

Verena Katharina Beer

Dr. med.

Charakterisierung der NSEnm-I κ B α – Mauslinie und das Verhalten von NF- κ B im LPS-Modell der Sepsis

Geboren am 01.05.1977 in Zwiesel

Reifeprüfung am 25.06.1996 in Hockenheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1997 bis WS 2003/04

Physikum am 24.03.1999 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 21.11.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Neurologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. M. Schwaninger

NF- κ B ist ein Transkriptionsfaktor, der in der Pathophysiologie neurologischer Krankheiten eine zentrale Rolle spielt. Hierbei sind vor allem globale oder fokale zerebrale Ischämie, Epilepsien, M. Alzheimer und Sepsis zu nennen. NF- κ B steuert unter anderem die Transkription von Genen für Tumornekrosefaktor (TNF)- α , Interleukin-(IL)-1 β , IL-6, Zyklooxygenase-(COX)-2 und für Adhäsionsmoleküle der Blutgefäße. Stimuliert wird die Aktivierung von NF- κ B durch Glutamat (Guerrini,1995), durch Wachstumsfaktoren, wie dem Nerve growth factor (NGF), TNF α , IL1, Lipopolysaccharide (LPS), oxidativen Streß, erhöhtes intrazelluläres Kalzium, UV-Strahlung sowie virale Partikel. Um die Funktionen von NF- κ B im Gehirn genauer untersuchen zu können, generierten wir eine transgene Mauslinie, bei der spezifisch die Aktivierung von NF- κ B in Neuronen gehemmt wird: die NSEnmI κ B α - Maus.

Der Transkriptionsfaktor NF- κ B findet sich im Gehirn in Neuronen und Gliazellen. In deren Zytosol liegt er als Komplex vor, bestehend aus drei Untereinheiten. Durch die Dissoziation der inhibitorisch wirkenden Untereinheit I- κ B α aus dem Komplex beginnt die Aktivierung von NF- κ B. Die Aktivierung von NF- κ B ist in der transgenen NSEnmI κ B α – Mauslinie durch

ein verändertes I- κ B α blockiert. Durch die Verwendung des Promotors des neuronenspezifischen Enolase-Gens (NSE) wird das Transgen ausschließlich in Neuronen exprimiert. Die Arbeit behandelt in einem Teilbereich die Aufzucht und Charakterisierung der NSEnmI κ B α - Maus: durch kontinuierliche Kontrolle der Transgenität der Jungtiere mit Hilfe der PCR aus der Mausschwanzspitze konnte aus den Foundertieren drei stabile transgene Mauslinien aufgebaut werden. Die Fortpflanzung war durch das Transgen nicht beeinträchtigt. Die Weitergabe des Transgens folgte den Gesetzen der Mendelschen Vererbungslehre. Auffällige mikroskopische Veränderungen in der Anatomie des Gehirnes durch die Blockierung von NF- κ B in der Entwicklung ließen sich durch eine Nissl-Färbung nicht feststellen. Der Western Blot aus Hirnparenchym und Körnerzellen bewies, dass das Transgen im Gehirn und auch direkt in Körnerzellen exprimiert wird. Die immunhistochemische Doppelfärbung von Teilen des Hippocampus und des Cerebellum bestätigte die Expression von nmI κ B α in Neuronen.

Abschließend führten wir ein Experiment mit einer weiteren, bereits bekannten, transgenen Mauslinie durch, der κ B5 - Maus. In dieser Mauslinie steht die Expression eines Reportergens (β -Globin) unter der transkriptionellen Kontrolle von drei NF- κ B Bindungsstellen. Dies bedeutet, dass das Ausmaß der β -Globin-Expression die Aktivität von NF- κ B widerspiegelt. Durch eine PCR, mit der wir quantitativ die Expression dieses Reportergens bestimmten, untersuchten wir, ob im Rahmen des LPS-Modells der Sepsis NF- κ B im Gehirn aktiviert wird. Es zeigte sich, dass nach i.p. Injektion von LPS die Aktivität von NF- κ B in den ersten 3h auf das 14fache anstieg, um schließlich nach 24h wieder zum Ausgangswert zurückzukehren. Durch zusätzliche Gabe von Salizylsäure konnte, die durch die LPS-Gabe ausgelöste erhöhte Aktivität von NF- κ B, vermindert werden.

Als Ergebnis kann festgehalten werden, dass das Transgen nmI κ B α in den etablierten Mauslinien exprimiert und vererbt wird, so dass sie als Modell für die Funktion von NF- κ B in Neuronen verwendet werden können. Die wachsende Bedeutung von NF- κ B im Rahmen neurologischer Krankheiten macht ihn für weitere Studien unverzichtbar, zumal NF- κ B von gängigen Medikamenten wie Aspirin gehemmt wird.