

Christine Brabeck

Dr. med.

Auswirkung von L-Selegilin auf die zelluläre Poly(ADP-Ribosyl)ierungskapazität in Hamsterzellen

Geboren am 06.12.1972 in Groß-Gerau

Reifeprüfung am 01.06.1992 in Seeheim-Jugenheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis WS 2000/2001

Physikum am 21.03.1996 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Bruchsal (Lehrkrankenhaus der Universität Heidelberg)

Staatsexamen am 10.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum

Doktorvater: Herr Priv.-Doz. Dr. med. A. Bürkle

Die Aktivierbarkeit des DNA-Strangbruch-abhängigen Enzyms Poly(ADP-Ribose)-Polymerase-1 (PARP-1) korreliert positiv mit der Lebenserwartung verschiedener Säugetierspezies und ist erhöht bei menschlichen Individuen mit nachweislich überdurchschnittlicher Lebensspanne (Hundertjährige). Andererseits verlängert der MAO-B Inhibitor Selegilin, der als Medikament zur Behandlung des M. Parkinson zugelassen ist und in experimentellen Studien neuroprotektive Effekte zeigt, die Lebensspanne in mehreren untersuchten Säugetierspezies, wobei der Wirkmechanismus nicht abschließend geklärt ist.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen diesen zwei Beobachtungen zu untersuchen, wurden embryonale Hamsterzellen über einen Zeitraum von 2 Stunden bis 7 Tagen mit Selegilin in einer geringen Konzentration (50nM) inkubiert, bei der es noch nicht zu einer MAO-B-Hemmung ($> 1\mu\text{M}$) kommt. Die Zellen wurden mit einer Dosis von 45 Gy bei Raumtemperatur bestrahlt und anschließend die zellulären Poly(ADP-Ribose)-Spiegel mittels HPLC-Analyse von spezifischen Degradationsprodukte quantifiziert. Dabei konnten in den mit Selegilin vorinkubierten Zellen signifikant höhere Poly(ADP-Ribose)-Spiegel gemessen werden als in den unbehandelten

Kontrollzellen. Dieser Effekt ließ sich bei mindestens 8-stündiger Vorinkubation mit 50nM Selegilin nachweisen. Ein Maximum wurde nach ein bis drei Tagen erreicht, danach kam es zu einem Rückgang des Mehranstiegs der strahlungsinduzierten Poly(ADP-Ribose)-Spiegel in den Selegilin-behandelten Zellen. Die basalen Poly(ADP-Ribose)-Spiegel in unbestrahlten Zellen wurden durch eine Inkubation mit Selegilin nicht beeinflusst, d.h. die Anwesenheit von Selegilin führte *per se* in lebenden Zellen nicht zur gesteigerten Synthese von Poly(ADP-Ribose).

Um den Mechanismus näher zu untersuchen, welcher der beobachteten Steigerung der zellulären Poly(ADP-Ribosyl)ierungskapazität in Selegilin-behandelten Zellen zugrundeliegt, wurde zunächst das Expressionsmuster von PARP-1 in diesen Zellen mittels Western-Blot Analyse überprüft. Dabei zeigte sich überraschenderweise eine Reduktion der PARP-1-Expression um etwa ein Drittel gegenüber Kontrollzellen. Damit scheidet eine Steigerung der Menge an zellulärem PARP-1-Protein als Ursache für die gesteigerten zellulären Poly(ADP-Ribose)-Spiegel nach Bestrahlung aus. Vielmehr muß das Aktivitätsniveau des einzelnen PARP-Proteins durch die Inkubation mit Selegilin gesteigert werden.

Bei Inkubation gereinigter rekombinant-exprimierter humaner PARP-1 mit Selegilin konnte kein Einfluß der Substanz auf die PARP-1-Aktivität *in vitro* nachgewiesen werden, so daß eine direkte Interaktion von Selegilin mit dem PARP-1-Molekül als Ursache für die gesteigerte Poly(ADP-Ribosyl)ierungskapazität in Selegilin-behandelten Zellen als sehr unwahrscheinlich angesehen werden muß.

Zusammenfassend konnte in vorliegender Arbeit erstmals der steigernde Einfluß einer Inkubation von Hamsterzellen mit 50nM Selegilin auf die Poly(ADP-Ribosyl)ierungskapazität dieser Zellen nach Bestrahlung mit 45 Gy mit hoher statistischer Signifikanz nachgewiesen werden konnte. Die Frage nach dem zugrundeliegenden Mechanismus konnte jedoch letztlich nicht beantwortet werden, obwohl gewisse „Kandidaten“-Mechanismen ausgeschlossen bzw. unwahrscheinlich gemacht werden konnten. Gemäß den in vorliegender Arbeit dargestellten Ergebnissen ist anzunehmen, daß die Auswirkung von Selegilin auf die Aktivität von PARP-1 nicht auf direktem Wege zustande kommt, sondern andere Faktoren involviert sind, die es noch aufzudecken gilt.