

Victoria Tarabin

Dr. sc.hum.

## **Die Rolle des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B bei der durch 6-Hydroxydopamin und TNF $\alpha$ induzierten Apoptose von PC12 Zellen.**

Geboren am 15.11.1975 in Karaganda, Kasachstan

Diplom der Fachrichtung Biotechnologie (Dipl.-Ing. (FH)) an der Fachhochschule Mannheim, Hochschule für Technik und Gestaltung

Promotionsfach: Neurologie

Doktorvater: PD Dr.med. M. Schwaninger

In dieser Arbeit sollte die pro- und anti-apoptotische Wirkung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B abhängig von den externen Stimuli untersucht werden. Es sollte zunächst getestet werden, ob in einer neuronalen Zelllinie (in PC12-Tet-Off Zellen) eine unterschiedliche Wirkung von NF- $\kappa$ B auf die Apoptoseinduktion abhängig von dem gewählten Stimulus zu beobachten wäre. Zu dieser Untersuchung sollte die transkriptionelle NF- $\kappa$ B Aktivität in Abhängigkeit von externen Stimuli mittels des Luciferase Reporter Gen Tests untersucht und die Apoptose mittels der Kernfärbung mit Hoechst 33258 quantifiziert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, zwei externe Stimuli zu finden, welche sich nicht nur in ihrer chemischen Zusammensetzung und Herkunft, sondern auch in ihrer Wirkung auf NF- $\kappa$ B und die Apoptosebildung unterscheiden. Es handelt sich dabei um einen klassischen sehr gut untersuchten und beschriebenen NF- $\kappa$ B Stimulus, Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), und einen zur Untersuchung der Parkinsonschen Krankheit häufig herangezogenen Stoff, 6-Hydroxydopamin (6-OHDA). Beide führen zu einer Erhöhung der NF- $\kappa$ B Aktivität in einer neuronalen Zelllinie PC12-wt. Die Spezifität der NF- $\kappa$ B Aktivierung wurde durch den Einsatz des NF- $\kappa$ B Inhibitors  $\text{mI}\kappa\text{B}\alpha$  (an Serin 32 und Serin 36 mutiert) und Band Shift bestätigt.

Gleichzeitig führten diese beiden Stimuli zu einer erhöhten Apoptosebildung in PC12-wt Zellen. Durch die Untersuchung der Apoptose wurden unterschiedliche Wirkweisen von NF- $\kappa$ B ersichtlich: Nach der TNF $\alpha$  Stimulation hemmte der aktivierte NF- $\kappa$ B die pro-apoptotische TNF $\alpha$  Wirkung, wogegen nach 6-OHDA Stimulation eine pro-apoptotische NF- $\kappa$ B Wirkung deutlich wurde, da die Apoptoserate nach der NF- $\kappa$ B Hemmung niedriger wurde.

TNF $\alpha$  und 6-OHDA stimulieren unterschiedliche Reaktionskaskaden in den Zellen. Die Wirkung von TNF $\alpha$  ist rezeptorvermittelt, wobei 6-OHDA nach der Bildung von freien Sauerstoffradikalen zur NF- $\kappa$ B Aktivierung und Zelluntergang via Apoptose führt. Auf diesen Wegen werden auch unterschiedliche NF- $\kappa$ B Untereinheiten aktiviert. Dies wurde durch immunzytochemische Untersuchungen der NF- $\kappa$ B Translokation in den Zellkern deutlich. Es wurde gezeigt, dass die ausgewählten Stimuli tatsächlich zu einer NF- $\kappa$ B Translokation führen und die unterschiedliche Wirkweise des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B von der Wirkart des externen Stimulus abhängig ist. Man kann folgende Schlussfolgerung ziehen: Die Ursache für das Überleben einer Zelle nach dem Einfluss eines externen Stimulus liegt in der unterschiedlich starken Aktivierung verschiedener NF- $\kappa$ B Untereinheiten. Die unterschiedliche Art der Aktivierung ist von großer Bedeutung bei der Expression von anti- oder pro-apoptotischen NF- $\kappa$ B abhängigen Gene. Durch die Stärke der NF- $\kappa$ B Aktivierung und der darauf folgenden Genexpression nach dem Einfluss des jeweiligen Stimuli wird entschieden, ob die Zelle überlebt oder ein Apoptosemechanismus eingeleitet wird.

Die Art und Weise einer Reizreaktion ausgelöst durch einen internen oder externen Stimuli ist letztendlich entscheidend, ob es zu einer Aktivierung eines Transkriptionsfaktors kommt. Die Expressionsstärke der Gene entscheidet, welcher Prozess eingeleitet wird. Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse erlauben einen Einblick in die Vielseitigkeit eines der wichtigsten Transkriptionsfaktoren, NF- $\kappa$ B.