

Dr. med. dent. Jens Omid Brömme  
Dr. med.

## **Einfluss von Erythropoietin und Anoxie auf das Proteom adulter neuronaler Stammzellen**

Geboren am 04.02.1977 in Teheran  
Staatsexamen am 04.11.2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin H. Maurer

Adulte neuronale Stammzellen sind aufgrund ihrer Fähigkeit, sowohl zu Glia als auch zu Neuronen zu differenzieren, von besonderem medizinischen Interesse. Die genaue Kenntnis der molekularen Regulationsmechanismen innerhalb der Zelle bildet eine Voraussetzung für das Verständnis der Entwicklung des zentralen Nervensystems und für die sichere klinische Anwendung einer Stammzelltherapie.

In diesem Zusammenhang stellt die Regulation der Proliferation und der Differenzierung der neuronalen Stammzellen einen wesentlichen Schritt dar. Neuere Studien aus der Schlaganfall-Forschung haben gezeigt, dass Sauerstoff-Mangel zu einer gesteigerten Proliferation und zu neuronaler Differenzierung dieser Zellen führt. Diese Effekte sollen durch Erythropoietin (Epo), ein Zytokin, das im Rahmen der zellulären Hypoxie-Antwort induziert wird, vermittelt werden. In der vorliegenden Studie wurden deshalb in einem ersten Schritt die Auswirkungen von Epo auf die funktionelle Proteinausstattung adulter neuronaler Stammzellen unter Normoxie im Hinblick auf Differenzierungs- und Apoptosemechanismen untersucht werden. In einem zweiten Schritt wurde die quantitative Bedeutung der Epo-Wirkung im Rahmen der gesamten Anoxie-Antwort gemessen.

Hierzu wurde eine Proteinexpressionsanalyse in Form der zweidimensionalen Gelelektrophorese durchgeführt. Dieses Verfahren ermöglicht es, Änderungen der Proteinexpression unter verschiedenen experimentellen Bedingungen zu messen und zu vergleichen.

In vitro-Kulturen adulter neuronaler Stammzellen aus Rattenhirn wurden dazu für 24 Stunden den Bedingungen Normoxie ohne Epo-Gabe (Kontrolle), Normoxie und Epo-Gabe, Anoxie und Anoxie und Epo-Gabe ausgesetzt.

Der Vergleich der angefertigten Gele zeigte ein übereinstimmendes Vorkommen von 1353 Protein-Spots der Kontrolle und der mit Epo behandelten Gruppe. Die Expression war bei 639 Spots um mindestens Faktor 2 verändert, 352 Protein-Spots der Experimentalgruppe zeigten eine Herabregulation, 286 Spots wiesen eine Erhöhung der Expression auf. Dazu traten in der Kontrolle 364 Spots nur in dieser Gruppe auf, gegenüber 365 Spots bei Epo-Gabe.

Die Identifizierung der Protein-Spots durch Massenspektrometrie lieferte Hinweise auf eine anti-apoptotische Wirkung von Epo durch die Regulation der Heat-shock Proteine HSP-60 und HSP-70. Ein möglicher Einfluß auf Differenzierungsvorgänge spiegelt sich in der Expressionsänderung von Calnexin, Calreticulin und dem Phosphatidylethanolamine-Binding protein wider.

Der quantitative Vergleich der Proteinexpression der Stammzellen bei Epo-Gabe unter Normoxie und Anoxie ergab eine gleichsinnige Regulation von 43% aller regulierten Spots. Die Wirkung von Epo bestimmt also zu einem großen Teil die zelluläre Antwort auf Sauerstoffmangel adulter neuronaler Stammzellen.

Die zusätzliche Gabe von Epo bei Anoxie führte ebenfalls zu einer übereinstimmenden Expressionsänderung von 43% gegenüber Anoxie alleine. Allerdings kam es zu einer Veränderung des Expressionsmusters. Insgesamt waren unter allen drei Experimentalbedingungen 21% der regulierten Spots stets gleichsinnig verändert, so dass ein direkter Einfluß von Epo nahe liegt. Das Vorliegen von Unterschieden in den Expressionsmustern bei Epo-Gabe unter Normoxie, Anoxie und Epo-Gabe unter Anoxie spricht jedoch auch für die Beteiligung weiterer Signalwege zur Vermittlung der Anoxie-Antwort. Diese Mechanismen scheinen wechselseitigen Einflüssen zu unterliegen.