

Rainer von Coelln
Dr. med.

Interleukine 1-12: potentielle neurotrophe Wirkungen auf mesencephale dopaminerge Neurone

Geboren am 21.02.1970 in Düsseldorf
Reifeprüfung am 04.05.1989 in Düsseldorf
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1990/91 bis WS 1996/97
Physikum am 04.09.1992 an der Universität Düsseldorf
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg und Montréal, Kanada
Staatsexamen am 04.06.1997 an der Universität Heidelberg

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

Der Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Interleukine 1-12 auf potentielle neurotrophe Eigenschaften für embryonale mesencephale dopaminerge Nervenzellen. In den hierzu verwendeten Zellkulturen aus 14 Tage alten Rattenembryos lag der Anteil an dopaminergen Neuronen bei ca. 8 %; es wurde ausschließlich Serum-freies Medium verwendet.

Die als Kontrollgruppe dienenden Kulturen wurden in Medium ohne Zugabe von Zytokinen gehalten; die Anzahl der in diesen Kulturen nach 8 Tagen überlebenden TH-positiven Nervenzellen (bzw. der Mittelwert aus den Einzelwerten der jeweiligen Kulturen) wurde als 100 % definiert.

Als Positivkontrolle dienten in den verschiedenen Experimenten solche Kulturen, die mit Vesikel Protein bzw. mit basischem Fibroblastenwachstumsfaktor behandelt wurden. Die Anzahl überlebender dopaminerges Neurone lag in diesen Kulturen stets hochsignifikant über derjenigen in den Kontrollgruppen, nämlich bei 180 % (VP) bzw. 154 % (FGF-2). Durch diese Positivkontrollen wurde in jedem einzelnen Experiment die Eignung des verwendeten Kultursystems zum Nachweis potentieller neurotropher Eigenschaften der untersuchten Faktoren bestätigt.

Für IL-6 fand sich (in unterschiedlichen Versuchen) bei Konzentrationen von 3 und 10 ng/ml jeweils eine signifikant höhere Anzahl überlebender TH-positiver Neurone als in den entsprechenden Kontrollgruppen, nämlich 132 % (bei 3 ng/ml) bzw. 135 % (bei 10 ng/ml).

Die mit IL-7 in einer Konzentration von 10 ng/ml behandelten Kulturen zeigten ein hochsignifikant besseres Überleben (130 %) dopaminerges Zellen als in der Kontrollgruppe.

Unter Behandlung mit TNF- α in einer Konzentration von 1 ng/ml lag die Anzahl TH-positiver Neurone nach 8 Tagen *in vitro* mit 125 % signifikant über derjenigen in der Kontrollgruppe.

All diese Ergebnisse ließen sich zwar bezüglich der Größenordnung des jeweiligen überlebensfördernden Effektes reproduzieren, nicht jedoch in bezug auf die Signifikanz, da letztere häufig an den relativ hohen Standardabweichungen scheiterte.

Für IL-6, IL-7 und TNF- α läßt sich aus diesen Ergebnissen ein mäßig ausgeprägter neurotropher Einfluß auf embryonale mesencephale dopaminerge Neurone ableiten, dessen physiologische Relevanz gleichwohl unklar ist. Da für die drei genannten Faktoren die GFAP-

spezifische immunzytochemische Färbung negativ ausfiel, ist in allen drei Fällen von einem direkten, d.h. nicht Glia-vermittelten Effekt auszugehen.

Bei einer Konzentration von 10 ng/ml wurde sowohl für IL-1 β als auch für IL-9 in jeweils einem Versuch in den entsprechend behandelten Kulturen eine signifikant verminderte Anzahl TH-positiver Neurone gefunden, nämlich 93 % (IL-1 β) bzw. 82 % (IL-9). Die Relevanz dieser sehr gering ausgeprägten Effekte, deren Signifikanz letztlich auf den in diesen beiden Fällen sehr niedrigen Standardabweichungen beruht, ist gleichwohl fraglich.

Alle übrigen Interleukine blieben ohne signifikanten Einfluß auf das Überleben dopaminergischer Nervenzellen in Kultur. Somit findet sich für die Interleukine 1 α , 1 β , 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11 und 12 keinerlei Hinweis auf eine neurotrophe Unterstützung embryonaler dopaminergischer Neurone.

Die mit IL-11 behandelten Kulturen waren neben den Positivkontrollen die einzigen, in denen ein positiver Ausfall der GFAP-spezifischen Färbung zu beobachten war. IL-11 hat also einen fördernden Einfluß auf die Differenzierung und die Proliferation der astrozytären Vorläuferzellen in Kultur, ohne dadurch indirekt das Überleben der dopaminergen Nervenzellen zu verbessern.

Schlußfolgerungen auf die Verhältnisse *in vivo*, wo multiple Wechselwirkungen im Sinne von Synergismen wirksam werden können, lassen sich zwar nur mit großer Zurückhaltung ziehen. Insgesamt läßt sich jedoch an Hand des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Zellkultursystems für die Zytokin-Familie der Interleukine ein eher sehr geringer Einfluß auf embryonale mesencephale dopaminerge Nervenzellen der Ratte feststellen, wobei IL-6, IL-7 und TNF- α am ehesten für weiterführende Untersuchungen von Interesse wären.