

Jens Friedrich Jordan  
Dr. med.

## **Bone Morphogenetic Proteins: Neurotrophe Wirkungen auf dopaminerge Neurone des Mesencephalons unter Berücksichtigung astroglärer Reaktionen.**

Geboren am 9. Juni 1972 in Mainz  
Reifeprüfung am 18. Juni 1991 in Bruchsal  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1992/93 bis WS 1998/99  
Physikum am 30. August 1994 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg, London, Montreal  
Staatsexamen am 3. Mai 1999 in Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie  
Doktorvater: Professor Dr. med. K. Unsicker

Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) sind Mitglieder der TGF- $\beta$  Superfamilie. Forschungsergebnisse der letzten Jahre weisen darauf hin, dass mehrere Mitglieder der BMP - Familie im embryonalen sowie im adultem zentralen Nervensystem exprimiert werden.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass BMP2 und BMP6 mRNAs während der Entwicklung im embryonalen Mittelhirnboden der Ratte nachzuweisen sind; BMP6 Immunreaktivität ko-lokalisiert mit Radialgliazellen in unmittelbarer Nachbarschaft zu den dopaminergen Neuronen der ventralen Marginalzone des embryonalen Mittelhirns.

Es wurden die neurotrophen Effekte der BMPs 2, 4, 6, 7, 9, 11 und 12 auf das in vitro Überleben mesencephaler dopaminerger Neurone, deren Spezifität mittels Transmitter - Aufnahme und ein eventuelles neuroprotektives Potential am MPP<sup>+</sup> - Modell untersucht.

Dazu wurden Kulturen des Mittelhirnbodens der Ratte des Embryonaltags E14 unter Serum - freien Bedingungen verwendet. Bei einer Konzentration von 10 ng/ml zeigten die meisten BMPs nach acht Tagen in Kultur signifikante neurotrophe Aktivität, welche nach immunocytochemischer Prozessierung mittels eines Antikörpers gegen Tyrosin - Hydroxylase quantifiziert wurde. Dabei förderten die BMPs 2, 4 und 7 das Überleben der Neurone bis zum 1.5 - fachen, die BMPs 6 und 12 bis zum 1.8 - fachen des Kontrollwertes. Die BMPs 9 und 11 zeigten nur marginale neurotrophe Aktivität. BMP6 und BMP12 zeigten somit vergleichbare biologische Aktivität zu FGF-2 oder GDNF.

Die Dosis - Wirkungsbeziehung zeigte eine EC<sub>50</sub> der BMPs 2, 6 und 12 von 2 ng/ml.

Die neurotrophen Effekte der BMPs 2, 4, 6, 7 und 12 waren begleitet von zellulärer DNA - Synthese und der Ausreifung astroglärer Zellen, sichtbar gemacht mittels Einbau von 5-Bromodesoxyuridin (BrdU) in sich replizierende DNA bzw. GFAP - Immunzytochemie. BMP9 zeigte interessanterweise zwar nur marginale neurotrophe Aktivität, in den Kulturen waren jedoch sowohl DNA - Synthese als auch Astrozytenausreifung nachzuweisen.

Das Unterdrücken jeglicher Proliferation sowie der Ausbildung GFAP - positiver Zellen durch 5-Fluorodesoxyuridin (FDUR) bzw.  $\alpha$ -Aminoadipinsäure (AA) verhinderte die biologische Aktivität der BMPs.

Dies zeigt, dass die BMPs das Überleben der dopaminergen Neurone indirekt durch Proliferation und anschließende Ausreifung GFAP - positiver Zellen sowie wahrscheinlich

durch die konsekutive Produktion und Freisetzung noch unbekannter neurotropher Faktoren in den ausgereiften Astrozyten fördern. Sie unterscheiden sich damit im Wirkungsmechanismus von anderen Mitgliedern der TGF- $\beta$  Superfamilie, darunter die TGF- $\beta$ s 1-3, ActivinA oder GDNF.

BMP6 und BMP7 erhöhten zudem spezifisch die Transmitter - Aufnahme Tritium - markierten Dopamins, ohne eine Wirkung auf die GABA- oder Serotonin - Aufnahme zu zeigen. Dies unterstreicht die Spezifität des beobachteten neurotrophen Potentials der BMPs.

Ein neuroprotektives Potential der BMPs 2 und 6 im MPP<sup>+</sup> - Modell konnte nicht gezeigt werden.

Somit sind die BMPs mit auf die Liste der Faktoren aus der TGF- $\beta$  Superfamilie mit neurotropher Qualität für mesencephale dopaminerge Neurone zu setzen. Sie entfalten ihre Aktivität jedoch indirekt, durch die Ausreifung astroglärer Zellen, und zeigen somit ein Wirkmuster neurotropher Faktoren ausserhalb der TGF- $\beta$  Superfamilie.

Ob ein klinisch - therapeutisches Potential dieser BMPs in Hinblick auf die Therapie neurodegenerativer Erkrankungen wie z.B. des Morbus Parkinson, eventuell in Kombination mit anderen neurotrophen Faktoren vorhanden ist, wird im Rahmen weiterer Experimente und mittels eines in vivo Modells gezeigt werden müssen.