

Cornelius Johannes Werner  
Dr. med.

## **Proteomanalyse gesunder und Parkinson-erkrankter humaner Substantia nigra.**

Geboren am 22.11.1975 in Dresden  
Staatsexamen am 20.11.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Heiner Schirmer

Ziel der Studie war, die Veränderungen in der Proteinzusammensetzung der Substantia nigra zu charakterisieren, die im späten Verlauf des M. Parkinson auftreten. Zu diesem Zweck wurden Substantia nigra-Gewebshomogenate von je fünf alters- und geschlechtskontrollierten Parkinsonautopsaten bzw. Kontrollen mit Proteomicsmethoden untersucht. Hierzu wurden die zu untersuchenden Hirnregionen präpariert und einem mechanischen Aufschluss unterzogen. Die weitere Untersuchung beinhaltete eine zweidimensionale Polyacrylamid-Gelelektrophorese, Fluoreszenzfärbung und computergestützte Auswertung der Intensitätsdifferenzen. Anschließend folgte eine massenspektrometrische (MALDI-ToF-)Identifikation der Proteine unter Zuhilfenahme bioinformatischer Datenbanken. Alle identifizierten Proteine wurden auf eine Korrelation mit *post mortem*-Intervall und Alter hin untersucht.

Die Ergebnisse weisen auf eine hohe Validität der Studie hin, gezeigt durch die beim M. Parkinson unveränderte Expression von sogenannten *housekeeping*-Proteinen und solchen, für die eine Abhängigkeit der Expression von *post mortem*-Intervall und Lagerung beschrieben wurde. Unter den unverändert exprimierten Proteinen fanden sich auch Proteine, die für verschiedene Formen des hereditären M. Parkinson verantwortlich gemacht werden, nämlich DJ-1 (Park7) und Ubiquitin-Hydrolase L1 (Park5). Dies wurde von uns als Hinweis auf eine ätiopathogenetisch untergeordnete Rolle dieser Proteine für den sporadischen M. Parkinson gewertet.

Differenziell exprimierte Proteine umfassten etliche Stoffwechselwege, die für die Pathogenese des M. Parkinson aktuell diskutiert werden: Eisenstoffwechsel (Ferritine), Glutathion und oxidativer Stress (Glutathion-S-Transferasen, Peroxiredoxine) und gliale Proteine (GFAP, GMFB, Sorcin, Galectin-1). Darüber hinaus fanden sich aber auch differenziell exprimierte Proteine und Stoffwechselwege, die bislang wenig oder keine Beachtung in der Diskussion des M. Parkinson fanden, darunter der Metabolismus von *advanced glycosylation endproducts* (AGEs) durch die Glyoxalase-1 möglicherweise schon in initialen Stadien der Krankheit sowie der Aldehyd- und Retinolstoffwechsel (Celluläres Retinolbindendes Protein-1, Aldehyddehydrogenase 1A1). Schlussendlich finden sich Hinweise auf die strukturellen Veränderungen, denen die Substantia nigra durch den Verlust von synaptischen Terminalen und durch den zytoskeletalen Umbau unterliegt (V-Typ ATPase, Coactosin-like Protein, Beta-Tubulin-Cofactor A). Somit spiegelt diese Studie die Tatsache gut wider, dass dem M. Parkinson eine komplexe, multifaktorielle und zum Teil noch nicht vollständig verstandene Ätiopathologie zugrunde liegt, und sie erweitert den aktuellen Kenntnisstand um einige neue Aspekte.

Der gewählten Methode sind einige inhärente Schwächen zu Eigen: als *post mortem*-Analyse kann sie nicht Ursache und Folge trennen. Methodisch wäre eine Erfassung *aller* Proteine höchst wünschenswert, aufgrund der proteomicstypischen Schwierigkeiten mit hydrophoben und *low-abundance*-Proteinen jedoch nur begrenzt zu verwirklichen. Zudem kann ein gewebebasierter Ansatz keine sichere Aussage über die zelluläre oder subzelluläre Zuordnung der gefundenen Proteine treffen.

Dennoch hoffen wir, mit der vorliegenden Arbeit einen wesentlichen Beitrag zur Darstellung der Veränderungen auf Proteinebene geliefert zu haben, die im Verlauf des M. Parkinson im Gehirn auftreten, ohne den Beschränkungen anderer proteinchemischer oder immunhistochemischer Ansätze zu unterliegen, die etwa die bloße Verfügbarkeit oder Spezifität von Antikörpern betreffen. Weitere Studien müssen zum einen das Spektrum auf andere Gehirnregionen erweitern, zum anderen eine stärkere Fokussierung auf Zelltypen und subzelluläre Kompartimente vornehmen, um eine umfassende Charakterisierung des „Parkinson-Proteoms“ erzielen zu können.