

Carl Robert Grabitz

Dr. med.

## **Einfluss der systemischen Tryptophankonzentration auf ein Tiermodell der Multiplen Sklerose**

Fach/Einrichtung: Neurologischen Universitätsklinik Heidelberg

Doktorvater: Dr. med. Michael Platten

Der Stoffwechsel der essenziellen Aminosäure Tryptophan (Trp) hemmt das Immunsystem während der Neuroinflammation und anderen immunologischen Vorgängen. Dies geschieht durch lokalen Entzug von Trp und Anhäufung von dessen immunsuppressiven Metaboliten, den Kynureninen (Kyn). Einige dieser Stoffwechselprodukte wirken toxisch auf Neurone, während andere neuroprotektiv sind. Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) ist das erste und geschwindigkeitsbestimmende Enzym des Trp Abbaus und wird hauptsächlich von antigenpräsentierenden Zellen während der Immunreaktion gebildet. Über die Rolle des Isoenzym Tryptophan-2,3-Dioxygenase (TDO) während der Neuroinflammation ist aktuell noch wenig bekannt. TDO wird hauptsächlich in der Leber gebildet und kontrolliert den systemischen Trp Stoffwechsel. Ein genetischer Knockout von TDO resultiert in einem Anstieg von Trp und dessen Stoffwechselprodukten wie Kyn im Blut. Ob diese systemischen Veränderungen Einfluss auf eine Entzündungsreaktion im zentralen Nervensystem (ZNS) haben wurde in dieser Arbeit untersucht.

Die neu erstellte TDO Reportermaus zeigte eine hepatische Enzyminduktion im neuroinflammatorischen Modell der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE). Dies ist wahrscheinlich auf die allgemeine Entzündungsreaktion im Mausmodell und nicht auf eine myelinspezifische Immunantwort zurückzuführen. Extrahepatische TDO konnte nur mittels quantitative Echtzeit-PCR und in wesentlich geringeren Mengen registriert werden.

Die dauerhaft gesteigerte Serumkonzentration von Trp und Kyn in TDO defizienten Tieren konnte in dieser Arbeit nachvollzogen werden. Weiterhin wurde eine vermehrte Expression von IDO in der Milz festgestellt. Unter der systemischen Steigerung von Trp und Kyn konnte während der EAE kein Einfluss auf die Aktivierung und Differenzierung von T Zelle, deren Zytokinprofil, die Infiltration von Leukozyten in das zentrale Nervensystem, die darauffolgende Aktivierung von lokalen Gliazellen und die resultierende Demyelinisierung von Nervenzellen beobachtet werden.

Der hepatische Enzymmangel führt in Mäusen mit defektem TDO-Gen zu einem vermehrten Anfall des Eduktes Trp. Dieses wird von extrahepatischer IDO, beispielsweise in der Milz, zu Kyn umgesetzt. Dort kann es jedoch nicht weiter abgebaut werden, wodurch es zu einem parallelen Anstieg von Trp und Kyn im Serum kommt. Für den ausbleibenden Effekt dieser systemischen Veränderung auf die Immunantwort und den Krankheitsverlauf der EAE gibt es verschiedene Erklärungsmöglichkeiten. Zum einen könnte IDO mit ihrer lokalen Trp Depletion und Kyn Anreicherung im Mikromilieu die systemischen Konzentrationen komplett überlagern. Oder die erhöhten Trp Level antagonisieren die modulatorischen Effekte von Kyn. Ebenso existieren auch Kyn Metaboliten mit (neuro-) toxischen Eigenschaften. Die

unkoordinierte Erhöhung von Kyn durch TDO Hemmung muss nicht dieselben immunmodulatorischen Metaboliten hervorbringen wie die Verstoffwechslung durch IDO. Weiterhin wurde in der Literatur Splice-Variante von TDO beschrieben, welche unter anderem im ZNS vorkommen. Fraglich ist ob die verwendeten TDO-defizienten Tiere und Reporter Mäuse diese Variante mit abdecken.

Weitere Untersuchungen die im Anschluss zu dieser Arbeit durchgeführt wurden zeigen eine verminderte Neurodegeneration im Rückenmark von TDO-defizienten Mäusen. Dieser subklinische Effekt ist möglicherweise durch Kynurenine vermittelt. Allerdings ließen sich in anderen Neuronen des ZNS gegenteilige Beobachtungen machen.

Insgesamt besteht weiterhin ein großer Forschungsbedarf auf dem Gebiet des Tryptophan-Abbaus über den Kynurenin-Weg. Die Rolle der beteiligten Enzyme und Stoffwechselprodukte im Kontext der Neuroinflammation und -degeneration müssen noch genauer nachvollzogen werden. Die in dieser Arbeit generierte Reportermaus bildet die TDO Expression in der Leber verlässlich ab und wird auch in der Zukunft dazu beitragen den systemischen Trp Stoffwechsel besser zu verstehen.