
1. EINLEITUNG

1.1. Proteoglykane

Proteoglykane sind eine heterogene Gruppe von Makromolekülen, deren so genanntes Kernprotein durch lange, unverzweigte Glykosaminoglykane (GAG) unterschiedlichen Umfangs kovalent modifiziert ist (Ruoslathi, 1988). Sämtliche GAG besitzen als Wiederholungseinheit ein Disaccharid, das im Allgemeinen aus einer Uronsäure und einem sulfatierten Aminosucker (Glykosamin) zusammengesetzt ist. Aufgrund der vielen freien Carboxylat- und Sulfatgruppen sind sowohl die GAG als auch die durch sie modifizierten Proteoglykane stark negativ geladen und deshalb meist relativ leicht über eine Anionenaustauscher-Chromatographie zu isolieren (Prydz und Dahlen, 2000).

Anhand der Komposition ihres Disaccharids unterscheidet man zwischen Heparin und Heparansulfat- (HS), Chondroitinsulfat- (CS) / Dermatansulfat- (DS), sowie Keratansulfat- (KS) Proteoglykanen (Ruoslathi, 1988). Mit Ausnahme vom Keratansulfat wird die GAG-Biosynthese im Golgi-Apparat mit der O-glykosidischen Modifikation von Serinen durch die sequentielle Addition der vier Monosaccharide Xylose (Xyl), zweimal Galactose (Gal) und Glucuronsäure (Glc A) initiiert. Das Tetrasaccharid wird anschließend durch die alternierende Übertragung von Glc A und einem Aminosucker (N-Acetylglucosamin (GlcNac) beim Heparin und HS, sowie N-Acetylgalactosamin (GalNac) beim CS und DS) erweitert. Noch bevor die GAG ihre finale Größe erreicht haben, werden die Aminosucker durch Sulfatgruppen modifiziert und ein Teil der Glucuronsäuren in Iduronsäure (in HS und Heparin sowie DS) epimerisiert (Prydz und Dahlen, 2000; Sugahara und Kitagawa, 2000).

Aufgrund ähnlicher Genstrukturen lassen sich die meisten der mehr als 30 derzeit bekannten Proteoglykane verschiedenen Subfamilien, wie z. B. den Hyalektinen, den kleinen Leucinreichen Proteoglykanen oder Heparansulfat-Proteoglykanen, zuordnen (Iozzo, 1998). Bei der überwiegenden Anzahl von Proteoglykanen handelt es sich um extrazelluläre Matrixproteine, wie z. B. die Vertreter der Hyalektine Aggrecan und Versican, oder auch das zur Familie der kleinen Leucinreichen Proteoglykane zählende Decorin. Allerdings kennt man mittlerweile auch eine Reihe von membran-assoziierten Proteoglykanen wie die zu den Heparansulfat-Proteoglykanen zählenden Syndecane oder auch Glypicane (Bosman und Stamenkovic, 2003).

Proteoglykane sind maßgeblich an der Regulation der Zellmigration und Adhäsion sowie Proliferation und Differenzierung beteiligt (Iozzo, 1998; Ruoslathi, 1998). Neuere

Untersuchungen weisen - zumindest einzelnen Proteoglykanen - darüber hinaus auch eine Beteiligung an der Protektion von Neuronen sowie der Regulation der Genexpression zu (Brückner et al., 1999; Murakami und Ohthosuka, 2003; Kolset et al., 2004).

1.2. Versican

Der Name Versican ist eine Wortschöpfung und resultiert aus einer Kombination der beiden Worte **versatile** (engl. Wort für vielseitig) und **Proteoglycan** (Zimmermann und Ruoslathi, 1989). Versican gehört zusammen mit Aggrecan, Brevican und Neurocan zur Familie der so genannten Hyalektine, CS-/DS- Proteoglykane, die über ihren N-Terminus an das Glykosaminoglykan Hyaluronan gebunden sind und über eine Ca^{2+} -abhängige Lektindomäne an ihrem C-Terminus verfügen (Wight, 2002).

Derzeit sind vier verschiedene Splicevarianten vom Versican bekannt (Zimmermann und Ruoslathi, 1989; Dours-Zimmermann und Zimmermann, 1994; Ito et al., 1995; Zako et al., 1995). Alle vier Varianten unterscheiden sich hinsichtlich der Größe ihres Kernproteins sowie der Anzahl an gebundenen Glykosaminoglykanen. Sowohl die Größe des Kernproteins als auch die Anzahl gebundener Glykosaminoglykane wird von der Art und Menge so genannter Glykosaminoglykan-Anheftungsdomänen (GAG-Domäne/n) im Versican bestimmt. V_0 , deren Kernprotein ein kalkuliertes Molekulargewicht (Mw) von 374 kDa (Mensch) besitzt, ist die größte Versican- Splicevariante. Sie verfügt über zwei GAG-Domänen, die GAG α - und die GAG β -Domäne. V_1 besitzt ein Mw von 264 kDa und nur die GAG β -Domäne, V_2 ein Mw von 176 kDa und nur die GAG α -Domäne und V_3 besitzt ein Mw von 71.5 kDa und keine einzige GAG-Domäne. Der Umfang dieser Domänen variiert zwischen 961 (Maus) und 988 (Mensch) Aminosäuren für die GAG α -Domäne und 1744 (Maus) und 1754 (Mensch) Aminosäuren für die GAG β -Domäne. Da die GAG α -Domäne über 5 bis 8 potentielle GAG-Anheftungsstellen, die GAG β -Domäne sogar zwischen 12 und 15 potentiellen GAG-Anheftungsstellen verfügt, können insgesamt zwischen 17 und 23 Glykosaminoglykane an V_0 gebunden sein.

Zu den am besten verstandenen Funktionen von Versicanen zählen:

- a) Eine Beteiligung an der Regulation der Zellmigration und Musterbildung im sich entwickelnden Nervensystem (Landolt et al., 1995). Während der Entwicklung des

Nervensystems migrieren Neuroblasten aus der Neuralleiste, ihrem Entstehungsort, über genau definierte Bahnen in ihre Zielgebiete, wo sie dann zu verschiedenen Neuronen differenzieren, reifen und synaptische Kontakte ausbilden. Die Bahnen, die die Neuroblasten entlangwandern, sind von einem so genannten Barrierengewebe umgeben. Zwei der Hauptbestandteile des für Neuroblasten, sowie Axone oder Dendriten nicht-permeablen Gewebes sind V_0 und V_1 . Interessanterweise besteht die Funktion der beiden Varianten jedoch nicht ausschließlich darin, die migrierenden Neuroblasten am Verlassen der Bahnen zu hindern; über die transiente Ausbildung von Zell-ECM Kontakten sind sie vielmehr in der Lage, die Wanderung der Neuroblasten auch aktiv zu dirigieren (Perissinotto et al., 1995).

- b) Der Schutz von Neuronen vor oxidativem Stress. Versican V_2 ist einer der Hauptbestandteile von perineuronalen Netzen, einer speziellen Form von extrazellulärer Matrix, der aufgrund des hohen Anteils von GAG und ihrer nachgewiesenen Fähigkeit redoxaktive Metallionen zu binden eine Beteiligung an der Protektion von Neuronen vor oxidativem Stress zugeschrieben wird (Schmalfeld et al., 1998; Celio et al., 1998; Yamaguchi, 2000; Reinert et al., 2003).
- c) Inhibition der axonalen Regeneration (Schmalfeld et al., 2000). Rückenmarksverletzungen sind im Allgemeinen von einem massiven Absterben von Neuronen und Gliazellen in den verletzten und angrenzenden Gebieten begleitet (Tator, 1995 und 1998). Schon wenige Wochen nach der ursächlichen Verletzung hat sich um das Zentrum der Verletzung eine flüssigkeitsgefüllte Pseudozyste ausgebildet, die von einer so genannten Glianarbe umgeben ist. Die Glianarbe besteht im wesentlichen aus einem dichten Netz reaktiver Astrozyten, die unablässig CSPG exprimieren und sekretieren, enthält aber auch Mikroglia und Fibroblasten (Fawcett und Asher, 1999). Experimente *in vitro* als auch *in vivo* zeigen, dass die Glianarbe von aussprossenden, regenerierenden Axonen nicht durchdrungen werden kann, solange die das Neuritenwachstum inhibierenden CS anwesend sind (Bradbury et al., 2002; Jones et al., 2003).

1.3. Lektine

Lektine sind Kohlenhydrat-bindende Proteine nicht-immunogenen Ursprungs (Sharon und Lis, 1972). Der Name Lektin leitet sich vom lateinischen Wort für auswählen *legere* ab und berücksichtigt die Blutgruppenspezifität einzelner pflanzlicher Agglutinine (Boyd und

Shapleigh, 1954). Ältere Bezeichnungen für Lektine, wie Phytoagglutinine oder Hämagglutinine, basieren zum einen darauf, dass die beiden ersten identifizierten Lektine, das Rizin des Wunderbaumes (*Ricinus communis*; Franz, 1988) sowie das Concanavalin A der Schwertbohne (Jackbean; Summer und Howell, 1936), pflanzlichen Ursprungs sind und zum anderen die Fähigkeit besitzen Erythrozyten zu agglutinieren. Beide Bezeichnungen sind mittlerweile jedoch obsolet.

Lektine fungieren in der Natur vor allem als Erkennungsmoleküle (Aswell und Morell, 1972; Lis und Sharon 1998). So verwenden z. B. Influenza Viren ihr Hämagglutinin zur Erkennung Sialinsäure-haltiger Glykoproteine auf der Oberfläche von Lungenepithelien (Burnet, 1956), Makrophagen den hepatischen Fucose-Rezeptor zur Identifizierung apoptotischer Zellen (Al-Arifi, 2003) und den Mannoserezeptor für die Lokalisierung infektiöser Mikroorganismen (Lektinphagozytose; Ofek und Sharon, 1988). Endothelzellen vermitteln über - durch inflammatorische Mediatoren induzierte - Selektine das Andocken von Leukozyten (Vestweber und Blanks, 1999).

Isolierte und gereinigte Lektine sind äußerst nützliche biochemische Werkzeuge. Aufgrund ihrer Spezifität für ausgewählte Kohlenhydrate eignen sie sich u. a. zur affinitätschromatographischen Reinigung von Glykokonjugaten (Shibata et al., 1982) sowie zur Analyse ihres Glykosylierungsmusters (Kimura et al., 2000), der Identifizierung und Isolierung von Zellen (Hoven et al., 1989) und der immuncyto- und histochemischen Analyse (Liener et al., 1986).

1.3.1. Das Isolektin B₄ und die IB₄-Reaktivität

IB₄ ist ein Synonym für Isolektin B₄, einem homotetrameren kohlenhydrat-bindenden Protein aus dem Samen der *Griffonia simplicifolia*, einer im nordwest-afrikanischen Regenwald beheimateten Pflanze (Hayes und Goldstein, 1974). Das zur Familie der leguminen Lektine zählende IB₄ bindet mit hoher Spezifität und Ca²⁺-abhängig an freie terminale α -D-Galaktopyranose-Reste (α Galp) einfacher Kohlenhydrate und komplexer Oligosaccharide glykosylierter Proteine und Lipide (Goldstein und Winter, 1999).

Wie andere Lektine auch, wird das IB₄ hauptsächlich zur immuncyto- und histochemischen Analyse sowie der Analyse des Glykosylierungsmusters einzelner Moleküle verwendet. Zu den IB₄-bindenden oder -reaktiven Strukturen zählen unter anderem Tumorzellen aus dem Englebreth Holm-Swarm Sarkom (Orkin et al., 1977) und des Ehrlich Aszites Karzinoms (Eckhardt und Goldstein, 1983 a und b). Des weiteren stimulierte Makrophagen (Maddox et

al., 1982), das Blutgruppe B determinierende Antigen (Watanabe et al., 1979), eine Subpopulation nozizeptiver Afferenzen (Streit et al., 1985), Protozoen der Gattungen *Leishmania* (Rosen et al., 1989) und *Trypanosoma* (Couto et al., 1990), das Fabry-Glykolipid (Faraggiana et al., 1989), sowie die Glykoproteine Laminin (Rao et al., 1983), Thyroglobulin, Fibrinogen und Antikörper des Immunglobulin G-Typs (Thall und Galili, 1990).

Das klassische IB₄-Epitop von Säugetieren ist das Gal α 1 \rightarrow 3 Gal-R (Gal = Galaktose), kurz α -Gal-Epitop (Wood et al., 1979). Man findet es als terminalen Bestandteil komplexer Oligosaccharide N-glykosidisch modifizierter Proteine. Beispiele hierfür sind die β 1- und β 2-Ketten des Laminin 1 (Arumugham et al., 1986) oder verschiedene Glykosphingolipide wie das Isoglobotriaosylceramid (Keusch et al., 2000). In etwas modifizierter Form, nämlich als Gal α 1-3 [Fuc α 1-2] Gal β -R (Fuc = Fucose), existiert das IB₄-Epitop als Blutgruppe B Antigen oder als Terminus eines IB₄-bindenden Gangliosids in der Plasmamembran einer Subpopulation nozizeptiver Afferenzen (Chou et al., 1989).

Die bekannteste Variante des IB₄-Epitops ist das Xenoantigen Gal α 1 \rightarrow 3 Gal β 1 \rightarrow 4 GlcNAc-R (GlcNAc = N-Acetylglukosamin) glykosylierter Lipide und Proteine (Galili et al., 1985; Thall und Galili, 1990). Man findet es in allen Säugern sowie den zur Klasse der höheren Primaten zählenden Neuweltaffen; allerdings nicht beim Menschen, den Menschenaffen und Altweltaffen (Galili et al., 1987 und 1988).

Die Synthese des Xenoantigens, also die Übertragung des terminalen Galaktoserestes vom Donor UDP-Galaktose auf den Akzeptor Gal β 1 \rightarrow 4 GlcNAc-R glykosylierter Proteine und Lipide wird durch die α -1,3-Galaktosyltransferase (α 1,3 GT) katalysiert (Blanken und Van der Eijnden, 1985). Das Gen dieser Glykosyltransferase existiert bei höheren Primaten mit Ausnahme der Neuweltaffen - aufgrund der Deletion zweier Nucleotide - nur noch als Pseudogen (Larsen et al., 1990). Als direkte Konsequenz dieser evolutionären Trennung haben alle höheren Primaten, in denen die Biosynthese der α 1,3 GT supprimiert wird, so genannte anti-Gal-Antikörper des Immunglobulin G-Typs entwickelt (Galili et al., 1984). Die natürlichen anti-Gal Antikörper sind auch der Grund für die, durch die diskordante Transplantation ausgelöste, hyperakute Rejektion, bei der über die Aktivierung des Komplement-Systems die Zerstörung des Xenotransplantates ausgelöst wird (Collins et al., 1995).

1.4. Nozizeptoren

Potentiell schmerzhafte, noxische Reize werden von zellulären Ausläufern spezialisierter sensorischer Afferenzen, den so genannten Nozizeptoren, detektiert (Julius und Basbaum, 2001). Mit Ausnahme des Gehirns und der Knochen sind alle Gewebe und Organe im Körper eines Säugetiers, inklusive der Haut, sämtlicher Muskeln, Gelenke und Eingeweide, durch die zellulären Ausläufer von Nozizeptoren innerviert (Willis und Westlund, 1997).

Die Zellkörper von Nozizeptoren, deren Ausläufer die Gesichtshaut, die Schleimhäute von Mund- und Nasenhöhle, die Zahnpulpa und Kiefergelenke innervieren, sind im Trigeminskern organisiert. Die Zellkörper aller anderen nozizeptiven Afferenzen befinden sich in den Spinalganglien (Handwerker, 2001).

Sämtliche Nozizeptoren besitzen eine pseudounipolare Morphologie, d. h. sie besitzen ein Axon, das sich in zwei Ausläufer teilt. Einer der beiden zellulären Ausläufer dient der Reizaufnahme in peripherem Gewebe, der andere der Reizübertragung in zentralnervöse Strukturen des Rückenmarks (Nauta und Freitag, 1990).

Nozizeptoren werden ausschließlich durch A δ - oder C- Faserneurone repräsentiert; sensorische Afferenzen kleinen bis mittleren Kalibers sowie Zellkörpern zwischen 10 und 40 μ m Durchmesser und mit nicht oder nur leicht myelinisierten Axonen (Abb.1.1):

Aβ -Fasern :	<ul style="list-style-type: none"> - Zellkörper mit 40 bis 50 μm Durchmesser - Myelinisierte Axone mit bis zu 15 μm Durchmesser - Leitungsgeschwindigkeiten von bis zu 70 m/s - Mechanosensitiv
--------------------------------------	---

Aδ -Fasern :	<ul style="list-style-type: none"> - Zellkörper mit 25 bis 40 μm Durchmesser - Leicht myelinisierte Axone mit 3 μm Durchmesser - Leitungsgeschwindigkeiten bis 30 m/s - u. a. nozizeptiv
---------------------------------------	--

C -Fasern :	<ul style="list-style-type: none"> - Zellkörper mit 10 bis 25 μm Durchmesser - Nicht myelinisierte Axone mit 1 μm Durchmesser - Leitungsgeschwindigkeiten bis 2 m/s - u. a. nozizeptiv
--------------------	--

Abb. 1.1: Klassifizierung ausgewählter primärer, sensorischer Afferenzen aufgrund anatomischer und funktioneller Kriterien. Die Geschwindigkeit, mit der Nervenimpulse propagieren, wird vom Axondurchmesser sowie dem Grad der Isolierung bestimmt (Dudel, 2001).

Aufgrund ihrer Ansprechbarkeit für unterschiedliche Reizmodalitäten lassen sich derzeit drei verschiedene Klassen nozizeptiver Afferenzen unterscheiden: Die mechanosensitiven A δ -

Fasern, die thermosensitiven $A\delta$ -Fasern und die polymodalen C-Fasern (Gardner et al., 2000). Eine gesonderte Klasse von Nozizeptoren bilden die so genannten "stillen" Nozizeptoren, polymodale C-Fasern, die erst unter pathophysiologischen Bedingungen stimuliert werden können (Kress und Reeh, 1996).

Schmerzhafte, noxische Reize werden im Allgemeinen simultan von nozizeptiven $A\delta$ -Afferenzen und polymodalen C-Fasern detektiert (Basbaum und Jessell, 2000). Da die beiden Klassen sensorischer Afferenzen unterschiedliche Leitungsgeschwindigkeiten besitzen, werden die von ihnen übertragenen, schmerzauslösenden Nervenimpulse zu unterschiedlichen Zeitpunkten wahrgenommen (Gardner et al., 2000). Der intensive "erste Schmerz" ist auf die Aktivitäten der unimodalen, schnell leitenden $A\delta$ -Afferenzen zurückzuführen (Abb.2). Er wird subjektiv häufig als "spitz" charakterisiert und lässt sich im Allgemeinen präzise lokalisieren. Der extensive "zweite Schmerz" ist hingegen auf die Aktivitäten der polymodalen, langsam leitenden C-Fasern zurückzuführen. Er wird subjektiv häufig als "brennend" charakterisiert und ist nur ungenau zu lokalisieren (Basbaum und Jessell, 2000).

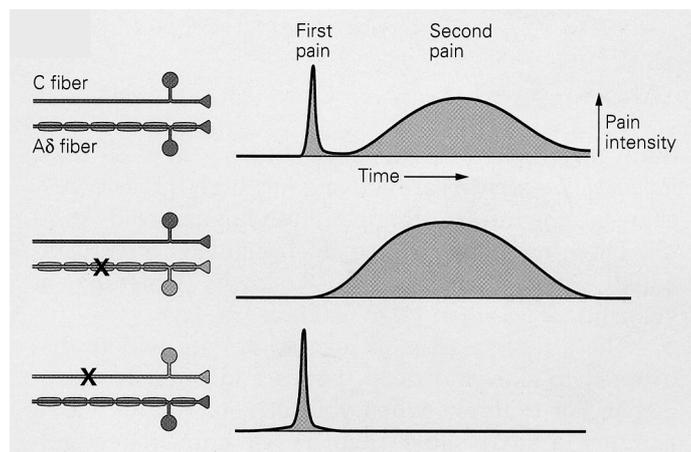


Abb. 1.2: Erster und zweiter Schmerz werden durch unterschiedliche Arten nozizeptiver Afferenzen übertragen (aus: Basbaum und Jessell, 2000). Die Wahrnehmung des ersten Schmerzes lässt sich durch eine selektive Blockade nozizeptiver $A\delta$ -Fasern unterdrücken, die des zweiten Schmerzes durch eine selektive Blockade polymodaler C-Fasern.

Warum wird nahezu jeder noxische Reiz simultan über zwei verschiedene Arten nozizeptiver Afferenzen detektiert? Offensichtlich besitzen nozizeptive $A\delta$ - und C-Fasern unterschiedliche biologische Funktionen bei der Verarbeitung von noxischen Reizen. Möglicherweise besteht die primäre Aufgabe der nozizeptiven $A\delta$ -Afferenzen darin, von einer Verletzung betroffene und geschädigte Bereiche möglichst schnell aus der Gefahrenregion zu entfernen (Handwerker, 2001). Dazu passt z. B. auch die Tatsache, dass motorische Reflexbögen im

Rückenmark ausschließlich von den schnell leitenden A δ -Afferenzen angesteuert werden (Pearson und Gordon, 2000).

Die biologische Funktion der polymodalen C-Fasern besteht hingegen vermutlich eher darin, den Schmerz zu "konservieren", um dem Körper die Zeit und Aufmerksamkeit zur Verfügung zu stellen, die er für die umfassende Regeneration der geschädigten Bereiche benötigt. Dafür spricht vor allem der Umstand, dass die nozizeptiven C-Fasern - im Unterschied zu den unimodalen, nozizeptiven A δ -Fasern - auch durch Entzündungsmediatoren stimuliert werden können, d. h. von chemischen Verbindungen, die von traumatisierten Zellen freigesetzt werden und auch an der Rekrutierung von stillen Nozizeptoren beteiligt sind (Schaible und Richter, 2004).

1.4.1. Peptiderge und nicht-peptiderge Nozizeptoren

Polymodale, nozizeptive Afferenzen lassen sich neurochemisch in zwei Subpopulationen unterteilen: die peptidergen und die nicht-peptidergen C-Fasern (Silverman und Krüger, 1990). Beide Subpopulationen verwenden Glutamat als excitatorischen Neurotransmitter für die Signalübertragung an chemischen Synapsen im Rückenmark, aber nur die peptidergen C-Fasern exprimieren zusätzlich noch die beiden Neuropeptide Substanz P und CGRP (calcitonin gene related peptide), deren Ausschüttung, als Reaktion auf starke noxische Reize oder Verletzungen, die Aktivität von Neuronen im Dorsalhorn moduliert (zentrale Sensitivierung).

Beide Subpopulationen von Nozizeptoren sind mit Beginn ihrer Differenzierung im sich entwickelnden, pränatalen Nervensystem auf eine ausreichende Versorgung mit dem Nervenwachstumsfaktor (NGF) angewiesen. Allerdings verändert sich das Expressionsmuster der nicht-peptidergen C-Fasern noch in der frühen postnatalen Phase und statt des NGF benötigen sie dann GDNF um zu überleben und ihren Phänotyp aufrecht zu erhalten (Molliver, 1997; Bennett, 1998). Die Änderung des Expressionsmusters ist mit der Präsentation eines IB₄-bindenden Glykokonjugates an der Zelloberfläche der nicht-peptidergen C-Fasern korreliert und lässt sich deshalb über eine immunhistochemische Markierung mit dem IB₄ verfolgen.

Neben der Abhängigkeit von verschiedenen Neurotrophinen und ihrem unterschiedlichen Expressionsprofil unterscheiden sich die beiden Subpopulationen auch hinsichtlich des Terminationsgebietes ihrer zentralen Ausläufer und in ihren elektrophysiologischen Eigenschaften. Man vermutet deshalb, dass beide Subpopulationen unterschiedliche Aspekte

nozizeptiver Informationen in das zentrale Nervensystem übertragen (Snider und McMahon, 1998; Stucky und Lewin, 1999).

1.5. IB₄-Reaktivität und neuropathischer Schmerz

Die Ausbildung einer Neuropathie ist im Allgemeinen das Resultat einer Erkrankung oder Verletzung des peripheren und / oder zentralen Nervensystems (Scholz und Woolf, 2002). Betroffene Personen leiden häufig unter spontanen, d. h. ohne ersichtliche äußere Ursache auftretenden, Schmerzen, einem gesteigerten Schmerzempfinden (Hyperalgesie) sowie der schmerzhaften Wahrnehmung ursprünglich unschädlicher Reize (Allodynie). Die zugrunde liegenden plastischen Veränderungen in der Ansprechbarkeit von Nozizeptoren und Dorsalhorn-Neuronen lassen sich zwar im Allgemeinen durch Veränderungen in der Aktivität von Ionenkanälen, einem veränderten Proteinexpressionsmuster, sowie dem Aussprossen von Neuronen im DRG erklären, die genauen molekularen Mechanismen sind allerdings häufig unbekannt (Waxman et al., 1999; Woolf und Salter, 2000; Julius und Basbaum, 2001; Lewin et al., 2004).

Um die der Ausbildung einer Neuropathie zugrunde liegenden plastischen Veränderungen und insbesondere deren molekulare Mechanismen zu verstehen, wurden verschiedene experimentelle Schmerzmodelle entwickelt. Zu den bekanntesten Modellen gehören die von Bennett und Xie sowie Kim und Chung etablierten Neuropathie-Modelle (Bennett und Xie, 1988; Kim und Chung, 1992). In beiden Modellen wird Versuchstieren (Ratten oder Mäusen) operativ der Ischiasnerv ligiert. Die dadurch hervorgerufene, periphere Neuropathie äußert sich durch eine Hypersensitivierung der durch den Ischiasnerv innervierten Regionen (Hinterbein, Hinterpfote). Die betroffenen Tiere entwickeln eine Hyperalgesie und Allodynie, sind also gegenüber Schmerzreizen sensibilisiert und reagieren auch auf Reize, die sie unter normalen Umständen als nicht schmerzhaft empfinden, mit aversivem Verhalten.

Die Ausbildung der Neuropathie ist mit einer Abnahme der IB₄-Reaktivität in den zur ipsilateralen Seite gelegenen DRGs sowie den dorsalen Hälften des Rückenmarks assoziiert (Munzlani et al., 1995; Wang et al., 2003). Die zugrunde liegende molekulare Ursache ist unbekannt. Der Verlust der IB₄-Reaktivität könnte zwar auf ein Absterben (Wallerische Degeneration, Apoptose) der nicht-peptidergen C-Fasern oder eine veränderte Genexpression zurückzuführen sein, wäre allerdings genauso gut durch eine posttranslationale Modifikation

(Deglykosylierung) oder aber einen selektiven Abbau des IB₄-bindenden Glykokonjugates erklärbar.

Sowohl die induzierte Hypersensitivierung als auch die Abnahme der IB₄-Reaktivität lassen sich durch die intrathekale Applikation von GDNF unterbinden (Boucher et al., 2000; Ramer et al., 2000; Wang et al., 2003). Auch hier ist die Ursache unbekannt. Sie könnte auf eine Regeneration der nicht-peptidergen C-Fasern durch das verstärkte Aussprossen von Neuriten, eine Zunahme im Expressionslevel oder eine selektive Glykosylierung des IB₄-bindenden Glykokonjugates zurückzuführen sein.

1.6. Aufgabenstellung

Eine Subpopulation nozizeptiver Afferenzen, die so genannten nicht-peptidergen C-Fasern, präsentieren ein Glykokonjugat an ihrer Plasmamembran, das durch die Bindung des homotetrameren Isolektins B₄ - aus dem Samen der afrikanischen Bohne *Griffonia simplicifolia* - spezifisch markiert werden kann. Aufgrund von immunohistochemischen Analysen weiß man, dass das IB₄-bindende Glykokonjugat während seiner Reifung den Golgi-Komplex durchläuft (Streit et al., 1986). Man kann deshalb wohl davon ausgehen, dass das IB₄-bindende Glykokonjugat auch von den nicht-peptidergen C-Fasern exprimiert wird. Die molekulare Identität des IB₄-bindenden Glykokonjugates ist unbekannt. Publikationen verschiedener Arbeitsgruppen lassen vermuten, dass es sich bei dem IB₄-bindenden Glykokonjugat um ein oder mehrere Glykoprotein/e handelt (Streit et al., 1985; Plendereith und Snow, 1993; Fullmer et al., 2002). Dass eines der bisher bekannten IB₄-bindenden Glykoproteine, wie das Laminin 1, das Thyroglobulin und das Fibrinogen, für die IB₄-Reaktivität der nicht-peptidergen C-Fasern verantwortlich ist, erscheint unwahrscheinlich, da von keinem der drei Proteine bekannt ist, dass es neuronal exprimiert wird.

Die im Zusammenhang mit verschiedenen experimentellen Schmerzmodellen beschriebenen Änderungen der IB₄-Reaktivität lassen vermuten, dass die Identifizierung des Glykokonjugates bzw. der Glykokonjugate eine Schlüsselrolle für das Verständnis der einer peripheren Neuropathie zugrunde liegenden plastischen Veränderungen auf molekularer Ebene einnehmen könnte. Deshalb besteht das Ziel der vorliegenden Arbeit darin, die molekulare Identität des oder auch der IB₄-bindenden Glykokonjugate aufzuklären.