

6 ZUSAMMENFASSUNG

T-Lymphozyten können eine entscheidende Rolle bei Verletzungen oder Erkrankungen des ZNS spielen und dabei sowohl neurodegenerative als auch neuroprotektive Effekte vermitteln. So führen T-Zellen im Rahmen neuroinflammatorischer Erkrankungen, wie der Multiplen Sklerose, zur Demyelinisierung der Axone und sind somit an der Ausbildung der sekundären Degeneration beteiligt. Nach einer mechanischen Schädigung des ZNS können T-Zellen verletzte Neurone jedoch auch vor einer Ausbreitung des Primärschadens schützen und die Ausbildung eines sekundären Zellschadens verhindern. In der letzten Zeit haben sich zunehmend Hinweise ergeben, daß diese konträren Wirkungsweisen auf die verschiedenen Subtypen von T-Helferzellen, Th1 und Th2, zurückzuführen sind. Dabei werden die schädigenden Effekte eher den Th1- Zellen und die protektiven Effekte eher den Th2-Zellen zugeschrieben.

Ausgehend von diesen Befunden wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob T-Zellen akut verletzte Neurone nicht nur vor einer Ausbreitung des Primärschadens schützen, sondern sogar das Auswachsen von Axonen aus dem geschädigten Hirngewebe im Sinne einer Neuroregeneration oder reaktivem Sprouting beeinflussen können. Unter Einsatz von in unserer Arbeitsgruppe entwickelten axonalen Auswachsassays sowie der organotypischen entorhino-hippokampalen Gewebeschnittkultur wurde bestätigt, daß akut verletzte Hirnschnitte *in vitro* axonales Wachstum aufweisen. Darüber hinaus konnte in verschiedenen Kokulturrexperimenten erstmals gezeigt werden, daß sowohl antigenspezifisch als auch unspezifisch aktivierte Th1-Zellen axonales Wachstum inhibieren und Th2-Zellen axonales Wachstum stimulieren. Weiterhin konnte sogar *in vivo* am Modell der entorhinalen Kortex-Läsion ein vermehrtes Auswachsen im Beisein von Th2-Zellen beobachtet werden.

Anschließend wurde mit der Analyse der an der Modulation des axonalen Auswachsens beteiligten sezernierten Faktoren begonnen. Die *in vitro* Untersuchungen haben ergeben, daß das beobachtete axonale Wachstum sowie die Th2-induzierte Stimulation dieses axonalen Wachstums Neurotrophin-abhängig sind. Die ELISA-Analyse des Kokulturmediums zeigte jedoch keine Veränderungen der Neurotrophinkonzentration im Vergleich zur Kontrolle. Im Gegensatz dazu ergab die immunhistochemische Analyse der verletzten Hirnschnitte eine gesteigerte neuronale Neurotrophin-Rezeptor-Expression unter dem Einfluß von Th2-Zellen. Somit kann davon ausgegangen werden, daß axonales Auswachsen nach einer Verletzung über die Bindung der Neurotrophine an ihre spezifischen Rezeptoren vermittelt wird und daß die Th2-induzierte Stimulation des axonalen Wachstums auf eine Hochregulation dieser Neurotrophin-Rezeptor-Expression zurückzuführen ist.

Welche sezernierten T-Zell-Faktoren letztendlich an den beschriebenen Effekten beteiligt sind, ist bisher noch nicht geklärt. Im Rahmen dieser Arbeit zeigten weder das Th1-Zytokin IFN- γ noch das Th2-Zytokin IL-4 die erwartete Beeinflussung des axonalen Wachstums bzw. der Neurotrophin-Rezeptor-Expression.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stellen einen vielversprechenden Ansatzpunkt in der Therapie neurologischer Erkrankungen, insbesondere nach einer akuten Verletzung des ZNS, dar. Die Identifikation und funktionelle Charakterisierung der an axonalen Auswuchsvorgängen beteiligten sezernierten Faktoren wird daher auch Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

SUMMARY

T lymphocytes play a significant role in CNS injuries and diseases, where they are involved in both neurodegenerative and neuroprotective processes. During neuroinflammatory diseases, such as multiple sclerosis, T cells lead to demyelination and secondary degeneration. At the same time, T cells can protect damaged neurons in the primary stage from progressing to secondary damage after mechanical lesion of the CNS. It has been supposed that differential T helper cell subtypes (Th1 and Th2) are responsible for these opposite mechanisms. Whereas Th1 cells seem to be harmful, Th2 cells may exert beneficial effects.

However, the role of T helper cells in axonal outgrowth in the context of neuroregeneration and reactive sprouting is not yet clear. To investigate the influence of activated T cells on axonal outgrowth, modified classical neurobiological outgrowth assays combined with organotypic entorhino-hippocampal slice cultures were used. In this study it was confirmed that damaged brain slices show neuronal outgrowth *in vitro*. While Th1 cells suppressed this axonal outgrowth, Th2 cells significantly stimulated axonal outgrowth compared to controls. The Th2-induced stimulation of axonal outgrowth could also be reproduced *in vivo* by using entorhinal cortex lesion.

Furthermore, the identification of secreted factors and mechanisms responsible for these modulation of axonal outgrowth started. *In vitro* investigations demonstrated that Th2 cells stimulate axonal outgrowth in a neurotrophin-dependent manner. ELISA analyses revealed, however that Th2 cells did not substantially modulate neurotrophin levels in T cell/brain slice cocultures. In contrast, immunohistochemical analyses of damaged brain slices resulted in an upregulation of neuronal neurotrophin receptor expression by these Th2 cells. The described data suggest that axonal outgrowth is mediated by the binding of neurotrophins to their specific neurotrophin receptors. Moreover, Th2 cells might induce axonal outgrowth via neurotrophin receptor upregulation.

The secreted T cell factors responsible for the observed effects have not yet been identified. Within this study neither the Th1 cytokine IFN- γ nor the Th2 cytokine IL-4 showed the expected influence on axonal outgrowth and neurotrophin receptor expression.

Nevertheless, these results demonstrate the important role of Th2 cells and their soluble factors in neuroprotection and neuroregeneration after mechanical CNS lesion. It is therefore important that the identification and functional characterization of these factors be the subject of future investigations.