

**FUNKTION DER POLY(ADP-RIBOSE)-POLYMERASE-1
BEI DER INFLAMMATORISCHEN SCHÄDIGUNG VON
NEURONEN DURCH AKTIVIERTE
MIKROGLIAZELLEN**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Biologie

AM FACHBEREICH

**BIOLOGIE, CHEMIE, PHARMAZIE
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN**

vorgelegt von

DIPL. BIOL. ANTJE DIESTEL

geboren am 31. Mai 1968 in Braunschweig

Berlin 2003

Datum der Disputation: 19. November 2003

1. Gutachter: Prof. Dr. Robert Nitsch

2. Gutachter: Prof. Dr. Hans Joachim Pflüger

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Inflammatorische Schädigungen des Hirngewebes	1
1.2	Mikroglia - immunkompetente Zellen des Gehirns	3
1.2.1	Allgemeine Einführung	3
1.2.2	Herkunft und Verteilung im Gehirn	3
1.2.3	Physiologische Funktionen der Mikroglia	4
1.2.4	Prozeß der Mikrogliaaktivierung	7
1.2.4.1	Aktivierende Faktoren aus der Mikroumgebung	8
1.2.4.2	Rolle der Kolonie-Stimulierenden-Faktoren (CSFs) bei der Proliferation	8
1.2.4.3	Zytokine und Zytokinrezeptoren	11
1.2.4.4	Chemokine und Chemokinrezeptoren	12
1.2.4.5	Mikrogliale Expression von Adhäsionsmolekülen	12
1.2.4.6	Mikrogliale Beteiligung an der Zytotoxizität	14
1.2.4.7	Rolle der Mikroglia bei der unspezifischen und spezifischen Immunität	16
1.2.4.8	Protektive Faktoren	16
1.2.4.9	Mikrogliale Signaltransduktion: Funktion des Transkriptionsfaktors NF- κ B bei der Neuroinflammation	17
1.2.5	Analogie zu neutrophilen Granulozyten und peripheren Makrophagen	19
1.2.6	Beteiligung der Mikroglia an neurologischen Erkrankungen	20
1.2.6.1	Rolle der Mikroglia bei der chronischen Neurodegeneration	22
1.2.6.2	Einfluß der Mikroglia auf akute neuropathologische Prozesse	23
1.3	Der Hippokampus	24
1.3.1	Funktion der entorhinal-hippokampalen Formation	24
1.3.2	Afferente und efferente Verbindungswege im Hippokampus	24
1.3.3	Zytoarchitektur des Gyrus dentatus und des Cornu ammonis	25
1.3.4	Exzitotoxische Schädigung des Hippokampus mit N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)	27
1.4	Die Poly(ADP-ribose)-Polymerase-1 (PARP-1)	28
1.4.1	Allgemeine Grundlagen der Poly(ADP-ribosyl)ierung	28
1.4.2	Proteinstruktur der PARP-1	30
1.4.3	Die „PARP-Familie“	31
1.4.4	Enzymatischer Abbau der Poly(ADP-Ribose)	31
1.4.5	Funktionen der Poly(ADP-ribosyl)ierung	32
1.4.6	Funktionelle Bedeutung der PARP-1 bei Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS)	33
1.5	Zielsetzung	35
2	MATERIAL	36
2.1	Chemikalien	36
2.2	Proteine, Enzyme und Primer	37
2.3	Zellkultur	38
2.4	Organotypische hippokampale Schnittkulturen	39
2.5	Sonstige Stoffe und Materialien	39
2.6	Geräte	40

3	METHODEN	41
3.1	Zellkultur	41
3.1.1	Kultivierung von BV-2 Mikrogliazellen	41
3.1.2	Präparation und Kultivierung primärer Mikrogliazellen	41
3.2	Klonierung eines antisense PARP-1- und eines antisense CD11a-Vektors	43
3.2.1	RNA-Isolierung aus BV-2 Zellen	44
3.2.2	RNA-Gelelektrophorese	45
3.2.3	cDNA-Synthese	45
3.2.4	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	46
3.2.4.1	PCR mit zwei genspezifischen Primern für die DNA-Amplifikation	46
3.2.4.2	Arbeitsprotokolle für die PCR	47
3.2.5	DNA-Gelelektrophorese	48
3.2.6	Präparative Gele und Gelelution der Konstrukte	49
3.2.7	Ligation der Konstrukte in den pCR 2.1-TOPO Klonierungsvektor	49
3.2.8	Transformation des Ligationsansatzes in <i>E. coli</i>	50
3.2.9	Colony Screening	51
3.2.10	DNA-Minipräparation	51
3.2.11	Restriktionsverdau	52
3.2.12	DNA-Maxipräparation	53
3.2.13	Restriktionsverdau, präparative Gele und Gelelution der Konstrukte	53
3.2.14	Ligation der Konstrukte in antisense-Orientierung in den pcDNA 3.1(+) Vektor und Transformation des Ligationsansatzes in <i>E. coli</i>	54
3.2.15	Colony Screening und DNA-Präparationen	55
3.2.16	Teilsequenzierung der Vektoren	56
3.3	Transfektion von BV-2 Zellen und primärer Mikroglia	56
3.3.1	Transfektion von BV-2 Zellen mit Roti-Fect	56
3.3.2	Transfektion primärer Mikroglia mit Polyamidoamin (PAMAM) Dendrimeren	57
3.3.3	Selektion mit Zeocin	60
3.3.4	Tests auf Funktionalität der antisense-Konstrukte	60
3.3.4.1	Nachweis der PARP-1-Expression mit dem Immuno-Blotting-Verfahren	60
3.3.4.2	Messung der PARP-1-Aktivität transfizierter Mikrogliazellen	63
3.3.4.3	Detektion der CD11a-Expression transfizierter BV-2 Zellen mit der Fluoreszenzdurchflußzytometrie (FACS-Analyse)	63
3.4	Superkultivierung vormarkierter Mikrogliazellen auf organotypischen hippokampalen Schnittkulturen (OHSK)	65
3.4.1	Präparation und Kultivierung organotypischer hippokampaler Schnittkulturen	65
3.4.2	Vormarkierung der Mikrogliazellen	66
3.4.3	Induktion der exzitotoxischen Schädigung mit NMDA und Transfer vormarkierter Mikrogliazellen auf die Schnittkulturen	67
3.4.4	Fixierung und Kryostatschnitte	67
3.4.5	Untersuchungen zum neuronalen Zelltod	68
3.4.5.1	Färbung der Schnittkulturen mit Propidiumjodid	68
3.4.5.2	Analyse und statistische Auswertung der Neurodegeneration	68
3.4.6	Untersuchungen zur Migration von BV-2 Zellen	69
3.4.6.1	Färbung der Kryostatschnitte mit <i>Griffonia simplicifolia</i> isolectin B4	70
3.4.6.2	Analyse und statistische Auswertung der regionspezifischen Migration	70
3.4.7	Untersuchungen zur Migration primärer Mikrogliazellen und deren Induktion des neuronalen Zelltodes	71

3.5	Versuche am Zellkulturmodell	72
3.5.1	Zellzahlbestimmung und Vitalitätstests an BV-2 Zellen	72
3.5.2	Messung von Adhäsionsmolekülen mit der FACS-Analyse	72
3.5.3	Kernisolationen aus BV-2 Zellen	73
3.5.4	Northern Blot Analyse	74
3.5.5	Ko-Immunpräzipitationsexperimente	75
3.5.6	Bestimmung der gesamtzellulären Proteinexpression in transfizierten BV-2 Zellen mit dem Immuno-Blotting-Verfahren	76
3.6	Statistische Verfahren	76
4	ERGEBNISSE	78
4.1	Klonierung eines antisense PARP-1-Vektors	78
4.1.1	RNA-Isolierung aus BV-2 Zellen	78
4.1.2	Polymerase-Ketten-Reaktion	79
4.1.2.1	β-Actin-PCR	79
4.1.2.2	PARP-1-PCR	79
4.1.3	Ligation des PARP-1-Konstruktes in den pCR 2.1-TOPO Klonierungsvektor	80
4.1.4	Ligation des PARP-1-Konstruktes in antisense-Orientierung in den pcDNA3.1(+) Vektor	81
4.1.5	Teilsequenzierung des antisense PARP-1-Vektors	82
4.2	Transfektion von BV-2 Zellen mit dem antisense PARP-1-Vektor	84
4.2.1	Selektion mit Zeocin	84
4.2.2	Test auf Funktionalität des antisense PARP-1-Konstruktes	85
4.3	Superkultivierung vormarkierter antisense PARP-1 BV-2 Mikrogliazellen auf organotypischen hippokampalen Schnittkulturen	86
4.3.1	Untersuchungen zum neuronalen Zelltod	87
4.3.2	Vitalitätsbestimmung transfizierter BV-2 Mikrogliazellen in der Schnittkultur	90
4.3.3	Analyse der regionspezifischen Migration	93
4.4	Messung der Expression von Adhäsionsmolekülen auf antisense PARP-1-transfizierten BV-2 Zellen	96
4.5	Klonierung eines antisense CD11a-Vektors	98
4.5.1	RNA-Isolierung und PCR	98
4.5.2	Ligation des CD11a-Konstruktes in den pCR 2.1-TOPO Klonierungsvektor	98
4.5.3	Ligation des CD11a-Konstruktes in antisense-Orientierung in den pcDNA3.1(+) Vektor	99
4.5.4	Teilsequenzierung des antisense CD11a-Vektors	100
4.6	Transfektion von BV-2 Zellen mit dem antisense CD11a-Vektor	101
4.6.1	Selektion mit Zeocin	101
4.6.2	Nachweis der CD11a-Expression	102
4.7	Superkultivierung vormarkierter antisense CD11a BV-2 Mikrogliazellen auf organotypischen hippokampalen Schnittkulturen und Analyse der regionspezifischen Migration	103
4.8	Untersuchungen zur PARP-1-regulierten mikroglialen CD11a-Expression	106
4.8.1	Messung der CD11a-Expression in Abhängigkeit von der PARP-1-Aktivität und der NF-κB-Translokation	106

4.8.2	Bestimmung der PARP-1-Expression und der Translokation von NF- κ B nach Inhibition der PARP-1-Aktivität mit 3-ABA und der NF- κ B-Phosphorylierung mit BAY	107
4.8.3	Northern Blot Analyse der CD11a-mRNA-Expression	108
4.8.4	Ko-Immünpräzipitationsexperimente mit Kontrollvektor-transfizierten BV-2 Mikrogliazellen	110
4.8.5	Analysen zum Effekt des antisense PARP-1-Vektors auf die gesamtzelluläre Expression des Transkriptionsfaktors NF- κ B und des High mobility group Proteins HMG-1(Y) und auf die Translokation von NF- κ B	113
4.9	Inhibition der PARP-1 in primären Mikrogliazellen	114
4.9.1	Transfektion primärer Mikrogliazellen mit dem antisense PARP-1-Vektor und Selektion mit Zeocin	114
4.9.2	Nachweis der PARP-1-Aktivität und der PARP-1-Protein-Expression in transfizierten primären Mikrogliazellen	116
4.9.3	Superkultivierung vormarkierter primärer antisense PARP-1 Mikrogliazellen auf organotypischen hippokampalen Schnittkulturen	118
4.9.3.1	Untersuchungen zum neuronalen Zelltod und Vitalitätsbestimmung transfizierter Mikrogliazellen in der Schnittkultur	118
4.9.3.2	Analyse der regionspezifischen Migration	121
4.10	Zusammenfassung der Ergebnisse	123
5	DISKUSSION	125
5.1	Methodentechnische Diskussion	126
5.1.1	Klonierung eines antisense PARP-1- und eines antisense CD11a-Vektors	126
5.1.2	Transfektionen von BV-2 Zellen und primärer Mikrogliazellen mit den antisense-Vektoren	129
5.1.3	Superkultivierung vormarkierter antisense PARP-1 und antisense CD11a Mikrogliazellen auf organotypischen hippokampalen Schnittkulturen	132
5.1.3.1	Untersuchungen zum neuronalen Zelltod	133
5.1.3.2	Analyse der regionspezifischen Migration	136
5.1.4	Untersuchungen zur PARP-1-regulierten mikroglialen CD11a-Expression	138
5.2	Funktion der PARP-1 bei der Aktivierung und Migration von Mikrogliazellen und Monozyten/Makrophagen	142
5.3	Die mikrogliale PARP-1-Hemmung als therapeutische Option	146
6	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	149
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	153
8	LITERATURVERZEICHNIS	158
9	ANHANG	
I	DANKSAGUNG	
II	LEBENS LAUF	
III	PUBLIKATIONS LISTE	
IV	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	
V	AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN	

I DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei den Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Robert Nitsch möchte ich für das Überlassen dieses sehr interessanten und vielseitigen Forschungsthemas, sowie für die Übernahme der Erstbegutachtung danken.

Bei Herrn Prof. Hans Joachim Pflüger bedanke ich mich für die Übernahme des Zweitgutachtens dieser Arbeit und für die bürokratischen Hilfeleistungen.

Mein ganz besonderer Dank geht an Herrn PD Dr. Dr. Oliver Ullrich, der mir nicht nur die PARP näher gebracht hat, sondern mich auch während meiner Zeit als Doktorandin mit großer fachlicher Kompetenz und immer guter Laune hervorragend betreut hat.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei der Arbeitsgruppe von Oliver herzlich bedanken: Sister Ines, Susi, Eva, Katharina, Dagmar, Anja, Brita, Claudia, Sylvia und Hannes. Mit allen Mitarbeitern, ob Medizinerinnen oder „richtigen“ Naturwissenschaftlern, hat die Zusammenarbeit sehr viel Spaß gemacht.

Herrn Dr. Sven Müller-Röver danke ich für das mir entgegengebrachte Verständnis während der Zeit des Schreibens dieser Arbeit. Gleichzeitig bedanke ich mich ganz herzlich bei der Arbeitsgruppe von Sven. Hierzu gehören: Meine beste Zimmernachbarin Steffi, die hoffentlich nicht allzusehr vom Schreiben einer solchen Arbeit abgeschreckt wurde; Christine, die genau wie ich erfahren hat, daß das Leben nicht nur aus Sonnenseiten besteht und trotzdem das Lachen nicht verlernt hat und natürlich Greta, Doreen, Nora und Kathi.

Bei allen anderen Mitarbeitern des Instituts möchte ich mich für den konstruktiven Ideenaustausch und die nette Arbeitsatmosphäre bedanken.

Ein dickes Dankeschön geht an Christel Eichhoff für das „Fehlerlesen“ und an meinen Bruder Didi für die aufgebrachte Geduld in Computerangelegenheiten.

Tanja, Magic-Maren, Heike und Sabine danke ich dafür, daß sie immer für mich da waren und daß sie meine Freundinnen sind.

Meiner Schwester Elke und meinem Schwager Klaus danke ich für das permanente Daumendrücken. Meiner Mutter Johanna, der besten der Welt natürlich, danke ich dafür, daß sie so ist wie sie ist: Ein durchweg liebenswerter Mensch, der sich von nichts und niemanden unterkriegen läßt. Meinem Vater Hans Jürgen ein Danke dafür, daß er mir immer ein „Motor“ für die berufliche Karriere war und dafür, daß er mir eine große Portion Ehrgeiz vererbt hat.

Allen Freunden, Verwandten und Bekannten, die hier nicht namentlich erwähnt sind, danke ich für die Zuversicht auf ein gutes Gelingen und dafür, daß sie immer an mich geglaubt haben.

Last but not least geht ein riesiges Dankeschön an meinen Lebenspartner Volkmar, der die arbeitsintensive Zeit am stärksten zu spüren bekommen hat und der mich trotzdem immer wieder motiviert hat, diese Doktorarbeit als etwas „ganz Großes“ anzusehen.

III PUBLIKATIONSLISTE

Publikationen im Rahmen der Dissertation

Ö. Ciftci*, O. Ullrich*, C. A. Schmidt, **A. Diestel** & R. Hass, 2001: Regulation of the nuclear proteasome activity in human leukemia cells after adriamycin-treatment. *Blood* 97, 2830-2838.

O. Ullrich, **A. Diestel**, I. Bechmann, M. Homberg, T. Grune, R. Hass & R. Nitsch, 2001: Turnover of oxidatively-damaged proteins in BV-2 microglia cells is linked to their activation state by poly(ADP-ribose) polymerase. *FASEB J.* 15, 1460-1462.

O. Ullrich*, **A. Diestel***, I. Y. Eyüpoglu & R. Nitsch, 2001: Regulation of microglial expression of integrins by poly(ADP-ribose)polymerase-1. *Nature Cell Biol.* 3, 1035-1042.

***both authors contributed equally as "first author"**

O. Ullrich, **A. Diestel**, I. Y. Eyüpoglu & R. Nitsch, 2002: Regulation of microglial expression of integrins by poly(ADP-ribose)polymerase-1. *Ann. Anat.* 184, 415-416.

A. Diestel, D. Hackel, I. Häke, O. Aktas, R. Nitsch, F. Zipp & O. Ullrich. Microglia-mediated neuronal injury by 7-ketocholesterol found in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. (*submitted to J. Exp. Med.*)

Publikationen im Rahmen der Diplomarbeit

Winter, H., R. J. Snowdon, **A. Diestel**, S. Gärtig & M. D. Sacristán, 1999: Untersuchungen zum Transfer von Resistenzen gegen *Leptosphaeria maculans* aus Wildcruciferen in den Raps. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 46, 340-342.

Winter, H., R. J. Snowdon, **A. Diestel**, S. Gärtig & M. D. Sacristán, 2000: Studies on blackleg resistance transfer from wild crucifers to *Brassica napus*. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 47, 185.

Snowdon, R. J., H. Winter, **A. Diestel** & M. D. Sacristán, 2000: Development and characterisation of *Brassica napus-Sinapis arvensis* addition lines exhibiting resistance to *Leptosphaeria maculans*. *Theoretical and Applied Genetics* 101, 1008-1014.

Winter, H., **A. Diestel**, S. Gärtig, N. Krone, K. Sterenberg & M. D. Sacristán, 2003: Transfer von Resistenzen gegen *Leptosphaeria maculans* aus Wildcrucifern in den Raps. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 56, 51-62.

Winter, H., **A. Diestel**, S. Gärtig, N. Krone, K. Sterenberg & M. D. Sacristán, 2003: Transfer of new blackleg resistances into oilseed rape. *Blackleg News* 7, 13.

Beiträge auf internationalen und nationalen Konferenzen (Abstracts)

Winter, H., **A. Diestel** & M. D. Sacristán, 1998: Resistance to *Leptosphaeria maculans* and *Alternaria brassicicola* transferred into *Brassica napus* by interspecific and intergeneric hybridization. *International Congress of Plant Pathology, Edinburgh/ Scotland*.

Winter, H., **A. Diestel**, S. Gärtig & M. D. Sacristán, 1998: The use of wild crucifers for blackleg resistance transfer into *Brassica napus*. *11th International Crucifer Genetics Workshop, Montreal/ Canada*.

Winter, H., S. Gaertig, **A. Diestel** & M. D. Sacristán 1999: Blackleg resistance of different origin transferred into *Brassica napus*. *10th International Rapeseed Congress*.

O. Ullrich, **A. Diestel**, I. Eyüpoglu & R. Nitsch, 2000: Microglia activation and migration towards sites of excitotoxic neuronal injury requires functional active poly-ADP-ribose polymerase. *Anatomy 2000 Tripartite Meeting, Cambridge, UK*.

O. Ullrich, **A. Diestel**, I. Eyüpoglu & R. Nitsch, 2000: Functional involvement of poly-ADP-ribose-polymerase in microglia activation, antioxidative defence and migration towards sites of excitotoxic neuronal injury. *17. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft, Würzburg, Germany*.

O. Ullrich, **A. Diestel**, R. Nitsch & F. Zipp, 2000: Microglia activation by cholesterol oxides in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *30th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, New Orleans, USA*.

Appeared in the Meeting's Press Release as lay language summary

A. Diestel, I. Eyüpoglu, R. Nitsch & O. Ullrich, 2000: Functional involvement and signalling of poly-ADP-ribose-polymerase in microglia activation and migration towards sites of excitotoxic neuronal injury. *30th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, New Orleans, USA*.

A. Diestel, R. Nitsch & O. Ullrich, 2001: Prevention of secondary neuronal damage by microglial PARP-1 inhibition. *31th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, San Diego, USA*.

O. Ullrich, **A. Diestel** & R. Nitsch, 2001: Cholesteroxid-vermittelte Aktivierung und Migration von Mikrogliazellen durch exzitotoxisch geschädigte Neurone. *18. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft, Würzburg, Germany*.

Ö. Ciftci, **A. Diestel**, C. A. Schmidt, R. Hass & O.Ullrich, 2001: PARP-vermittelte Proteasomaktivierung bei Chemotherapie-assoziierten Resistenzmechanismen in Leukämiezellen. *18. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft, Würzburg, Germany*.

A. Diestel, I. Häke, O. Aktas, R. Nitsch, F. Zipp & O.Ullrich, 2001: Mikroglia-Aktivierung durch oxidierte Cholesterole im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit Multipler Sklerose. *18. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft, Würzburg, Germany*.

O. Ullrich, **A. Diestel**, I. Eyüpoglu & R.Nitsch, 2001: Neuroprotection by downregulation of microglial PARP-1 and CD11a expression. *5th Joint Meeting of the German Signal Transduction Society, Weimar, Germany*.

O. Ullrich, **A. Diestel**, I. Eyüpoglu & R. Nitsch, 2001: A new mechanism to protect neurons from secondary damage by microglial PARP-1 inhibition. *Ernst-Schering-Research-Foundation-Workshop, Berlin, Germany*.

I. Häke, **A. Diestel**, R. Nitsch & O. Ullrich, 2002: Interaktion neuronal freigesetzter Cholesteroxide mit Mikrogliazellen: Mechanismen der Neuroprotektion oder Neurodegeneration ? *97. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft, Halle, Germany.*

A. Diestel, D. Poppek, C. Kern, R. Nitsch & O. Ullrich, 2002: PARP-1-regulated microglial migration and cytokin expression–new mechanisms of neuroprotection? *Berlin Neuroscience Forum, Liebenwalde, Germany.*

A. Diestel, I. Häke, D. Hackel, O. Aktas, R. Nitsch, F. Zipp & O. Ullrich, 2002: Neuronal damage by oxysterol-induced microglia activation–an injurious neuron-microglia-crosstalk? *Berlin Neuroscience Forum, Liebenwalde, Germany.*

A. Diestel, I. Häke, O. Aktas, R. Nitsch, F. Zipp & O. Ullrich, 2002: Cholesterol oxides induce microglia activation in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *5th European Meeting on Glia cell Function in Health and Disease, Rome.*

A. Diestel, D. Hackel, I. Häke, F. Zipp, R. Nitsch & O. Ullrich, 2002: Microglia-mediated neuronal injury by 7-ketocholesterol found in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *19. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft, Würzburg, Germany .*

O. Ullrich, **A. Diestel**, D. Hackel, I. Haeke, O. Aktas, F. Zipp & R. Nitsch, 2002: Activation of microglia cells and induction of neuronal injury by cholesterol oxides found in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *32th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Orlando, USA.* Awarded as Editor's bronze choice abstract in *Neurobiology of Lipids* Vol.1, 5 (2002)

Winter, H., **A. Diestel**, S. Gärtig, N. Krone, K. Sterenberg & M. D. Sacristán, 2003: Oilseed rape (*Brassica napus*) lines with alternative blackleg (*Leptosphaeria maculans*) resistance. *8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand.*

Winter, H., **A. Diestel**, S. Gärtig, N. Krone, K. Sterenberg & M. D. Sacristán, 2003: Transfer of new blackleg resistances into oilseed rape. *11th International Rapeseed Congress Copenhagen, Denmark.*

IV EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, Diplom Biologin Antje Diestel, geboren am 31. Mai 1968, an Eides statt, daß ich die vorgelegte Dissertation „Funktion der Poly(ADP-Ribose)-Polymerase-1 bei der inflammatorischen Schädigung von Neuronen durch aktivierte Mikrogliazellen“ selbständig und ohne unzulässige Hilfe angefertigt habe.

Berlin, den2003

.....

Antje Diestel