

Thomas Eric Jüttler
Dr. med.

Die Bedeutung der endogenen Zytokinexpression für die Regulation der induzierbaren Stickstoffmonoxidsynthase (iNOS) in Zellen der Blut-Hirn-Schranke

Geboren am 12.04.1972 in Heidenheim an der Brenz
Reifeprüfung am 14.06.1991 in Heidenheim an der Brenz
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 93/94 bis SS 2000
Physikum am 05.09.1995 an der Universität Freiburg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg; Houston, Texas, USA; Birmingham, GB
Staatsexamen am 07.06.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Neurologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Spranger

Die Blut-Hirn-Schranke stellt eine wichtige Barriere zwischen dem zentralen Nervensystem und dem Blutkreislauf dar. Gebildet wird sie von mikrovaskulären Hirnendothelzellen, benachbarten Astrozyten, perivaskulären Mikroglia, Perizyten und Neuronenfortsätzen, die in einem sehr engen räumlichen und funktionellen Kontakt stehen.

Die Blut-Hirn-Schranke ist an die Pathogenese zahlreicher zentralnervöser und systemischer Krankheiten wie Infektionen, Traumata, ischämischen, autoimmunologischen und neurodegenerativen Erkrankungen beteiligt. Ihre frühe Aktivierung ist ein wichtiger initialer Schritt, der die nachfolgenden Reaktionen des Gehirnparenchyms, dessen Funktionsstörungen und den Untergang neuralen Gewebes mitbestimmt. Entzündliche Prozesse sind hierbei primär involviert. Zytokine nehmen eine Schlüsselstellung als wichtige Modulatoren inflammatorischer Reaktionen ein. Einer der herausragenden Effekte der Zytokine ist die Induktion der induzierbaren Stickstoffmonoxidsynthase (iNOS), die durch die Freisetzung grosser Mengen des Stickstoffmonoxidradikals (NO) entscheidend am Entzündungsgeschehen beteiligt ist. Im Übermass gebildet besitzt NO durch Störung der mitochondrialen Atmungskette, der Proteinbiosynthese, durch Enzymwechselwirkungen und direkte und indirekte Schädigung der DNA zytotoxische Effekte und trägt dadurch zum nekrotischen und apoptotischen Zelluntergang bei. Die Regulation der Zytokinexpression und der Aktivität der iNOS ist einem komplexen, sowohl autokrine als auch parakrine, inter- und intrazelluläre Mechanismen beinhaltenden, Netzwerk unterworfen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Regulation der Expression der iNOS durch proinflammatorische Zytokine in Zellen der Blut-Hirn-Schranke zu untersuchen, mit der gleichzeitig induzierten endogenen Zytokinexpression der Zellen zu korrelieren und dadurch die Bedeutung einzelner Zytokine für die iNOS-Aktivität in den verschiedenen Zelltypen zu klären.

Hierfür wurden Primärkulturen von Astrozyten, mikrovaskulären Hirnendothelzellen und Mikroglia der Ratte mit Kombinationen der drei wichtigen proinflammatorischen Zytokine Tumor Nekrose Faktor-alpha (TNF- α), Interleukin-1 beta (IL-1 β) und Interferon-gamma (IFN- γ) stimuliert, die iNOS-mRNA-Expression und iNOS-Enzymaktivität bestimmt und mit der endogenen Expression von IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-10 (IL-10), Interleukin-2 (IL-2) sowie des IL-1 β -Konversionsenzym (ICE) korreliert. Dieselben Untersuchungen wurden an einer Co-Kultur aus Astrozyten und mikrovaskulären Hirnendothelzellen durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl bei mikrovaskulären Hirnendothelzellen als auch bei Astrozyten IL-1 β eine entscheidende Rolle bei der Regulation der Expression und Aktivität der iNOS zukommt. In Hirnendothelzellen und Astrozyten hängt die Induktion der iNOS vom Vorhandensein von exogenem oder endogen gebildetem IL-1 β ab. Im Gegensatz zu den Hirnendothelzellen bilden Astrozyten iNOS in hohem Masse jedoch erst nach zusätzlicher Stimulation durch IFN- γ . Über diese reinen Korrelationen hinaus konnte ein für die iNOS-Induktion relevanter endogener auto- oder parakriner IL-1 β -Weg aufgezeigt werden, der vor allem für die iNOS-Induktion in Astrozyten relevant ist: Für die Bildung des endogenen IL-1 β ist die Bildung von ICE essentiell. ICE wird in Astrozyten und in Hirnendothelzellen alleine durch IFN- γ gebildet. Durch Inhibition von ICE und die dadurch konzentrationsabhängige Verminderung der iNOS-Aktivität konnte dieser Zusammenhang zwischen endogener IL-1 β -Bildung und iNOS-Expression in beiden Zelltypen bestätigt werden. TNF- α bewirkt sowohl bei mikrovaskulären Hirnendothelzellen als auch bei Astrozyten lediglich in Kombination mit anderen Zytokinen eine Steigerung der iNOS-Expression und -Aktivität, die sich über endogen gebildetes IL-1 β erklären lässt. Die anderen untersuchten Zytokine zeigen keinen nachweisbaren entscheidenden Einfluss auf die iNOS-Aktivität. Diese Zusammenhänge finden sich auch in der Co-Kultur der beiden Zelltypen. Die ebenfalls untersuchten Mikroglia zeigen keine eindeutige Abhängigkeit von einem bestimmten Zytokin, vielmehr sind alle drei untersuchten Zytokine in der Lage, die iNOS-Expression zu induzieren und sich dabei wechselseitig in ihrer Wirkung zu verstärken.

Die vorliegende Arbeit stellt einen weiteren Mosaikstein in der Aufklärung der Bedeutung bestimmter proinflammatorischer Zytokine und der Induktion der iNOS dar und unterstreicht die Wirksamkeit von Caspaseinhibitoren als therapeutische Interventionsmöglichkeit in der Pathophysiologie zerebraler Entzündungsprozesse.