

Zusammenfassung

Obwohl Axone im peripheren Nervensystem komplett regenerieren können, kommt es bei Erkrankungen des peripheren Nervensystems häufig zu einer unvollständigen Erholung geschädigter Nervenfortsätze. Hierfür sind einerseits intrinsische Regenerations hemmende Signalkaskaden von Bedeutung, darüber hinaus wird postuliert, dass die regenerative Funktion von Schwann-Zellen bei diesen Erkrankungen beeinträchtigt ist. Schwann-Zellen sind Gliazellen, die unter normalen Umständen das Wachstum von Axonen unterstützen. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss und die Modulation solcher regenerativen Signalkaskaden in Tiermodellen erworbener peripheren Nervenerkrankungen untersucht, mit dem Ziel, neue Therapieansätze zu entwickeln, um axonale Regeneration und somit funktionelle Erholung zu verbessern. In der Vergangenheit konnte die RhoA/ROCK Signalkaskade als essenzieller Wachstums inhibitorischer Signalweg in Axonen identifiziert werden und die pharmakologische Modulation von RhoA und ROCK kann die Regeneration geschädigter Axone verbessern. Nicht bekannt ist jedoch, ob und warum diese Signalkaskade unterschiedliche Effekte auf die Regeneration motorischer bzw. sensibler Nervenfasern hat. Daher wurde zunächst der Effekt von Y-27632, eines pharmakologischen ROCK-Inhibitors auf die Regeneration dieser beiden Fasermodalitäten untersucht. Es zeigte sich, dass die Regeneration motorischer Nervenfasern deutlich besser war im Vergleich zu sensiblen Nervenfasern. Dieser Unterschied in der Regeneration ging einher mit einer unterschiedlichen Expression und Aktivierung von RhoA bzw. des untergeordneten Effektors ROCK. Der therapeutische Effekt von Y-27632 wurde anschließend in einem transgenen Mausmodell SOD1^{G93A} einer progredienten Motoneurondegeneration untersucht. Bei SOD1^{G93A} Mäusen handelt es um ein etabliertes Mausmodell der amyotrophen Lateralsklerose, einer progredienten fatal verlaufenden Motoneuron erkrankung. Eine Behandlung dieser Tiere führte zwar nicht zu einem verlängerten Überleben, es zeigte sich aber eine Verbesserung funktioneller und histologischer Parameter. So konnte histologisch eine höher Anzahl regenerierender Axone nachgewiesen werden, und auch die Anzahl reinnervierter neuromuskulärer Endplatten war in Y27632 behandelten Tieren höher als im Kontrollkollektiv.

In einer weiteren Studie wurde der Effekt von entzündlichen Mediatoren als extrinsische Modulatoren auf die pro-regenerativen Eigenschaften von Schwann-Zellen untersucht. Hierfür wurden der Effekt von Seren von Patienten mit chronischer inflammatorischer demyelinisierender Polyneuroradikulopathie (CIDP) auf die Plastizität von Schwann-Zellen evaluiert. Die CIDP ist eine autoimmun vermittelte Neuropathie, bei der es häufig zu einer sekundären axonalen Schädigung kommt. In einem Tiermodell chronischer Denervierung zeigte sich, dass Schwann-Zellen, die mit CIDP-Seren konditioniert wurden, weniger wachstumsfördernde Effekte auf Axone hatten. Diese Schwann-Zelldysfunktion ging mit einer veränderten Transkription und einer reduzierten Expression von Wachstumsfaktoren einher. Eine Analyse der Seren ergab, dass bei CIDP-Patienten die Konzentration des Zytokins GMCSF (*cytokine granulocyte macrophage colony stimulating factor*) reduziert war. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass die pro-regenerative Funktion von

Schwann-Zellen durch Zytokinprofile moduliert werden kann, und bietet eine mögliche Erklärung für das häufig beobachtete Phänomen, das Patienten mit einer CIDP nur eine unvollständige Regeneration geschädigter Axone zeigen.

Abstract

Despite having the innate ability to regenerate after injury, peripheral nerves often fail to regenerate to full extent in peripheral nerve disorders. This incomplete regeneration of injured axons can be attributed to the presence of growth inhibitory pathways and attenuation of pro-regenerative properties of Schwann cells. Schwann cells are major glial cells in peripheral nerves that support axonal regeneration after the nerve injury. Here the impact and the modulation of such regenerative pathways in animal models of acquired peripheral nerve disorders were addressed with the aim to develop novel therapeutic approaches to improve axonal regeneration and hence functional recovery. In axons, RhoA/Rho kinase (ROCK) has been identified as a critical inhibitory pathway and its pharmacological inhibition proved to be beneficial to enhance axonal regeneration; however, the contribution of ROCK in enhancing regeneration of motor and sensory nerve modalities is not understood. To answer this, the effect of a chemical ROCK inhibitor, Y-27632 was investigated in regeneration of both fiber modalities. The key findings demonstrated a differential effect of Y-27632 on motor and sensory nerve regeneration in in vitro neuronal cell cultures and in vivo nerve crush models, motor nerves being more responsive compared to sensory nerves. Apparently, differential expression and activation of RhoA and downstream effectors of ROCK were associated with the observed outcomes. As extension to those studies, a transgenic animal model of motor neuron disease (SOD1G93A) was treated post-symptomatically with Y-27632. SOD1G93A is a commonly used animal model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) which is a fatal progressive neuromuscular disorder. Although systemic treatment with Y-27632 could not prolong the survival in these animals, significant improvement in functional and histological outcomes were observed. Y-27632 treated mice showed improved axonal survival in peripheral nerves and increased innervation and density of neuromuscular junctions.

In an alternate study the role of serum factors as extrinsic modulators on the ability of Schwann cells to support axonal regeneration was addressed. As such, the impact of inflammatory mediators in sera from patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) on Schwann cell plasticity was assessed. CIDP is auto-immune demyelinating peripheral nerve disorder, in which secondary axonal loss is a characteristic hallmark in the latter stages of the disease. In an animal model of chronic denervation, CIDP sera conditioned Schwann cells were less supportive to axonal regeneration as control Schwann cells. Altered transcriptional program and decreased expression of growth factors in Schwann cells might be responsible for loss of Schwann cell plasticity. Analysis of cytokine expression revealed lower levels of cytokine granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) in CIDP sera. Collectively, these findings indicate that the pro-regenerative properties of Schwann cells can be modulated by cytokine profiles and provide a plausible explanation for the

frequent clinical observation that patients with CIDP often display an incomplete regeneration of injured axons.