

Adam Strzelczyk
Dr. med.

Charakterisierung der *in vivo* Funktion von growth/differentiation factor-15 für das Überleben adulter Motoneurone

Geboren am 01.08.1978 in Gdingen
Staatsexamen am 24.05.2006 an der Universität Heidelberg

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

Growth/differentiation factor-15 (GDF-15) wurde 1997 gleichzeitig von mehreren Forschergruppen als neues divergentes Mitglied der TGF- β Superfamilie entdeckt.

GDF-15 wird im ZNS weitläufig exprimiert, das stärkste Signal findet sich im neonatalen und adulten Plexus choroideus; übereinstimmend mit dieser Lokalisation konnte GDF-15 durch Western Blot im Liquor cerebrospinalis nachgewiesen werden, von wo es ins Hirnparenchym penetrieren kann. Bislang konnte ein neurotropher Effekt auf dopaminerge Mittelhirnneurone *in vitro* und *in vivo* nachgewiesen werden.

Weitere Untersuchungen an Mäusen haben exogenes GDF-15 auch als einen Überlebensfaktor in der Maus sowohl *in vitro* für frühembryonale (E15.5) Motoneurone als auch *in vivo* im Fazialisläsionsmodell zeigen können.

Zur weiterführenden Analyse der Rolle von GDF-15 für die Entwicklung und Aufrechterhaltung des ZNS wurde in unserer Arbeitsgruppe eine GDF-15-defiziente Maus hergestellt, in der die GDF-15 kodierende DNA Sequenz durch das lacZ Gen ersetzt wurde.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte durch die Phänotypisierung von neonatalen, vier Wochen und 30 Wochen alten GDF15-defizienten Mäusen gezeigt werden, dass es ohne GDF-15 zu Verlusten in verschiedenen adulten Motoneuronenpopulationen kommt. Im Fazialisläsionsversuch zeigte fehlendes endogenes GDF-15 keinen Einfluss auf den axotomie-induzierten Zelltod in vier Wochen alten Tieren. Insgesamt ist davon auszugehen, dass GDF-15 frühestens ab einem Lebensalter von 4 Wochen einen messbaren Effekt auf Motoneurone auszuüben scheint.

Passend hierzu zeigt sich die Expression von GDF-15 im adulten peripherem Nervengewebe gegenüber der frühen postnatalen Expression (P1-P30) erhöht.

Trotz intensiver Bemühungen gelang kein direkter Nachweis von GDF-15 respektive LacZ in den mit Motoneuronen in Verbindung stehenden Geweben *in situ*. Allerdings weist die Lokalisation von GDF-15 mRNA und Protein in isolierten Schwanzzellen auf diesen Zelltyp als wichtige GDF-15 Quelle für Motoneurone hin.

Die in der real-time PCR gezeigte höhere relative GDF-15 Expression im N. ischiadicus gegenüber dem innervierten Muskel und dem ZNS-Parenchym deutet darauf hin, dass GDF-15 den Motoneuronen im peripheren Nerven vorkommenden Zellen zur Verfügung gestellt wird; ausser Schwanzzellen könnten das aufgrund von früheren Untersuchungen an Makrophagen auch aktivierte Makrophagen sein. Eine weitere Quelle an GDF-15 stellt der Liquor cerebrospinalis dar, so dass eine lokale Wirkung von GDF-15 auf die Somata der Motoneurone sowohl in den Rückenmarksvorderhörnern wie in den Hirnstammkernen in Betracht gezogen werden sollten.

Untersuchungen der Expressionsmuster ausgewählter und für Motoneurone bereits als neurotroph beschriebener Faktoren zwischen GDF-15 Nullmutanten und Wildtyp-Tieren zeigten keinen signifikanten Unterschied, so dass zumindest für die untersuchten Faktoren ein indirekter, über GDF-15 vermittelter Einfluss unwahrscheinlich erscheint.

Des Weiteren konnte durch die Untersuchung der GDF-15-Nullmutante gezeigt werden, dass fehlendes endogenes GDF-15 zumindest bis zur 30 Lebenswoche keinen Einfluss auf die Entwicklung und das Überleben bestimmter Neuronenpopulationen wie trigeminaler mesencephaler sensorischer Neurone und noradrenerger Neurone im Locus coeruleus, besitzt. Daraus lässt sich ableiten, dass GDF-15 *in vivo* für ausgewählte Neuronenpopulationen eine spezifische Funktion besitzt, und das Fehlen des endogenen GDF-15 nicht zu einer unspezifischen Neurodegeneration führt.

Aus den an der Nullmutante erhobenen Daten kann abgeleitet werden, dass GDF-15 einen neuen physiologischen Überlebensfaktor für adulte Motoneurone *in vivo* darstellt. Hierbei sollte GDF-15 zusammen mit CNTF und LIF genannt werden, für die im gleichen Zeitabschnitt eine physiologische Funktion auf Motoneurone *in vivo* beschrieben wurde.

Trotz der ausstehenden Erkenntnisse über die zum Motoneuronenverlust führenden pathophysiologischen Mechanismen stellt GDF-15 einen vielversprechenden putativen Faktor für die experimentellen Ansätze zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen dar.