Energiestoffwechsels herbeigeführt werden. Die dazu erforderlichen Konzentrationen waren jedoch sehr hoch, auch bei chronischer Behandlung. Die in vielen neuronalen Zelltypen nachgewiesenen metabolischen Schädigungen durch Glukokortikoide, die wohl auf ihrer Eigenschaft beruhen, die Glukoseaufnahme in die Zellen zu inhibieren, konnten daher nur bedingt nachvollzogen werden. Dies kann damit erklärt werden, daß die SK-N-MC Zellen keine Glukokortikoidrezeptoren besitzen und ihre indirekte Wirkung über Insulinrezeptoren offensichtlich nur schwach ist. Die SK-N-MC Zellen erscheinen daher für Untersuchungen der Wirkmechanismen von Glukokortikoiden wenig geeignet.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Langzeitkultivierung der SK-N-MC Zellen in Medium mit reduziertem Serumgehalt als *in vitro* Modell geeignet ist, um chronische Effekte von Faktoren, die einen Alterungsprozeß und eine Neurodegeneration induzieren können, auf zellulärer und molekularer Ebene zu untersuchen.