

Ulrich Haas

Dr. med.

Der Nachweis adsorptiver Proteine der isolierten Markscheide und Untersuchungen zu ihrer möglichen funktionellen Bedeutung beim Versuchstier und beim Menschen

Geboren am 23.9.1967 in Heidelberg

Reifeprüfung am 15.5.1987 in Schriesheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1988 bis WS 1995/96

Physikum am 29.8.1990 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Mannheim und Lexington (USA)

Praktisches Jahr in Mannheim und Lexington (USA)

Staatsexamen am 24.5.1996 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. H. H. Berlet

Die Arbeit befasst sich mit dem Nachweis von locker gebundenen extrinsischen Spurenproteinen aus isolierten Myelinmembranen und ihrer möglichen Bedeutung für die Kompaktstruktur von Myelin in vitro.

Mit niedriger Ionenstärke wurde aus cerebralen Myelinmembranen vom Rind 1-2 % des Gesamtproteins freigesetzt. Darin konnten elektrophoretisch mindestens 25 verschiedene Proteine nachgewiesen werden, deren Vorkommen in isolierten Myelinmembranen bisher nicht beschrieben wurden. Die Extrakte enthielten verschiedene Endoproteinase-Aktivitäten gegenüber dem basischen Myelinprotein als Substrat. Es handelt sich dabei um Aktivitäten von Kathepsin D, Kathepsin B und einer alkalischen Metalloproteinase. Nach dieser Vorbehandlung wiesen die nachfolgenden Extrakte von typischen extrinsischen Myelinproteinen in Puffern hoher Ionenstärke keine oder nur noch sehr geringe proteolytische Aktivitäten auf. Diese Befunde sprechen dafür, daß diese Proteine adsorptiv an die Myelinmembranen aus den Gewebekomponenten gebunden wurden. Sie stellen die vorherrschende Meinung, daß extrinsische Proteinase-Aktivitäten in isolierten Myelinmembranen vorwiegend aus der Markscheide selbst stammen, in Frage.

Die mit diesen Vorbehandlungen verbundenen Veränderungen der spezifischen Dichte von Myelinmembranen wurden mittels isopyknischer Ultrazentrifugation untersucht, ebenso wie der Einfluß von Zn^{2+} -Ionen. Die experimentellen Grundbedingungen wurden zunächst an Myelinmembranen aus Rinderhirn ermittelt, und auf Myelin aus Humangehirnen, unter Berücksichtigung von Alterungsprozessen, angewendet.

Die Extraktion von cerebralen Myelinmembranen mit einem Puffer niedriger Ionenstärke bewirkte eine Zunahme ihrer relativen Dichte. Gleichzeitig nahm der Verteilungsbereich der Partikel im Sinne einer erhöhten Heterogenität und Dissoziation der Membranen zu.

Die Behandlung von Myelinmembranen mit Zinkionen bewirkte unabhängig von ihrer Vorbehandlung ebenfalls eine deutliche Zunahme der Dichte, jedoch bei gleichzeitiger Verringerung der Partikelheterogenität. Die Zink-abhängigen Veränderungen waren nach Behandlung von Myelin mit einem Chelator (EGTA) umkehrbar.

Unbehandelte Myelinmembranen aus Gehirnen "alter" Menschen zeigten gegenüber Myelinen aus Gehirnen "junger" Menschen die Tendenz, sich zu höheren Dichten und über einen größeren Dichtebereich zu verteilen. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant.

Qualitative Unterschiede hinsichtlich der induzierten Veränderungen wurden zwischen cerebralem Myelin vom Rind und Humanmyelin nicht beobachtet. Es war jedoch auffällig, daß die induzierten Veränderungen bei Myelinmembranen aus Gehirnen "alter" Menschen am ausgeprägtesten hervortraten.

Als **Schlußfolgerung** ergibt sich, daß isolierte Myelinmembranen aus zentralem Nervengewebe einen geringen elektrostatisch gebundenen Proteinanteil aufweisen. Die genaue Herkunft und Identität dieser Proteine sind abzuklären. Die zusätzliche Behandlung von Myelinmembranen mit Puffer niedriger Ionenstärke stellt eine deutlich verbesserte Methode dar, um stabile Extrakte extrinsischer Myelinproteine herzustellen und Myelin als Ausgangsmaterial für die eindeutige Zuordnung intrinsischer Proteinase-Aktivitäten zur Markscheide zu gewinnen.

Die Ergebnisse zeigen, daß diese locker gebundenen extrinsischen Bestandteile in einem Zusammenhang mit der Kompaktstruktur der Markscheide in vitro stehen. Es ist in Betracht zu ziehen, daß diese Zusammenhänge auch in situ eine Rolle für die Stabilität der Kompaktstruktur der Markscheide spielen.