

Mariam Sahabi

Dr. med.

Wirkung der räumlichen Anordnung des Zelladhäsionsmoleküls ALCAM auf Zelladhäsion und regeneratives Axonwachstum von adulten Spinalganglienneuronen

Fach/Einrichtung: Anatomie und Zellbiologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Jochen Kuhse

Regenerative Ansätze nach einer traumatischen Nervenschädigung sind aus medizinischer Sicht von großem Interesse. Während der Entwicklung des Nervensystems nehmen bei der axonalen Weg- und Zielfindung Zelladhäsionsmoleküle wie das axonspezifische ALCAM eine wichtige Rolle ein. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es herauszufinden, inwieweit ALCAM im adulten Organismus als regenerative Wachstumsstruktur dienen kann, im Hinblick auf die klinische Anwendung als eine mögliche Beschichtung von Nervenüberbrückungsimplantaten. Als Modellorganismen wurden Spinalganglienzellen der adulten Maus verwendet und auf verschiedenen Substraten kultiviert.

Immunfluoreszenzmessungen weisen ein Beginn der Expression von ALCAM auf den Somata und Protrusionen von adulten regenerierenden Neuronen bereits nach drei Stunden in Kultur nach. Um den Einfluss ALCAMs, seiner Dichte und Verteilung, auf die Zelladhäsion, sowie die Ausbildung und Differenzierung von regenerierenden Axonen zu ermitteln, wurden punktuell beschichtete Nanostrukturen verwendet. Diese Nanostrukturen bieten die Möglichkeit die Zell-Liganden-Interaktion spezifisch zu untersuchen, indem ALCAM in genau festlegbarer räumlicher Verteilung in physiologischer Orientierung und inmitten einer proteinabstoßenden Umgebung dargeboten wird. Es wurden Oberflächen in den Abständen 27, 58, 70 und 86 nm eingesetzt. Die Ergebnisse zeigen, dass Neurone und nicht-neuronale Zellen auf ALCAM-Oberflächen adhäreren und dass diese Adhäsion abhängig von der Dichte und der Art der Rezeptor-Liganden-Interaktion ist. Das Substrat weist weiterhin im Prozess der Regeneration die Spezifität als neuronales Zelladhäsionsmolekül auf. Zudem bestätigt sich für adulte Neurone die instruktive und modulierende Wirkung ALCAMs auf die axonale Differenzierung. Axonale Eigenschaften wie Bildung und Elongation korrelieren

mit der ALCAM-Ligandendichte, während andere, wie die Anzahl aussprossender Axone, axonale Faszikulation und Geradheit sowie die Adhäsion axonausbildender Neuronenpopulationen eine alles-oder-nichts-Reaktion zu sein scheint. Dies lässt vermuten, dass unterschiedliche Mechanismen in der Vermittlung der Zelladhäsion und Axonelongation auf der einen Seite, sowie in der axonalen Differenzierung auf der anderen Seite, involviert sind. Für die Prozesse der Zelladhäsion, Bildung von Axonen, deren Erhalt, Bündelung und Geradheit nehmen die 70 nm Nanosubstrate eine Sonderstellung ein. Hier reagieren die Neurone stärker als man es durch eine Änderung der Dichte bzw. des Abstandes im Vergleich zu anderen Ligandendichten erwarten würde. Eine Modellierung der Interaktion ALCAMs mit Spektrin, einem der Hauptkomponenten des kortikalen Zytoskeletts, in embryonalen Neuronen von Jährling et al. 2009 wurde weiter vertieft. Es wird weiterhin postuliert, dass speziell bei dieser Dichte Instabilitäten des Spektrinnetzwerks vorliegen, die zu reduzierter Zelladhäsion und abweichenden Morphologien der auswachsenden Axone führen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kristallisieren keine spezielle ALCAM-Dichte für ein optimales Verhältnis zwischen Förderung der neuronalen Differenzierung versus Hemmung nicht-neuronaler Zellen heraus. Aufgrund der mangelhaften Proliferationsraten der nicht-neuronalen Zellen auf den verschiedenen ALCAM-Nanosubstraten wäre dennoch die Generierung eines ALCAM-beschichteten Nervenüberbrückungsimplantats vorstellbar.