

Freie Radikale

1.1 Oxidativer Stress – Nitrosativer Stress

Stickoxid und davon abgeleitete Produkte haben als Biomoleküle eine sehr junge Entdeckungsgeschichte. Entscheidend war 1987 die Identifikation des Stickoxids (Stickstoffmonoxid, NO[•]) als der über längere Zeit gesuchte EDRF (endothelium derived relaxing factor) durch die Arbeitsgruppen um Furchgott, Ignarro, Murad und Moncada (Furchgott & Zawadzki 1980; Ignarro, Buga et al. 1987; Molina, Andresen et al. 1987; Palmer, Ferrige et al. 1987). Die Pionierleistungen auf dem Gebiet der Stickoxid-Forschung wurden 1998 mit der Vergabe des Nobelpreises gewürdigt. Nachdem sich zeigte, daß Stickoxid im Organismus ubiquitär vorkommt und mannigfaltige physiologische sowie pathophysiologische Wirkungen hat (Dawson & Dawson 1996), folgte eine regelrechte Flut von Veröffentlichungen. Die gleichsam vielfarbig schillernden Eigenschaften des Stickoxids, das sowohl als Biosignal als auch als toxisches Agens, ja mitunter auch als protektives, wirken kann, mögen dafür verantwortlich sein (Lipton, Choi et al. 1993; Wink, Hanbauer et al. 1996; Iadecola 1997; Wolf 1997).

Der Begriff "nitrosativer Stress" wird in den letzten Jahren dem des oxidativen Stresses an die Seite gestellt (Stamler & Hausladen 1990; Hausladen, Privalle et al. 1996). Es zeigte sich, daß viele Erscheinungen der Zellpathologie, die bisher den Folgen eines oxidativen Stresses zugeordnet wurden, zumindest teilweise als Ergebnis einer gesteigerten Produktion des Stickoxids zu erklären sind. Zum anderen demonstrieren neuere Experimente, daß die destruktiven Eigenschaften des Stickoxids nicht, wie längere Zeit angenommen, von diesem selbst stammen, sondern vielmehr durch eines seiner Folgeprodukte, das Peroxynitrit (ONOO[•]), vermittelt sind (Bartosz 1996). Peroxynitrit entsteht durch die diffusionslimitierte Reaktion von Superoxid (Hyperoxid, O₂^{•-}) und Stickoxid und ist aufgrund seines hohen Redoxpotentials wesentlich aggressiver als seine Vorläufermoleküle. Es ist daher geboten, Superoxid und Stickoxid im Zusammenhang zu sehen, da beide metabolisch gekoppelt sind. Die Art und Weise dieser Kopplung, die situations- und zelltypspezifischen Bedingungen, die Möglichkeit zur Protektion - dies letztlich auch in therapeutischer Hinsicht – bedürfen einer gründlichen Untersuchung.

1.2 Reaktive Stickstoff- und Sauerstoffspezies und ZNS

Die Überproduktion reaktiver Stickstoff- und Sauerstoffspezies wird bei ganz unterschiedlichen Erkrankungen des ZNS als ein entscheidender Faktor in der Ereigniskaskade, die letztlich zum Zelltod führt, angesehen (Schulz, Matthews et al. 1995; Jenner & Olanow 1996; Liu 1996; Szabo 1996; Behl 1997; Leist & Nicotera 1998). Neben Stickoxid, Superoxid und deren Reaktionsprodukt Peroxynitrit sind insbesondere das Hydroxylradikal ($\cdot\text{OH}$), organische Radikale ($\text{R}\cdot$) sowie die Oxidantien [Wasserstoffperoxid](#) (H_2O_2) und Hypochlorsäure (HOCl) von Bedeutung. Allgemein werden diese Spezies als ROS (reactive oxygen species) erfaßt, oder, wenngleich begrifflich zum Teil nicht korrekt, als [freie Radikale](#), bezeichnet. Im Sinne der Definition sind freie Radikale Moleküle oder Atome, die durch das Vorkommen eines oder mehrerer ungepaarter Elektronen charakterisiert sind und unabhängig existieren können (Halliwell & Gutteridge 1986). Sie sind im allgemeinen sehr reaktionsfreudig, und die Reaktionen sind zumeist irreversibel. Reaktive Stickstoff- und Sauerstoffspezies entfalten ihre destruktive Wirkung vor allem durch Proteinmodifikation, Hemmung der mitochondrialen Atmungskette, DNA-Schädigung und Fettsäureoxidation (Sies 1986; Gille & Sigler 1995).

Die das ZNS charakterisierenden zellulären Elemente sind im wesentlichen die Neuronen und Gliazellen, wobei erstere als das zelluläre Korrelat der kognitiven Fähigkeiten des ZNS betrachtet werden. Zweien der drei Gliazelltypen werden dabei hauptsächlich (unter-)stützende Aufgaben zugeordnet (griechisch Glia = Leim). Die Oligodendroglia (Oligodendrocyten) ermöglicht durch Myelinisierung der neuronalen Axone eine schnelle Signalweiterleitung. Die Astroglia (Astrocyten) dient wesentlich der metabolischen Versorgung der Neurone, wobei sie neueren Befunden zufolge auch an der synaptischen Transmission beteiligt ist (Conti, DeBiasi et al. 1996). Der dritte Gliotyp, die Mikroglia, verdankt ihren Namen einer relativ geringen Größe. Sie ist vermutlich mesodermalen Ursprungs und damit von den ektodermalen Astrocyten, Oligodendrocyten und Neuronen grundverschieden (Streit, Graeber et al. 1988). Die Mikrogliazellen werden als Makrophagen des Gehirns angesehen, einem Organ, das ‚immunologisch privilegiert‘ ist, in dem Sinne, daß es an Immunreaktionen des Organismus nicht direkt beteiligt ist, da durch die Bluthirnschranke bzw. das Fehlen eines lymphatischen Systems das Einwandern von immunkompetenten Zellen normalerweise verhindert wird. Die Mikroglia stellt etwa 20 % der

gesamten Gliapopulation, wenngleich ihre Anzahl zwischen einzelnen Hirngebieten beträchtlich schwankt (Vincent, Tilders et al. 1998). Ihre Funktion besteht während der frühen postnatalen Entwicklung (Perry & Gordon 1988) in der Phagozytose der, im Zuge der physiologischen, teilweise erfahrungsbedingten, Modellierung des Gehirns, sterbenden Neurone (in einigen Kerngebieten bis zu 50 % der neuronalen Population). Ihre Aufgabe im gesunden adulten Gehirn ist jedoch ziemlich unklar. Die ramifizierte, durch feinverzweigte Fortsätze charakterisierte Morphologie der ‚ruhenden‘ Mikroglia vermag sich jedoch unter pathologischen Bedingungen teilweise innerhalb weniger Stunden dramatisch zu verändern. Die Mikroglia wird ‚aktiviert‘, entwickelt eine amöboide Morphologie, und ähnelt jetzt, wie auch schon in der postnatalen Periode, sowohl unter biochemischen als auch funktionellen Aspekten, den Makrophagen (Gehrmann, Matsumoto et al. 1995). Aktivierte Mikrogliazellen lassen sich, mehr oder weniger regional begrenzt, bei einer Vielzahl von Erkrankungen des Nervensystems finden. Dazu zählen die Parkinsonsche und Alzheimersche Krankheit, die amyotrophe Lateralsklerose (ALS) sowie Ischämie, Infektionen (bakterielle und virale) und mechanische Traumata (Gebicke-Haerter, Van Calker et al. 1996; Kreutzberg 1996). Neben regenerativen Effekten, der auf der Freisetzung von Wachstumsfaktoren sowie der Phagozytose sterbender Neurone beruhen, sind aktivierte Mikroglia jedoch auch toxische Mediatoren. Inflammatorische Cytokine als auch reaktive Stickstoff- und Sauerstoffspezies sind Schlüsselemente in der Initiierung einer sekundären Gewebeschädigung. Gerade hier wird in jüngster Zeit verstärkt ein Ansatz zur, eben auch klinischen, Intervention gesucht, um die den primären ‚Insult‘ überlebenden Neurone einer autodestruktiven Schädigung zu entziehen (Koroshetz & Moskowitz 1996; Prass & Dirnagl 1998). Mit der vorliegenden Arbeit sollte die Produktion reaktiver Stickstoff- und Sauerstoffspezies anhand von Mischkulturen aus Mikro- und Astrogliazellen im Zusammenhang mit endogenen Schutzmechanismen sowie die Effektivität verschiedener protektiver Substanzen untersucht werden.