

Marion Nicola Schölzke

Dr. med.

Die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B in Körnerzellen nach exzitotoxischer Stimulation mit Glutamat

Geboren am 11.06.1977 in Karlsruhe

Reifeprüfung am 20.06.1996 in Stutensee

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996/1997 bis WS 2002/2003

Physikum am 08.09.1998 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Forschungsaufenthalt am Center for Neuroscience and Aging, The Burnham Institute, La Jolla, USA von 09/2001 bis 03/2002

Praktisches Jahr in San Diego (USA) und Heidelberg

Staatsexamen am 08.05.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Neurologie

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

Glutamat ist ein wichtiger Vermittler des Zelltodes nach exzitotoxischen Schädigungen des Gehirns wie der fokalen zerebralen Ischämie. So führt bei der zerebralen Ischämie die Minderversorgung der Neurone mit Energie zu deren Depolarisation und dadurch zu einer Freisetzung exzitotoxischer Aminosäuren wie Glutamat. Die Stimulation der Zellen durch Glutamat in unphysiologischen Konzentrationen führt über verschiedene zellinterne Mechanismen zu Nekrose oder Apoptose der stimulierten Zellen.

Ein Transkriptionsfaktor, von dem bekannt ist, dass er durch Glutamatstimulation aktiviert wird und der eine wichtige Rolle bei der Entscheidung über Zelltod oder Zellüberleben spielt, ist NF- κ B. In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass NF- κ B sowohl pro- als auch antiapoptotische Signale vermitteln kann. Welche Wirkung die Aktivierung von NF- κ B im einzelnen vermittelt, scheint von verschiedenen Faktoren abzuhängen wie zum Beispiel Zelltyp, Entwicklungsstadium der Zelle, aktivierten Untereinheiten von NF- κ B, Art und Stärke des Stimulus und nicht zuletzt dem verwendeten Modell. Bei fokaler zerebraler Ischämie in Mäusen konnte gezeigt werden, dass bei Abwesenheit der p50-Untereinheit von NF- κ B die Infarktgröße signifikant kleiner ist im Vergleich zur Kontrolle. Dies weist auf

einen Zelltod fördernden Einfluss von NF- κ B bei fokaler zerebraler Ischämie hin. Sollte man also den Aktivierungsmechanismus von NF- κ B kennen, wäre dieser ein mögliches pharmakologisches Ziel, um in die Kaskade, die zum Zelltod führt, einzugreifen und den Zelltod zu minimieren.

Aus diesem Grund wurden in dieser Arbeit die Schritte untersucht, die von der Stimulation der Neurone mit Glutamat zur Aktivierung von NF- κ B führen. Als Modell diente eine primäre Körnerzellkultur, gewonnen aus P7 NMRI-Mäusen. Stimuliert wurden die Zellen mit Glutamat in einer Konzentration von 300 μ M. Es konnte gezeigt werden, dass die Glutamatwirkung, die zur NF- κ B-Aktivierung führte, in diesem Modell über NMDA-Rezeptoren vermittelt wird. Um die Signalkaskade zu untersuchen, die von der Glutamatbindung an NMDA-Rezeptoren zur NF- κ B-Freisetzung führt, wurden verschiedene Inhibitoren von Enzymen verwendet. Von den untersuchten Enzymen war bekannt, dass sie nach Glutamatstimulation aktiviert werden und zusätzlich gab es Daten in der Literatur, die auf einen Zusammenhang mit einer NF- κ B-Aktivierung hinwiesen. Unter den gewählten Versuchsbedingungen zeigte lediglich der Calpain-Inhibitor Calpeptin einen Einfluss auf die NF- κ B-Aktivierung. Er verhinderte den Abbau von I κ B α nahezu vollständig und verminderte ebenso die Verlagerung der NF- κ B-Untereinheit p65 in den Zellkern nach Glutamatstimulation deutlich. Allerdings hatte Calpeptin nur einen geringen Einfluss auf das Überleben der Neurone. Die Rolle des I κ B α -Abbaus durch Calpain im Rahmen des Glutamat induzierten Zelltodes ist schwer vorherzusagen und bedarf noch weiterer Untersuchungen. Die einfachste Lösung wäre, dass Calpain über einen I κ B α -Abbau und eine NF- κ B-Freisetzung direkt zum Zelltod führt. Aber die NF- κ B-Aktivierung könnte auch dem Calpain vermitteltem Zelltod entgegen wirken. Auch eine physiologische Rolle der NF- κ B-Aktivierung durch Calpain ist denkbar. So werden beide mit der Gedächtnisbildung in Zusammenhang gebracht.

Dagegen scheinen in unserem Modell weder das 26S Proteasom noch die Caspase 3, die Phosphoinositid 3-Kinase oder Calcineurin an der NF- κ B-Aktivierung beteiligt zu sein.

Die Erkenntnis, dass Glutamat über Calpain zur NF- κ B-Aktivierung führt, eröffnet interessante therapeutische Optionen. So konnte in einem Modell des Multiorganversagens bereits gezeigt werden, dass der durch Calpain vermittelte Zelltod zumindest teilweise über eine NF- κ B-Aktivierung läuft. Würde sich dies auch für Neurone bestätigen, wäre die Protease Calpain ein interessanter Angriffspunkt zur Minimierung des neuronalen Unterganges bei verschiedenen ZNS-Erkrankungen.