



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Der Einfluss von brain-derived neurotrophic factor auf in vitro differenzierte serotonerge Neurone

Autor: Eva Maria Krause
Institut / Klinik: Zentralinstitut für Seelische Gesundheit (ZI)
Doktorvater: Prof. Dr. P. Schloss

Depressionen zählen zu den häufigsten psychiatrischen Erkrankungen. Sie sind mit psychosozialer Funktionsbeeinträchtigung und Leiden für die Betroffenen sowie enormen sozioökonomischen Kosten für die Gesellschaft verbunden.

Neuere Studien haben neben dem lange bekannten Mangel an Monoaminen eine verringerte Expression des Neurotrophins BDNF sowie strukturelle Auffälligkeiten des zentralen serotonergen Systems im Rahmen von Depressionen gezeigt.

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung des Neurotrophins auf Morphologie, Proliferation und Migration serotonerger Neurone zu untersuchen. Dazu wurden in-vitro serotonerge Neurone aus der neuroektodermalen Progenitorzelllinie 1C11 oder aus murinen embryonalen Stammzellen differenziert.

Immunfluoreszenz-Analysen der serotonerger Neurone zeigten die Expression von endogenem BDNF und dem TrkB-Rezeptor. Die in dieser Arbeit untersuchten Zelllinien bildeten somit ein in-vitro-Modell zur Untersuchung der Funktion von endogenem und exogenem BDNF. Erstmals wurde in dieser Arbeit die subzelluläre Lokalisation von BDNF und dem TrkB-Rezeptor in serotonerger Neuronen genauer charakterisiert. Das BDNF-Signal in Axonen und Dendriten sprach für eine regulierte Sekretion. Die Kolokalisation von proBDNF mit Markern präsynaptischer aktiver Zonen wies darauf hin, dass die BDNF-Vorstufe ebenfalls sezerniert wird. Die Kolokalisation von pTrkB und Flotillin-1 deutete auf einen retrograden Transport des aktivierten Rezeptors im Sinne der "signaling endosome"-Hypothese hin. In Co-Kultur-Experimenten mit BDNF-GFP exprimierenden HEK 293-Zellen sowie in Untersuchungen mit rekombinantem BDNF konnte gezeigt werden, dass exogenes BDNF dosis-abhängig das Neuritenwachstum serotonerger Neurone stimuliert, wobei dies - wie die Kultivierung der Neurone in einem "microfluidic device" zeigte, auf eine Beschleunigung der Wachstumsgeschwindigkeit zurückzuführen war. Ein Einfluss des exogenen BDNFs auf die Anzahl der Neuritenverzweigungen wurde nur bei den aus embryonalen Stammzellen differenzierten serotonerger Neuronen beobachtet. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass BDNF die Proliferation der 1C11^{5-HT}-Neurone fördert. Die funktionelle Blockade von BDNF durch TrkB-IgG-Fusionsproteine zeigte, dass die beobachteten Wirkungen durch den TrkB-Rezeptor vermittelt sind und dass auch dass endogene BDNF für die Neuritenlänge und die Anzahl der Neuritenverzweigungen von Bedeutung ist. BDNF-Antibody-Trapping und das endogene pTrkB-Signal in der Immunfluoreszenzanalyse zeigten, dass das endogene BDNF der serotonerger Neurone sezerniert wird und den TrkB-Rezeptor aktiviert. Eine Western-Blot-Analyse des Zellkulturüberstandes erwies sich als ungeeignet, um das BDNF im Zellkulturüberstand direkt nachzuweisen. Schließlich fand sich in den "microfluidic isolation devices" eine positiv chemotaktische Wirkung von BDNF auf migrierende serotonerge Neurone.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen an in-vitro differenzierten serotonerger Neuronen konnten also zeigen, dass exogenes BDNF eine trophische Wirkung auf serotonerge Neurone hat. Es fördert TrkB-vermittelt deren Wachstum und Proliferation. Die serotonerger Neurone exprimieren selbst BDNF und seinen Rezeptor, TrkB. Das endogene BDNF wirkt über einen autokrinen bzw. parakrinen Mechanismus ebenso trophisch. Ein BDNF-Gradient übt einen positiv chemotaktischen Effekt auf migrierende serotonerge Neurone aus. Die aus der neuroektodermalen Progenitorzelllinie 1C11 differenzierten serotonerger Neurone eigneten sich besonders, um die Wirkung des Neurotrophins auf unreife serotonerge Neurone und damit auch auf Prozesse wie den der Migration zu untersuchen. Hingegen konnte an den aus embryonalen Stammzellen differenzierten serotonerger Neurone besser der Effekt auf reife serotonerge Neurone beurteilt werden.