

Aus dem
CharitéCentrum 15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie
Klinik für Neurologie und Abteilung für Experimentelle Neurologie,
Charité Campus Mitte
Direktor: Prof. Dr. med. Matthias Endres

Habilitationsschrift

Glukosemetabolismus und Zelltodregulation in der molekularen Schlaganfallpathophysiologie – Mechanismen und neue therapeutische Targets

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Experimentelle Neurologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Philipp Mergenthaler

Eingereicht: Dezember 2018

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Tim Magnus

2. Gutachter: PD Dr. med. Arthur Liesz

Nicole

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
ABKÜRZUNGEN	4
1. EINLEITUNG	5
1.1. Zelluläre und molekulare Pathophysiologie des Schlaganfalls	6
1.2. Glukosemetabolismus im Gehirn	8
1.3. Regulationsmechanismen der Apoptose	11
2. EIGENE ARBEITEN	14
2.1. Die Bedeutung des glykolytischen Enzyms Hexokinase II für die neuronale Zelltodregulation bei metabolischem Stress.....	14
2.2. Cyclin-abhängiger Kinaseinhibitor 1 (p21 ^{WAF1/CIP1})-vermittelte Neuroprotektion.....	27
2.3. Expression von Dopamin D2 Rezeptoren auf Mikroglia nach Schlaganfall	33
2.4. Der Einfluss des neuronalen Mikromilieus auf den Zellstoffwechsel	42
2.5. Small molecule Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren von pro-apoptotischem Bax und Bak als neue Therapieoption im Schlaganfall.....	54
3. DISKUSSION	74
4. ZUSAMMENFASSUNG	82
5. ÜBERSICHT DER IN DIESER HABILITATIONSSCHRIFT ZUSAMMENGEFASSTEN VERÖFFENTLICHUNGEN	83
6. LITERATURANGABEN	85
DANKSAGUNG	94
ERKLÄRUNG	95

Abkürzungen

ATP	Adenosintri-phosphat
AgRP	Agouti-related Peptide
Bak	Bcl-2 homologous Antagonist/Killer
Bax	Bcl-2-associated X Protein
BBB	Blood Brain Barrier (Blut-Hirn-Schranke)
Bcl2	B-cell Lymphoma 2
CBF	Cerebral Blood Flow (zerebraler Blutfluss)
Da	Dalton
Glc	Glukose
Glut1	Glukosetransporter 1
HK	Hexokinase
MOMP	Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization (Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran)
mPTP	Mitochondrial Permeability Transition Pore (Mitochondriale Permeabilitäts-Transitions-pore)
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NVU	Neurovascular Unit (Neurovaskuläre Einheit)
PEA15	Phosphoprotein Enriched in Astrocytes of 15 kDa
POMC	Proopiomelanocortin
RNS	Reactive Nitrogen Species (reaktive Stickstoffspezies)
ROS	Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoffspezies)
rtPA	Recombinant Tissue Plasminogen Activator (rekombinanter gewebespezifischer Plasminogenaktivator)

1. Einleitung

Der Schlaganfall definiert eine Gruppe heterogener Erkrankungen und gehört weiterhin zu den häufigsten Todesursachen und Gründen für langfristige Behinderungen in der westlichen Welt. Gegenwärtig erleiden allein in Deutschland ca. 260.000 Patienten pro Jahr einen Schlaganfall (*Quelle:* Deutsche Gesellschaft f. Neurologie). Prognosen für das Jahr 2025 gehen von einer Inzidenz von etwa 1,5 Millionen Schlaganfällen pro Jahr in der Europäischen Union aus (Heuschmann et al., 2010). Die häufigste Form des Schlaganfalls ist der ischämische Schlaganfall, bei dem der vorübergehende oder dauerhafte Verschluss einer hirnversorgenden Arterie durch einen Thrombus oder eine Embolie zur Ischämie des betroffenen Hirnareals führt (Donnan et al., 2008). Darüber hinaus kann es durch eine Unterbrechung der systemischen Blutzirkulation wie z.B. beim Herzstillstand zur globalen zerebralen Ischämie oder durch Blutungen aus verschiedensten Blutungsquellen zum hämorrhagischen Schlaganfall kommen (Donnan et al., 2008). In der Folge soll jedoch nur der ischämische Schlaganfall diskutiert werden. In dem sogenannten Schlaganfallkern kommt es durch vollständig fehlende Blutversorgung innerhalb weniger Minuten zum Nervenzelltod und Gewebeschaden. Dieses unmittelbar betroffene ischämische Kerngebiet ist von einem durch verminderten Blutfluss, und damit mangelversorgte Areal, der sogenannten Penumbra (Astrup et al., 1981; Heiss und Zarow Weber, 2017), umgeben.

Das moderne Verständnis der Pathophysiologie des ischämischen Schlaganfalls erstreckt sich über die akuten Effekte der unterbrochenen Blutversorgung hinaus und kennt komplexe zelluläre und molekulare Mechanismen, die den Gewebeschaden vermitteln (Dirnagl et al., 1999; Mergenthaler et al., 2004; Moskowitz et al., 2010). Es ist maßgeblich durch verschiedenste Tiermodelle geprägt, die differenziert jeweils unterschiedliche Aspekte der pathophysiologischen Kaskaden abbilden und weiterhin einen hohen Stellenwert in der Erforschung pathophysiologischer Mechanismen und der Wirkstoffentwicklung haben (Mergenthaler und Meisel, 2012; 2015).

Trotz des differenzierten Verständnisses der Schlaganfallpathophysiologie ist die Therapie bisher auf symptomatische Maßnahmen und Komplikationsmanagement auf spezialisierten Schlaganfallstationen, der frühen pharmakologischen und interventionellen Reperfusion mit rekombinatem gewebspezifischem Plasminogenaktivator (rtPA) innerhalb von 4,5 Stunden (Hacke et al., 2008) oder der interventionellen Thrombektomie bis zu 24 Stunden (Nogueira et al., 2018) nach Schlaganfallbeginn, und der Sekundärprophylaxe (Donnan et al., 2008) zur Verhinderung weiterer Ereignisse beschränkt.

In den vergangenen Jahrzehnten sind zwar eine Vielzahl verschiedener mechanistischer Konzepte in Therapiestudien überprüft worden (O'Collins et al., 2006). Hieraus haben sich jedoch bisher keine neuen Therapiekonzepte etablieren lassen. Die Ursachen für diese fehlgeschlagenen klinischen Studien sind vielschichtig und Gegenstand verschiedenster Metastudien (Dirnagl und Fisher, 2012; Button et al., 2013; Macleod et al., 2014; Holman et al., 2016). Eine Vielzahl experimenteller und klinischer Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass die grundlegenden pathophysiologischen Konzepte gut zwischen (Tier-) Modellen und dem klinischen Kontext korrespondieren (Mergenthaler und Meisel, 2012; Dirnagl und Endres, 2014).

1.1. Zelluläre und molekulare Pathophysiologie des Schlaganfalls

Die akuten molekularen Schadensmechanismen sind durch die Abfolge von Exzitotoxizität, Periinfarktdepolarisationen, der Produktion reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffradikale und nachfolgender Gewebeazidose gekennzeichnet (Dirnagl et al., 1999; Moskowitz et al., 2010; Mergenthaler und Meisel, 2012). In der Folge tragen inflammatorische Prozesse und Zelltodkaskaden zum Gewebeschaden bei (Mergenthaler et al., 2004; Fricker et al., 2018). Die Inflammation kann dabei sowohl das innate als auch das adaptive Immunsystem aktivieren und Immunzellen aus der Peripherie rekrutieren, aber auch Mikroglia aktivieren (Chamorro et al., 2012). Die so gesteuerte Infarktprogression

gefährdet vor allem das Gewebe der Penumbra. Sie stellt gleichzeitig das *Tissue at Risk*, also das von der Infarktprogression gefährdete Gewebe, sowie die funktionelle Reserve für erfolgreiche Revaskularisierungsmaßnahmen dar, welches mindestens bis zu 48 Stunden nach Schlaganfallbeginn gerettet werden kann (Markus et al., 2004).

Im Rahmen der Exzitotoxizität kommt es durch die vermehrte Freisetzung und verringerte Wiederaufnahme exzitatorisch wirksamer Aminosäuren wie Glutamat zu einer vermehrten Aktivierung v.a. von NMDA Rezeptoren, dadurch letztlich zu einem starken und anhaltenden Anstieg zytoplasmatischer Calciumspiegel und dadurch u.a. zur direkten Aktivierung apoptotischer Signalkaskaden wie z.B. der Aktivierung des pro-apoptotischen Proteins Bax (Moskowitz et al., 2010; D'Orsi et al., 2012; Niu et al., 2017; Fricker et al., 2018).

Bei Periinfarktdepolarisationen handelt es sich um spontane Depolarisationswellen, welche v.a. im metabolisch kompromittierten Gebiet der Penumbra auftreten können. Sie führen u.a. zu einem deutlich verstärkten neuronalen metabolischen Bedarf (Feuerstein et al., 2016) und aufgrund der Minderperfusion und Mangelversorgung der Penumbra sowie vasokonstriktiver Vorgänge zu einer Ausbreitung des ischämischen Areals (Dreier, 2011; Lauritzen et al., 2011; Pietrobon und Moskowitz, 2014; Dreier und Reiffurth, 2015).

Im Rahmen der ischämischen Schadenskaskaden kommt es durch die Aktivierung verschiedener enzymatischer Prozesse, v.a. getriggert durch den erhöhten zytoplasmatischen Calciumspiegel und durch mitochondriale Depolarisation, zu einem Anstieg von Sauerstoff- (ROS) und Stickstoffradikalen (RNS). Da das Gehirn nur eine geringe antioxidative Kapazität hat, tragen oxidativer und nitrosativer Stress direkt und indirekt durch die Vermittlung von exzitotoxischem Stress zum ischämischen Schaden und zur Infarktprogression bei (Adibhatla und Hatcher, 2010; Moskowitz et al., 2010). Da insbesondere in der Penumbra weiter ATP verbraucht wird, führen diese Mechanismen letztlich zur Gewebeazidose und zur Aufhebung der Ionenhomöostase (Simon, 2006)

Bereits innerhalb weniger Stunden nach Beginn des Schlaganfalls kommt es zu einer vielschichtigen Entzündungsreaktion. Durch den Nervenzellschaden werden Schadens-assoziierte molekulare Muster (DAMPs, *damage-associated molecular patterns*) freigesetzt, die ebenso wie der oxidative Stress im Infarkt- und Penumbra-gebiet zur Aktivierung von Mikroglia und Astrozyten, und mit zeitlicher Latenz zur Rekrutierung peripherer Immunzellen in das Schlaganfallgebiet führen (Gelderblom et al., 2009; Chamorro et al., 2012), wobei sowohl die genauen Mechanismen als auch die pathophysiologische Bedeutung Gegenstand aktueller Forschung ist. Die Bedeutung der Immunreaktion beim Schlaganfall ist komplex. So kann die Aktivierung von Mikroglia direkt oder indirekt neuronalen Zelltod vermitteln (Fricker et al., 2018). Beispielsweise führt die Glutamatexzitotoxizität zu einer Freilegung von Phosphatidylserin in der Zellmembran von Neuronen (s.u.), welches ähnlich wie weitere intrazelluläre Proteine Mikroglia zur Phagozytose der betroffenen Nervenzellen stimuliert (Neher et al., 2011; Fricker et al., 2018).

1.2. Glukosemetabolismus im Gehirn

Das menschliche Gehirn benötigt für seine physiologische Funktion Glukose als Hauptlieferant seiner Energie (Mergenthaler et al., 2013a). Während das Gehirn lediglich ca. 2% des Körpergewichts entspricht, verbraucht es etwa 20% der im Körper durch Glukose generierten Energie (Rolfe und Brown, 1997). Dies verdeutlicht die hohe Bedeutung des Glukosestoffwechsels für die Hirnfunktion (Abbildung 1).

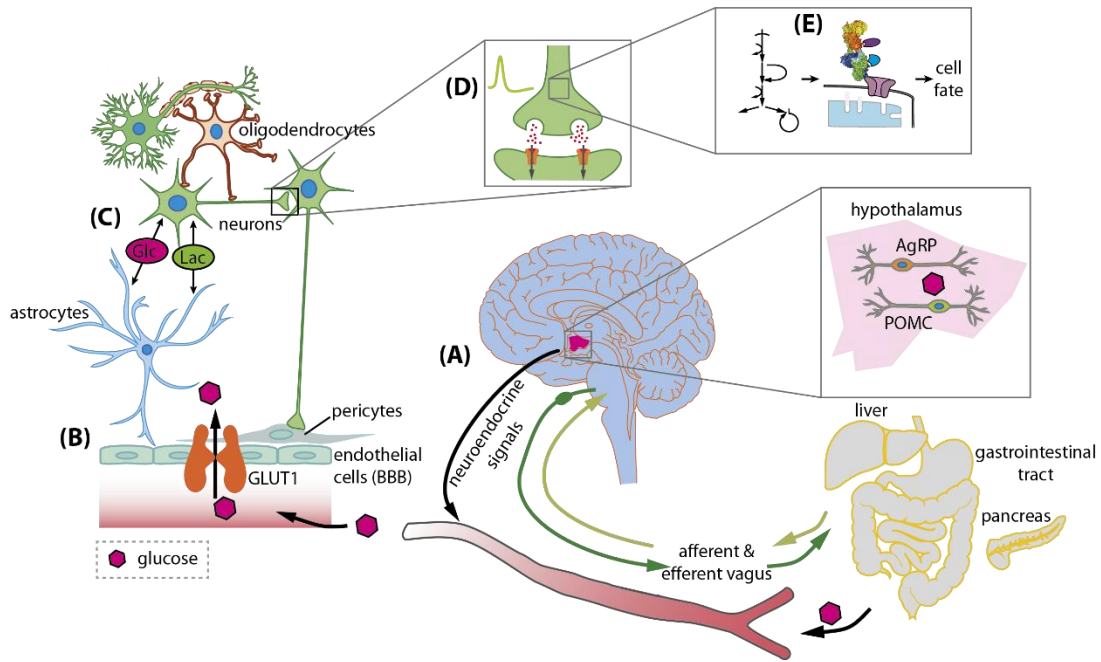


Abbildung 1: Komplexe zelluläre und molekulare Mechanismen regulieren den Stoffwechsel von Glukose (Glc) als wichtigste Energiequelle des Gehirns. **(A)** Spezialisierte Zentren im Gehirn, einschließlich Proopiomelanocortin (POMC) und Agouti-related Peptid (AgRP) Neurone im Hypothalamus, erfassen zentrale und periphere Glukosespiegel und regulieren den Glukosestoffwechsel über neuroendokrine Signale und den Vagusnerv. **(B)** Die Glukoseversorgung des Gehirns wird durch neurovaskuläre Kopplung reguliert und kann durch stoffwechselabhängige und -unabhängige Mechanismen moduliert werden. Glukose gelangt aus dem Blut in das Gehirn, indem sie die Blut-Hirn-Schranke (BBB) durch den Glukosetransporter 1 (GLUT1) überquert, und sich **(C)** gemeinsam mit anderen Metaboliten (z.B. Laktat, Lac) über ein fein reguliertes zelluläres Stoffwechselnetzwerk schnell verteilt. **(D)** Glukose liefert die Energie für die Neurotransmission. **(E)** Glukose-metabolisierende Enzyme können dabei das Überleben von (Nerven-) Zellen regulieren. Ein gestörter Glukosestoffwechsel auf jeder dieser Regulationsebenen kann die Grundlage für die Entstehung einer Vielzahl von Erkrankungen des Gehirns sein. *Abbildung reproduziert und Bildunterschrift übersetzt aus Mergenthaler et al., 2013a.*

Über die Bildung von ATP durch aerobe Glykolyse oder oxidative Phosphorylierung wird durch den Glukosestoffwechsel die Grundlage neuronaler Homöostase aber auch der neuronalen Aktivierung und der Bildung von Neurotransmittern gelegt (Dienel, 2012; Mergenthaler et al., 2013a).

Das Gehirn verbraucht den Großteil seiner Energie für die neuronale Aktivierung und die Verarbeitung und Speicherung von Information über die Generierung von Aktionspotentialen, der Aufrechterhaltung von Ionengradienten zur Stabilisierung des neuronalen Ruhepotentials, und vor allem für die synaptische Transmission (Harris und Rubinsztein, 2012; Mergenthaler et al., 2013a; Yellen, 2018). Während die Erzeugung von axonalen Aktionspotentialen einen evolutionär

effizienten Prozess darstellt (Alle et al., 2009), wird ein Großteil des Energieverbrauchs des Gehirns der synaptischen Aktivität zugeschrieben (Harris und Rubinsztein, 2012; Liotta et al., 2012). So ist naheliegend, dass das Gehirn seinen Glukoseverbrauch bei neuronaler Aktivierung erhöht (Sokoloff, 1999), und dass es regionale Unterschiede im Glukoseverbrauch in den verschiedenen Hirnarealen, mit einem erheblich höheren Verbrauch in der grauen als in der weißen Substanz, gibt (Harris und Rubinsztein, 2012). Metabolite des Glukosestoffwechsels wie Laktat oder auch (astrozytäres) Glykogen scheinen eine Rolle in der Entstehung des Langzeitgedächtnisses und bei Lernvorgängen zu spielen (Hertz und Gibbs, 2009; Suzuki et al., 2011).

Die Versorgung des Gehirns mit Glukose wird unter physiologischen Bedingungen durch Glukosetransporter in der Blut-Hirn-Schranke und den Zellen des Gehirns sicher gestellt, deren Transportkapazität den Glukosebedarf deutlich übersteigt (Simpson et al., 2007). Nervenzellen können zwar grundsätzlich auch andere Energieträger als Glukose wie z.B. Laktat oder Ketonkörper zur Energiegewinnung verwenden, scheinen jedoch unter physiologischen Bedingungen bevorzugt Glukose zu metabolisieren (Dienel, 2012; Mergenthaler et al., 2013a; Lundgaard et al., 2015; Yellen, 2018). Allerdings ist die Bedeutung verschiedener Substrate für den neuronalen Energiestoffwechsel weiterhin Gegenstand erheblicher Kontroversen (Mergenthaler et al., 2013a; Magistretti und Allaman, 2018; Yellen, 2018). Zur Sicherstellung der Versorgung des Gehirns mit Glukose gibt es im Ruhezustand unter physiologischen Bedingungen eine enge Kopplung zwischen lokalem Glukoseverbrauch und lokalem zerebralem Blutfluss (CBF), so dass es bei erhöhtem Glukosebedarf u.a. durch eine entsprechende Signaltransduktion von Neuronen auf die Blutgefäße der neurovaskulären Einheit (*neurovascular unit*, *NVU*) zu einer Zunahme des CBF kommt (Fox et al., 1988; Gordon et al., 2008; Attwell et al., 2010; Gordon et al., 2011).

Aufgrund der skizzierten hohen Bedeutung des Glukosestoffwechsels für die physiologische Hirnfunktion und aufgrund seiner minimalen Energiespeicher ist das Gehirn in hohem Maße anfällig wenn die Energieversorgung akut oder subakut beispielsweise beim Schlaganfall unterbrochen wird. Durch die fehlende Sauerstoffversorgung kommt es darüber hinaus zu einer akuten Umstellung des normalen oxidativen Glukosestoffwechsels zu aerober Glykolyse. Bereits nach wenigen Minuten führt die ausbleibende Zufuhr von Sauerstoff und Glukose jedoch zur Depolarisation von Nerven- und Gliazellen und in der Folge zur Freisetzung exzitatorischer Aminosäuren und damit zur Initiierung von Zelltodkaskaden (Dirnagl et al., 1999).

1.3. Regulationsmechanismen der Apoptose

Die Apoptose (programmierter Zelltod) ist ein evolutionär hoch konservierter Mechanismus, dem sowohl entwicklungsbiologisch als auch in der Pathophysiologie verschiedenster Erkrankungen eine hohe Bedeutung zukommt (Danial und Korsmeyer, 2004; Green, 2005). Die Apoptose ist durch das Zusammenspiel zytoplasmatischer und mitochondrialer Signalkaskaden, die letztlich zur Aktivierung der proteolytischen Caspasen führen, reguliert (Danial und Korsmeyer, 2004). Die mitochondriale Kaskade ist dabei durch pro- und anti-apoptische Proteine der Bcl-2 Proteinfamilie reguliert, wobei die Oligomerisierung der mitochondrial lokalisierten Proteine Bax und / oder Bak letztlich zur Permeabilisation der äußeren Mitochondrienmembran, dem „*point of no return*“ in der Apoptoseinitiierung, führt (Kale et al., 2018). Neben der klassischen Unterteilung von Zelltod in Apoptose und Nekrose, welche allgemein als nicht regulierte Zelltodform beschrieben ist und der in der perakuten Schadensvermittlung im Gewebe nach (zerebraler) Ischämie eine große Bedeutung zu kommt, sind mittlerweile eine Reihe unterschiedlicher – Kontext-abhängiger – Zelltodmechanismen wie bspw. Necroptose oder Ferroptose

molekular bekannt (Fricker et al., 2018), auf die hier jedoch nicht näher eingegangen wird.

Im Schlaganfallgebiet kommt es insbesondere in der Penumbra akut und mit zeitlicher Latenz zur Aktivierung der Apoptosekaskaden die zu einer Ausbreitung des ischämischen Gewebeschadens beitragen (Dirnagl et al., 1999; Mergenthaler et al., 2004; Fricker et al., 2018). So kann die Fehlgesteuerte Calciumhomöostase mit einer Akkumulation intrazellulären Calciums im Rahmen der Glutamatergischen Toxizität zu einer direkten Aktivierung und damit zur mitochondrialen Translokation und Oligomerisierung von proapoptotischem Bax führen (Engel et al., 2011; D'Orsi et al., 2012; D'Orsi et al., 2015). Die Bedeutung der Bcl-2 Proteinfamilie für die Apoptoseregulation und Schadensvermittlung im Schlaganfall im Allgemeinen und der Proteine Bax und Bak im Speziellen wird durch tierexperimentelle Studien mit genetisch veränderten Mausstämmen unterstrichen. So haben bspw. Mäuse mit genetischer Deletion von Bax kleinere Schlaganfälle und ein verbessertes neurologisches Outcome als entsprechende Wildtyp-Mäuse (D'Orsi et al., 2015). Weiterhin gibt es erste pharmakologische Ansätze, die auf der zentralen Funktion von Bax und Bak in der Apoptoseregulation aufbauen und diesen Mechanismus ausnutzen. Durch die Blockade eines postulierten Bax-Kanals (Hetz et al., 2005) oder die Hemmung der Bax-Bax und Bak-Bak Interaktionen in der äußeren Mitochondrienmembran, die in der eigenen Arbeit beschrieben wurde (Niu et al., 2017), konnte der neuronale Zelltod in unterschiedlichen Schlaganfallmodellen verhindert werden.

Neben den akuten Schadensmechanismen kommt es im Rahmen der Reperfusion bei spontaner oder v.a. therapeutischer Wiederherstellung des Blutflusses aufgrund der Depolarisation des mitochondrialen Membranpotentials zur Bildung von freien Sauerstoffradikalen (ROS). In diesem Kontext kommt es zur Öffnung der mitochondrialen Permeabilisations-Transitions Pore (mPTP), einer unselektiven Pore in der äußeren Mitochondrienmembran, die jegliche Matrix- und Innermembranmoleküle kleiner als 10.000 Da aus den Mitochondrien heraus diffundieren lässt (Fricker et al., 2018). Die molekularen Mechanismen

die zur Ausbildung der mPTP beitragen sind nach wie vor unzureichend verstanden, allerdings scheinen Bax und Bak zu ihrer Bildung bei zu tragen (Karch et al., 2013). Dieser Schadensmechanismus trägt einerseits zum direkten Zelltod von Nervenzellen als auch sekundär über Schädigungen der Glia- und Endothelzellen zur Ausbreitung des ischämischen Areals bei (Moskowitz et al., 2010).

Die hier zusammengefassten Arbeiten verbindet als gemeinsame Grundhypothese, dass Mechanismen der Apoptoseregulation mit Stoffwechselwegen des Glukosemetabolismus auf verschiedenen Ebenen überlappen und einzelne Enzyme des Glukosemetabolismus direkt oder indirekt Zelltod regulieren. Das so geschaffene vertiefte molekulare Verständnis der Pathophysiologie des Schlaganfalls ermöglicht die auf den untersuchten Mechanismen aufbauende Entwicklung neuer Therapien des Schlaganfalls. Das Prinzip, dass Zellüberleben oder Zelltod durch Enzyme des Glukosestoffwechsels reguliert werden stellt dabei einen über die Schlaganfallpathophysiologie hinaus relevanten, grundlegenden biologischen Mechanismus mit hoher Bedeutung für die Biomedizin dar.

2. Eigene Arbeiten

2.1. Die Bedeutung des glykolytischen Enzyms Hexokinase II für die neuronale Zelltodregulation bei metabolischem Stress

Mergenthaler P, Kahl A, Kamitz A, van Laak V, Stohlmann K, Thomsen S, Klawitter H, Przesdzing I, Neeb L, Freyer D, Priller J, Collins TJ, Megow D, Dirnagl U, Andrews DW, Meisel A. (2012) Mitochondrial hexokinase II (HKII) and phosphoprotein enriched in astrocytes (PEA15) form a molecular switch governing cellular fate depending on the metabolic state. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(5):1518-23. doi: [10.1073/pnas.1108225109](https://doi.org/10.1073/pnas.1108225109).

In dieser Arbeit wurde der Einfluss des durch den Transkriptionsfaktor Hypoxie-induzierbarer Faktor (HIF)-1 regulierten glykolytischen Enzyms Hexokinase II auf das Überleben und die Zelltodregulation nach Hypoxie, Ischämie und metabolischem Stress in Nervenzellen des Gehirns untersucht. Hierbei wurde gezeigt, dass die Hexokinase II als molekularer Schalter fungiert und je nach metabolischem Zustand der (Nerven)-Zelle eine zytoprotektive oder Zelltod-förderliche Funktion erfüllt. Weiterhin wurde erstmalig eine direkte und funktionell bedeutsame Interaktion der Hexokinase II mit dem Homöostase-regulierenden Protein PEA15 gezeigt. Dieser mitochondriale Proteinkomplex verhinderte Apoptose unter Hypoxie und Ischämie und förderte Zelltod bei Glukosedeprivation. Somit erfüllt die Hexokinase II nicht nur eine zytoprotektive Funktion unter Hypoxie, sondern fungiert auch als Sensor für die Verfügbarkeit von Glukose unter Normoxie, der bei Glukosedeprivation Apoptose in Nervenzellen induzieren kann. Weitergehende Experimente mit anderen zellulären Modellen legen dabei eine konservierte, grundlegende biologische Relevanz dieses Mechanismus nahe.

2.2. Cyclin-abhängiger Kinaseinhibitor 1 (p21^{WAF1/CIP1})-vermittelte Neuroprotektion

Mergenthaler P, Muselmann C, Sünwoldt J, Isaev NK, Wieloch T, Dirnagl U, Meisel A, Ruscher K. (2013) A functional role of the cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (p21(WAF1/CIP1)) for neuronal preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab*, 33(3):351-5. doi: [10.1038/jcbfm.2012.213](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.213).

In dieser Arbeit wurde ein, durch den Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitor 1, p21^{WAF1/CIP1}, der ebenfalls ein HIF-1 Targetgen ist, vermittelter endogen neuroprotektiver Mechanismus untersucht. Hierbei wurde gezeigt, dass die balancierte Expression und möglicherweise die post-translationale Regulation von p21^{WAF1/CIP1} ausschlaggebend für die hypoxische Präkonditionierung ist.

2.3. Expression von Dopamin D2 Rezeptoren auf Mikroglia nach Schlaganfall

Huck JH, Freyer D, Böttcher C, Mladinov M, Muselmann-Genschow C, Thielke M, Gladow N, Bloomquist D, **Mergenthaler P***, Priller J*. (2015) De novo expression of dopamine D2 receptors on microglia after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 35(11):1804-11. doi: [10.1038/jcbfm.2015.128](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.128). (*geteilte Letztautorenschaft)

Sowohl in der Penumbra als auch im Schlaganfallkern spielen inflammatorische Mechanismen, die unter anderem durch das gestörte metabolische Milieu in diesen Arealen getriggert werden können, und durch Inflammation aktivierte Zelltodsignalwege in Nervenzellen eine wichtige Rolle in der Ausprägung des Gewebeschadens. Dieser wird u.a. auch durch Mikroglia vermittelt, so dass eine spezifische Möglichkeit zur Modulation der Mikrogliaaktivität von therapeutischer Bedeutung nach Schlaganfall sein könnte. In dieser Arbeit wurde daher die Expression von Dopaminrezeptoren und deren Bedeutung für die Regulation von Mikroglia, welche neben regenerativen Prozessen auch zu inflammatorisch-vermitteltem neuronalen Zelltod führen können, im Schlaganfall untersucht. Während kultivierte primäre murine Mikroglia die Dopaminrezeptoren D1, D2, D3, D4 und D5 exprimieren, konnte eine Expression des Dopaminrezeptors D2 (D2R), der ein wichtiges Target von gebräuchlichen antipsychotischen Medikamenten ist, auf residenten Mikroglia in gesunden Gehirnen nicht nachgewiesen werden. Allerdings wurde nach Schlaganfall sowohl von Mikroglia als auch von aus der Peripherie eingewanderten Makrophagen in der Penumbra und im Schlaganfallkern der Dopaminrezeptor D2 exprimiert. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass der Dopaminrezeptor 2/3 Agonist Pramipexol zu einer Aktivierung kultivierter Mikroglia führte. Somit könnte eine Modulation des dopaminergen Systems eine wichtige Rolle in der Beeinflussung des innate Immunsystems im Gehirn haben und damit auch im Schlaganfall eine therapeutische Bedeutung haben.

2.4. Der Einfluss des neuronalen Mikromilieus auf den Zellstoffwechsel

Sünwoldt J, Bosche B, Meisel A, **Mergenthaler P.** (2017) Neuronal Culture Microenvironments Determine Preferences in Bioenergetic Pathway Use. *Front Mol Neurosci*, 10:305. doi: [10.3389/fnmol.2017.00305](https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00305).

Diese Arbeit untersuchte die Bedeutung des neuronalen Mikromilieus in der Nervenzellkultur für die präferentielle Nutzung von oxidativer Phosphorylierung oder Glykolyse. Hierbei wurden sowohl gebräuchliche Schadensmodelle der neuronalen Zellkultur wie Sauerstoffdeprivation und Glukosedepriation untersucht, als auch metabolischer Fluss in die zentralen Wege des Glukosestoffwechsels – der oxidativen Phosphorylierung und der Glykolyse – gemessen. Diese Arbeit legte somit durch die genaue Modellierung der Stoffwechselvorgänge in kultivierten Nervenzellen eine Grundlage um die u.a. in Originalarbeit 1 (Mergenthaler et al., 2012) beschriebenen metabolischen Mechanismen in eine therapeutische Anwendung zu führen. Weiterhin lieferte diese Arbeit auch eine mögliche Erklärungsgrundlage der vorherrschenden Kontroverse über die von Nervenzellen bevorzugten metabolischen Substrate Glukose oder Laktat.

2.5. Small molecule Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren von pro-apoptotischem Bax und Bak als neue Therapieoption im Schlaganfall

Niu X*, Brahmabhatt H*, **Mergenthaler P***, Zhang Z, Sang J, Daude M, Ehlert FGR, Diederich WE, Wong E, Zhu W, Pogmore J, Nandy JP, Satyanarayana M, Jimmidi RK, Arya P, Leber B, Lin J, Culmsee C, Yi J, Andrews DW. (2017) A Small-Molecule Inhibitor of Bax and Bak Oligomerization Prevents Genotoxic Cell Death and Promotes Neuroprotection. *Cell Chem Biol*, 24(4):493-506.e5. doi: [10.1016/j.chembiol.2017.03.011](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.03.011). (*geteilte Erstautorenschaft)

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die pro-apoptotisch wirksame Oligomerisierung der Proteine Bax und Bak in der äußeren Mitochondrienmembran in primären kortikalen Neuronen der Maus durch den *small molecule* Protein-Protein-Interaktionsinhibitor MSN-125 verhindert werden kann und Neurone vor Zelltod nach Glutamat-induzierter Exzitotoxizität schützt. Die Oligomerisierung von Bax/Bak ist ein irreversibler Schritt in der mitochondrialen Apoptosekaskade. Durch die Inhibition dieses Schrittes können Zellen vor apoptotischem Zelltod geschützt werden. Diese Arbeit legte damit den Grundstein für eine Entwicklung der herausfordernden Klasse der Protein-Protein-Interaktionen als therapeutisches Target im Schlaganfall und zeigte Entwicklungsperspektiven dieses Targets für ein breites Anwendungsfeld auf.

3. Diskussion

Die in dieser Arbeit diskutierten Originalarbeiten hatten das Ziel, das Verständnis der molekularen Pathophysiologie des Schlaganfalls, insbesondere hinsichtlich des Zusammenhangs von Stoffwechselprozessen und der Zelltodregulation, zu vertiefen, sowie die Voraussetzungen für die darauf aufbauende Entwicklung neuer Therapien zu schaffen. Hierbei wurden zunächst die HIF-1 regulierten Gene Hexokinase II (Mergenthaler et al., 2012) und p21^{WAF1/CIP1} (Mergenthaler et al., 2013b) untersucht. Insbesondere für das Glukose-phosphorylierende Enzym Hexokinase II zeigte sich eine entscheidende Funktion in der Regulation von neuronalem Zellüberleben und Zelltod nach metabolischem Stress. In weiteren Arbeiten wurde die Bedeutung des neuronalen Mikromilieus in der Nervenzellkultur für die Regulation des neuronalen Glukosestoffwechsels (Sünwoldt et al., 2017) und die Expression von Dopaminrezeptoren auf Mikroglia, welche nach Aktivierung direkt oder indirekt neuronalen Zelltod vermitteln können, im Schlaganfall untersucht (Huck et al., 2015). Abschließend wurden neu entwickelte *small molecule* Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren der proapoptotisch wirkenden Oligomerisierung der Proteine Bax und Bak beschrieben und nachgewiesen, dass diese Substanzen neuronalen Zelltod nach exzitotoxischer Stimulation verhindern können und somit eine neue mögliche Entwicklungsperspektive für diese Substanzklasse als Therapieoption im Schlaganfall darstellen (Niu et al., 2017).

Die Entwicklung neuer Therapieoptionen des Schlaganfalls stellt einen erheblichen medizinischen Bedarf dar. Während die Versorgung von Schlaganfallpatienten in der akuten und subakuten Phase mit Thrombolyse oder Thrombektomie sowie der Behandlung auf spezialisierten Schlaganfallstationen in den letzten zwei Dekaden zu einer deutlichen Abnahme der Schlaganfallmortalität und –morbidity in den westlichen Industrienationen geführt haben (Feigin et al., 2014), ist die Schlaganfallinzidenz weiterhin hoch und wird mit steigender Lebenserwartung weiterhin ansteigen (Heuschmann et al., 2010). Daher ist die Entwicklung neuer, auf verschiedensten

pathophysiologischen Mechanismen (Mergenthaler et al., 2004; Dirnagl et al., 2009; Moskowitz et al., 2010) aufbauenden Therapiestrategien zur Behandlung des Schlaganfalls erforderlich. Dabei stellen präklinische Targetvalidierung und robuste präklinische Studien einen wichtigen Schritt zur erfolgreichen Translation dar (Mergenthaler und Meisel, 2012; Dirnagl und Endres, 2014; Macleod et al., 2014; Mergenthaler und Meisel, 2015).

Das Gehirn ist nahezu ausschließlich von durch Glukose erzeugter Energie für seine grundlegenden Funktionen abhängig (Mergenthaler et al., 2013a). Der hohe Energiebedarf des Gehirns macht es anfällig für akute neurodegenerative Erkrankungen bei denen diese Energieversorgung, wie z.B. im Schlaganfall, ausbleibt (Dirnagl et al., 2009; Moskowitz et al., 2010; Mergenthaler et al., 2013a). Während die grundlegenden enzymatischen Vorgänge und Stoffwechselprozesse des Glukosekatabolismus bereits in den 1930er und 1940er Jahren entdeckt wurden, ist das Wissen über die Rolle von Enzymen des Glukosestoffwechsels oder einzelner Metabolite für die Regulation von Zellschicksal im Gehirn noch unterentwickelt (Mergenthaler et al., 2013a; Yellen, 2018). Ebenso wenig verstanden ist, wie Zelltodmediatoren Stoffwechselprozesse steuern, wie sich diese Signalkaskaden überlappen oder zusammenhängend reguliert sind und welche Rolle Glukose metabolisierende Enzyme in diesem Kontext über ihre biochemische Funktion hinaus spielen (Plas und Thompson, 2002; Buchakjian und Kornbluth, 2010; Mergenthaler et al., 2013a).

Die Hexokinase II (HKII) ist eines von vier Isoenzymen mit gewebespezifischem Expressionsprofil, deren biochemische Funktion in der Phosphorylierung von Glukose zu Glukose-6-Phosphat besteht (Abbildung 2).

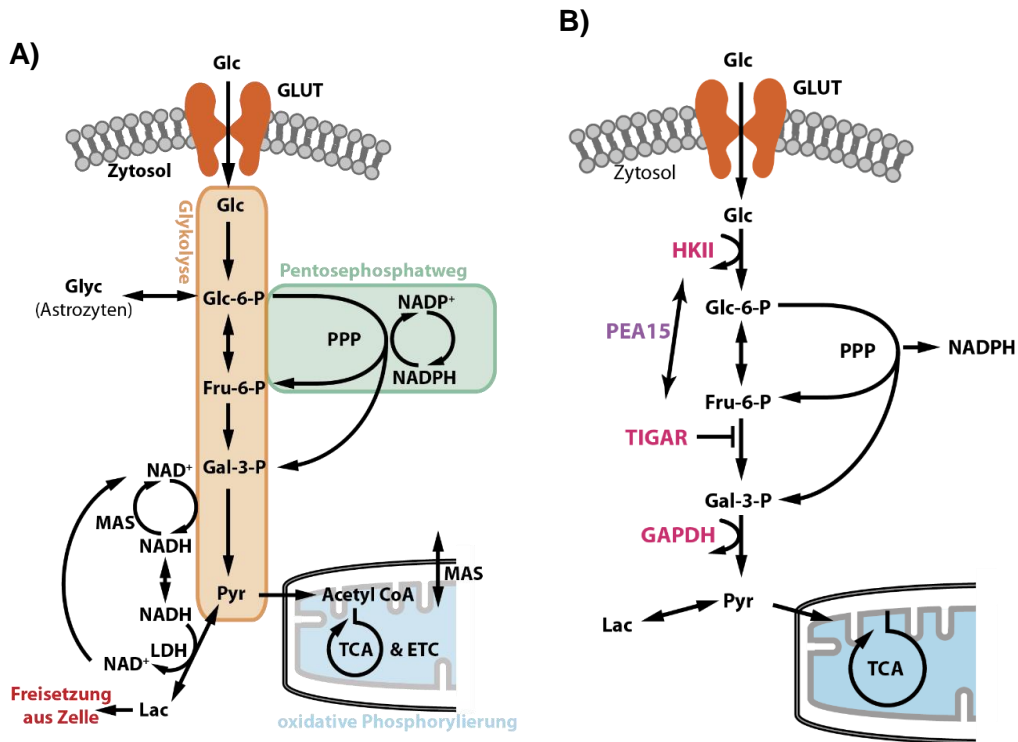


Abbildung 2: (A) Die wichtigsten Signalwege des Glukosestoffwechsels. Hexokinase (HK) verwendet ATP, um Glukose (Glc) zu Glukose-6-phosphat (Glc-6-P) zu phosphorylieren. Glc-6-P kann sowohl über die glykolytische Kaskade als auch durch oxidative Phosphorylierung verstoffwechselt werden. Wenn der glykolytische Fluss die Rate des Malat-Aspartat-Shuttles (MAS) oder die des Tricarbonsäure (TCA)-Zyklus übersteigt, oder wenn hypoxische oder anoxische Bedingungen vorliegen, wird Pyruvat (Pyr) durch die Laktatdehydrogenase (LDH) in Laktat (Lac) umwandelt, welches aus der Zelle freigesetzt wird. Glc-6-P kann auch in den Pentosephosphatweg (PPP) eintreten, um NADPH als Vorläufer für die Nukleinsäurebiosynthese und zum Management von oxidativem Stress und zu erzeugen. In Astrozyten kann Glc-6-P zusätzlich in Glykogen (Glyc) überführt werden.

(B) Glukosemetabolisierende Enzyme, darunter Hexokinase II (HKII), Glukokinase, der Fruktose-2,6-Bisphosphatase Tp53-induzierte Glykolyse und Apoptose-Regulator (TIGAR), Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) sind an der Regulation des Zelltods durch verschiedene Mechanismen beteiligt. *Phosphoprotein-enriched in astrocytes* (PEA15) könnte unter bestimmten Bedingungen als molekularer Linker zwischen HKII und TIGAR fungieren. Der Fluss durch den PPP erzeugt NADPH, das für die neuronale Redox-Umgebung wichtig ist und den Zelltod hemmt.

GLUT – Glukose Transporter, Fru-6-P – Fruktose-6-Phosphat, Gal-3-P – Glycerinaldehyd-3-phosphat, ETC – Elektronentransportkette. Abbildung reproduziert mit Modifikationen und Bildunterschrift übersetzt nach Mergenthaler et al., 2013a.

In den eigenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Hexokinase II darüber hinaus eine zentrale Funktion in der Verknüpfung von Glukosestoffwechsel und Zelltodregulation darstellt (Mergenthaler et al., 2012). Hierbei fungiert die Hexokinase II als molekularer Schalter, der zusammen mit dem Interaktionspartner *phosphoprotein enriched in astrocytes* (PEA15) das Überleben von Zellen in Abhängigkeit von ihrem Stoffwechselzustand reguliert

(Mergenthaler et al., 2012). Interessanterweise wird in Neuronen die Hexokinase II, nicht aber die biochemisch im Gehirn vorherrschende Hexokinase I, mittels Präkonditionierung durch den Transkriptionsfaktor Hypoxie-induzierbarer Faktor (HIF)-1 hochreguliert. Die Überexpression der Hexokinase II schützte dabei primäre Neurone vor Zelltod nach Hypoxie und Sauerstoff-Glukose-Deprivation, während unter Glukosedepression, ähnlich wie bei zytosolischer Lokalisation der Hexokinase II, neuronaler Zelltod verstärkt wurde. Die protektive Funktion der Hexokinase II scheint also an ihre glykolytische Aktivität, mitochondriale Lokalisation sowie die Interaktion mit PEA15, und möglicherweise weiteren Interaktionspartnern, gekoppelt zu sein (Mergenthaler et al., 2012). Diese Interpretation wird gestützt durch Arbeiten, die nicht nur eine mitochondriale Bindung der eigentlich exklusiv zytosolisch vorliegenden Glukokinase (Hexokinase IV) durch Interaktion mit dem Protein *BCL-2 antagonist of cell death* (BAD) in einem Multiproteinkomplex nachweisen konnten, sondern auch eine Modulation der Apoptose in der Leber und den β -Zellen des Pankreas durch die Interaktion der Glukokinase und BAD als Reaktion auf Veränderungen des Glukosespiegels nachwies (Danial et al., 2003; Danial et al., 2008). Die Aktivierung von Hexokinase II ist ebenfalls aus dem Expressionsprofil maligner Tumore bekannt, bei denen die Hexokinase II für den Warburg Effekt, also der Bevorzugung der Glykolyse gegenüber der oxidativen Phosphorylierung trotz ausreichender Verfügbarkeit von Sauerstoff (Warburg et al., 1927), verantwortlich gemacht wird (Kim und Dang, 2005; Robey und Hay, 2006).

Die in den eigenen Arbeiten beschriebenen Mechanismen stehen dabei paradigmatisch für den Effekt einer dysregulierten metabolischen Funktion in Nervenzellen und Signalnetzwerken des Gehirns im Alterungsprozess und insbesondere bei chronischer Neurodegeneration (Kapogiannis und Mattson, 2011). So ist zum Beispiel ein verminderter zerebraler Glukosemetabolismus eines der ersten bildgebenden Zeichen einer beginnenden Alzheimer Demenz (Cutler et al., 1985; Kapogiannis und Mattson, 2011). Experimentelle Befunde zeigten darüber hinaus, dass eine gestörte metabolische Versorgung von

Axonen im zentralen wie im peripheren Nervensystem zu Neurodegeneration führt (Funfschilling et al., 2012; Lee et al., 2012).

Neben der Relevanz für neurobiologische Funktion und die molekulare Pathophysiologie akuter und chronischer Neurodegeneration hat der in dieser Arbeit beschriebene Mechanismus der Zelltodregulation bzw. des Zellschicksals durch Enzyme des Glukosestoffwechsels eine grundlegende biologische Bedeutung. So ist mittlerweile bekannt, dass nahezu alle Zellen des innten und adaptiven Immunsystems funktionell durch Veränderungen des Glukosestoffwechsels reguliert, aktiviert oder zur Differenzierung stimuliert werden können und dass den Enzymen des Glukosestoffwechsels hierbei eine zentrale Funktion zukommt (Pearce et al., 2013; Buck et al., 2017). Auf eine ähnliche Art scheint der Glukosestoffwechsel auch in die Reprogrammierung somatischer Zellen zu induzierten pluripotenten Stammzellen sowie in die Stammzellendifferenzierung involviert zu sein (Wu et al., 2016). In Tumorzellen, welche durch den Warburg-Effekt (Warburg et al., 1927) einen grundlegend unterschiedlichen metabolischen Phänotyp im Vergleich zu ihrem Ursprungsgewebe aufweisen, spielt der in dieser Arbeit beschriebene Mechanismus der Zelltodregulation durch Enzyme des Glukosestoffwechsels eine zentrale Rolle (Mathupala et al., 2010; Hay, 2016). Es scheinen sogar gleichartig regulierte Mechanismen in Nerven- und Tumorzellen zum Schutz vor Apoptose zu existieren, welche über den Glukosemetabolismus den Redox-Zustand von Cytochrom C beeinflussen (Vaughn und Deshmukh, 2008).

Die Möglichkeit, die beschriebenen metabolischen Mechanismen therapeutisch zu nutzen, sind dabei Gegenstand der aktuellen eigenen Forschung. Eine wichtige Voraussetzung dafür ist die genaue Modellierung der Stoffwechselvorgänge in kultivierten Nervenzellen. In dieser Hinsicht konnten wir zeigen, dass verschiedene gebräuchliche Kulturbedingungen den Glukosestoffwechsel von Neuronen beeinflussen und zur Bevorzugung der oxidativen Phosphorylierung oder der Glykolyse beitragen können (Sünwoldt et

al., 2017). Diese Arbeit beleuchtete dabei auch eine mögliche Erklärung der vorherrschenden Kontroverse über die von Nervenzellen bevorzugten metabolischen Substrate Glukose oder Laktat. Die Hypothese des Astrozyten-zu-Neuronen-Laktat Shuttles (Pellerin und Magistretti, 2012; Magistretti und Allaman, 2018), nach der Glukose bevorzugt von Astrozyten zur Bereitstellung von Laktat als primäres Substrat von Neuronen verwendet wird, steht dabei im Kontrast zu Daten, die eine direkte Metabolisierung von Glukose durch Neurone nahelegen (Dienel, 2012; Mergenthaler et al., 2013a; Lundgaard et al., 2015; Yellen, 2018; Dienel, 2019).

Obwohl sich metabolische Mechanismen, insbesondere der Glukosemetabolismus, mittlerweile als wichtige Regulatoren im Immunsystem etabliert haben (Pearce und Pearce, 2013; Tomar und De, 2014), ist über die Bedeutung metabolischer Dysbalance für die Schlaganfall-assoziierte Immunantwort nichts bekannt. Allerdings scheinen inflammatorische Zellen selbst im ischämischen Schlaganfallkerngebiet über einen ausgeprägten Glukosestoffwechsel zu verfügen (Backes et al., 2016). Neben peripheren Immunzellen spielen auch Mikroglia, die Zellen des innatens Immunsystems im Gehirn (Prinz und Priller, 2014), sowohl für die Vermittlung destruktiver als auch regenerativer Vorgänge nach dem Schlaganfall eine bedeutende Rolle (Chamorro et al., 2012). Hierbei werden Mikroglia durch inflammatorische Vorgänge im ischämischen Gewebe aktiviert. Eine Möglichkeit, die postischämische Inflammation therapeutisch zu beeinflussen scheint dabei die Modulation von Neurotransmitter-Rezeptoren, insbesondere des Dopaminrezeptors D2R, von Mikroglia zu sein (Huck et al., 2015). So wurde durch Dopamin und den Dopamin D2 Rezeptoragonist Quinpirol die Migration von Mikroglia *in vitro* gesteigert und die Freisetzung von Stickstoffmonoxid nach LPS Stimulation gehemmt (Farber et al., 2005). In den eigenen Arbeiten konnten wir dabei nicht nur die Neuexpression von D2R auf Mikroglia nach Schlaganfall in einem Mausmodell nachweisen, sondern auch zeigen, dass die Behandlung mit dem Dopaminagonisten Pramipexol zu einer Aktivierung kultivierter Mikroglia

führt (Huck et al., 2015). Interessanterweise führte die Behandlung mit Levodopa in experimentellen Modellen (Ruscher et al., 2012) ebenso wie in klinischen Studien zu einem verbesserten funktionellen Outcome nach Schlaganfall (Scheidtmann et al., 2001).

Endogene neuroprotektive Mechanismen werden seit langem als mögliche therapeutische Targets des Schlaganfalls untersucht (Dirnagl et al., 2009). Ein zentraler Regulator dieser Mechanismen stellt der Transkriptionsfaktor Hypoxie-induzierbarer Faktor (HIF)-1 dar (Mergenthaler und Dirnagl, 2011; Semenza, 2011). Neben der Hexokinase II (Kim et al., 2007; Mergenthaler et al., 2012) stellt auch der Cyclin-abhängige Kinaseinhibitor 1, p21^{WAF1/CIP1}, ein HIF-1 Targetgen dar, das nach Schlaganfall im Gehirn exprimiert wird (Tomasevic et al., 1999). In unseren eigenen Experimenten konnten wir eine essentielle Rolle von p21^{WAF1/CIP1} für die neuronale Präkonditionierung nachweisen. Weiterhin gibt es Hinweise, dass die Überexpression von p21^{WAF1/CIP1} vor apoptotischem Zelltod unter neurotoxischen Bedingungen schützen kann (Harms et al., 2007). Allerdings war die post-transkriptionelle Regulation von p21^{WAF1/CIP1} für die Neuroprotektion in einem Ischämiemodell von größerer Bedeutung als die reine Überexpression (Mergenthaler et al., 2013b), so dass die biologische Funktion von p21^{WAF1/CIP1} in diesem Kontext komplex ist.

Die Apoptose kann durch eine Vielzahl von Signalkaskaden reguliert werden. Im Allgemeinen stellen direkte Protein-Protein-Interaktionen wichtige Vermittler der zellulären Signalübertragung dar. Im Falle der Apoptoseregulation werden pro- und anti-apoptotische Mechanismen durch direkte Protein-Protein-Interaktionen der Bcl-2 Familie vermittelt (Kale et al., 2018). Protein-Protein-Interaktionen stellen eine herausfordernde Klasse therapeutischer Targets dar und werden sogar als „*undruggable*“ angesehen. Nichtsdestotrotz sind mittlerweile eine Reihe kleiner Moleküle (*small molecules*) als Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren in verschiedenen Stadien der klinischen Prüfung (Scott et al., 2016). So wurde beispielsweise ABT-199 (Venetoclax, AbbVie), das die Bindung des anti-apoptotischen Bcl2-Proteins an Mitglieder der pro-

apoptotischen Bcl2-Familie hemmt und dadurch Tumorzellen zur Apoptoseinduktion anregt, 2016 in den USA und Europa für die Behandlung der therapieresistenten chronischen lymphatischen Leukämie zugelassen bzw. bedingt zugelassen. Unsere eigenen Daten zeigten, dass die mitochondriale Bax/Bak-Oligomerisierung in primären kortikalen Neuronen der Maus durch das *small molecule* MSN-125 verhindert werden kann und Neurone vor Zelltod nach Glutamat-induzierter Exzitotoxizität schützt (Niu et al., 2017). Diese Untersuchungen zeigten auch, dass die direkte pharmakologische Hemmung von pro-apoptotischem Bax und Bak möglich ist und die Hemmung von Bax/Bak einen möglichen therapeutischen Nutzen aufweist. Die weitere Untersuchung von Bax und Bak als mögliches therapeutisches Target im Schlaganfall wird durch genetische Mausmodelle unterstützt, die ein verbessertes Outcome von Bax Knockout-Mäusen nach Schlaganfall zeigten (D'Orsi et al., 2015).

Zusammenfassend ergeben sich aus den hier diskutierten eigenen Arbeiten neue Ansätze für die experimentelle Schlaganfallforschung und die Entwicklung neuer therapeutischer Targets für die Behandlung des Schlaganfalls. Auch wenn gegenwärtig die niedrige pharmakologische Potenz von MSN-125 einer Anwendung *in vivo* entgegensteht (Niu et al., 2017), ergeben sich hier konkrete Ausblicke für zukünftige Arbeiten. Das im Rahmen der eigenen Arbeiten identifizierte Prinzip der Zelltodregulation durch Enzyme des Glukosemetabolismus, wie der Hexokinase II (Mergenthaler et al., 2012), zeigt ein grundlegendes biologisches Prinzip, mit dem eine Verbindung zwischen metabolischen Signalwegen und Zelltodprozessen besteht, auf. Diese Arbeit und die daraus abgeleiteten Mechanismen haben daher über den Schlaganfall hinausgehende Implikationen und sind u.a. ebenso für das Verständnis chronisch neurodegenerativer Erkrankungen, wie für die Stammzell-, Immun-, oder Tumorbologie von grundlegender Bedeutung (Plas und Thompson, 2002; Buchakjian und Kornbluth, 2010; Mergenthaler et al., 2013a; Pearce und Pearce, 2013; Wu et al., 2016).

4. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war das Verständnis der molekularen Pathophysiologie des Schlaganfalls, insbesondere bezüglich eines Zusammenhangs von Signalkaskaden des Glukosestoffwechsels und der Zelltodregulation, zu vertiefen und Voraussetzungen für eine, auf den untersuchten Mechanismen aufbauende Entwicklung neuer Therapien zu schaffen.

Aus den hier diskutierten eigenen Arbeiten ergeben sich sowohl neue Ansätze für die experimentelle Schlaganfallforschung als auch für die Entwicklung neuer therapeutischer Targets für die Behandlung des Schlaganfalls. Einen konkreten und neuen Ansatz liefert dabei die Inhibition der pro-apoptischen Oligomerisierung von Bak/Bak durch im Rahmen der eigenen Arbeiten entwickelte *small molecule* Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren.

Das Prinzip der Zelltodregulation durch Enzyme des Glukosemetabolismus, wie der in den eigenen Arbeiten untersuchten Hexokinase II, hat dabei eine über den Schlaganfall hinausreichende fundamentale biologische Bedeutung. Die aus dieser Arbeit abgeleiteten Mechanismen weisen auf einen grundlegenden biologischen Mechanismus in der Verbindung von Glukosemetabolismus und Zelltodregulation und haben nicht nur eine entscheidende Bedeutung für das Verständnis akuter und chronischer neurodegenerativer Erkrankungen, sondern sind darüber hinaus auch von zentraler Relevanz für die Regulation des Immunsystems, die Stammzellbiologie und für Tumorerkrankungen.

5. Übersicht der in dieser Habilitationsschrift zusammengefassten Veröffentlichungen

Mergenthaler P, Kahl A, Kamitz A, van Laak V, Stohlmann K, Thomsen S, Klawitter H, Przesdzing I, Neeb L, Freyer D, Priller J, Collins TJ, Megow D, Dirnagl U, Andrews DW, Meisel A. (2012) Mitochondrial hexokinase II (HKII) and phosphoprotein enriched in astrocytes (PEA15) form a molecular switch governing cellular fate depending on the metabolic state. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(5):1518-23.

doi: [10.1073/pnas.1108225109](https://doi.org/10.1073/pnas.1108225109).

Mergenthaler P, Muselmann C, Sünwoldt J, Isaev NK, Wieloch T, Dirnagl U, Meisel A, Ruscher K. (2013) A functional role of the cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (p21(WAF1/CIP1)) for neuronal preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab*, 33(3):351-5.

doi:[10.1038/jcbfm.2012.213](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.213).

Huck JH, Freyer D, Böttcher C, Mladinov M, Muselmann-Genschow C, Thielke M, Gladow N, Bloomquist D, **Mergenthaler P***, Priller J*. (2015) De novo expression of dopamine D2 receptors on microglia after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 35(11):1804-11. (*geteilte Letztautorenschaft). doi:[10.1038/jcbfm.2015.128](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.128).

Sünwoldt J, Bosche B, Meisel A, **Mergenthaler P**. (2017) Neuronal Culture Microenvironments Determine Preferences in Bioenergetic Pathway Use. *Front Mol Neurosci*, 10:305.

doi: [10.3389/fnmol.2017.00305](https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00305).

Niu X*, Brahmabhatt H*, **Mergenthaler P***, Zhang Z, Sang J, Daude M, Ehlert FGR, Diederich WE, Wong E, Zhu W, Pogmore J, Nandy JP, Satyanarayana M, Jimmidi RK, Arya P, Leber B, Lin J, Culmsee C, Yi J, Andrews DW. (2017) A Small-Molecule Inhibitor of Bax and Bak Oligomerization Prevents Genotoxic Cell Death and Promotes

Neuroprotection. *Cell Chem Biol*, 24(4):493-506.e5. (*geteilte
Erstautorenschaft), doi: [10.1016/j.chembiol.2017.03.011](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.03.011).

6. Literaturangaben

- Adibhatla RM, Hatcher JF (2010). Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 12, 125-169.
- Alle H, Roth A, Geiger JR (2009). Energy-efficient action potentials in hippocampal mossy fibers. *Science* 325, 1405-1408.
- Astrup J, Siesjo BK, Symon L (1981). Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* 12, 723-725.
- Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA (2010). Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 468, 232-243.
- Backes H, Walberer M, Ladwig A, Rueger MA, Neumaier B, Endepols H, Hoehn M, Fink GR, Schroeter M, Graf R (2016). Glucose consumption of inflammatory cells masks metabolic deficits in the brain. *Neuroimage* 128, 54-62.
- Buchakjian MR, Kornbluth S (2010). The engine driving the ship: metabolic steering of cell proliferation and death. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11, 715-727.
- Buck MD, Sowell RT, Kaech SM, Pearce EL (2017). Metabolic Instruction of Immunity. *Cell* 169, 570-586.
- Button KS, Ioannidis JP, Mokrysz C, Nosek BA, Flint J, Robinson ES, Munafò MR (2013). Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 14, 365-376.
- Chamorro A, Meisel A, Planas AM, Urra X, Van De Beek D, Velthkamp R (2012). The immunology of acute stroke. *Nat Rev Neurol* 8, 401-410.
- Cutler NR, Haxby JV, Duara R, Grady CL, Kay AD, Kessler RM, Sundaram M, Rapoport SI (1985). Clinical history, brain metabolism, and neuropsychological function in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 18, 298-309.
- D'orsi B, Bonner H, Tuffy LP, Dussmann H, Woods I, Courtney MJ, Ward MW, Prehn JH (2012). Calpains are downstream effectors of bax-dependent excitotoxic apoptosis. *J Neurosci* 32, 1847-1858.
- D'orsi B, Kilbride SM, Chen G, Perez Alvarez S, Bonner HP, Pfeiffer S, Plesnila N, Engel T, Henshall DC, Dussmann H, Prehn JH (2015). Bax regulates neuronal Ca²⁺ homeostasis. *J Neurosci* 35, 1706-1722.

- Danial NN, Gramm CF, Scorrano L, Zhang CY, Krauss S, Ranger AM, Datta SR, Greenberg ME, Licklider LJ, Lowell BB, Gygi SP, Korsmeyer SJ (2003). BAD and glucokinase reside in a mitochondrial complex that integrates glycolysis and apoptosis. *Nature* 424, 952-956.
- Danial NN, Korsmeyer SJ (2004). Cell death: critical control points. *Cell* 116, 205-219.
- Danial NN, Walensky LD, Zhang CY, Choi CS, Fisher JK, Molina AJ, Datta SR, Pitter KL, Bird GH, Wikstrom JD, Deeney JT, Robertson K, Morash J, Kulkarni A, Neschen S, Kim S, Greenberg ME, Corkey BE, Shirihai OS, Shulman GI, Lowell BB, Korsmeyer SJ (2008). Dual role of proapoptotic BAD in insulin secretion and beta cell survival. *Nat Med* 14, 144-153.
- Dienel GA (2012). Brain lactate metabolism: the discoveries and the controversies. *J Cereb Blood Flow Metab* 32, 1107-1138.
- Dienel GA (2019). Brain Glucose Metabolism: Integration of Energetics with Function. *Physiol Rev* 99, 949-1045.
- Dirnagl U, Becker K, Meisel A (2009). Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use. *Lancet Neurol* 8, 398-412.
- Dirnagl U, Endres M (2014). Found in translation: preclinical stroke research predicts human pathophysiology, clinical phenotypes, and therapeutic outcomes. *Stroke* 45, 1510-1518.
- Dirnagl U, Fisher M (2012). International, multicenter randomized preclinical trials in translational stroke research: It's time to act. *J Cereb Blood Flow Metab* 32, 933-935.
- Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA (1999). Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 22, 391-397.
- Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM (2008). Stroke. *Lancet* 371, 1612-1623.
- Dreier JP (2011). The role of spreading depression, spreading depolarization and spreading ischemia in neurological disease. *Nat Med* 17, 439-447.
- Dreier JP, Reiffurth C (2015). The stroke-migraine depolarization continuum. *Neuron* 86, 902-922.
- Engel T, Plesnila N, Prehn JH, Henshall DC (2011). In vivo contributions of BH3-only proteins to neuronal death following seizures, ischemia, and traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 31, 1196-1210.

- Farber K, Pannasch U, Kettenmann H (2005). Dopamine and noradrenaline control distinct functions in rodent microglial cells. *Mol Cell Neurosci* 29, 128-138.
- Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, Moran AE, Sacco RL, Anderson L, Truelsen T, O'donnell M, Venketasubramanian N, Barker-Collo S, Lawes CM, Wang W, Shinohara Y, Witt E, Ezzati M, Naghavi M, Murray C, Global Burden of Diseases I, Risk Factors S, The GBDSEG (2014). Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 383, 245-254.
- Feuerstein D, Backes H, Gramer M, Takagaki M, Gabel P, Kumagai T, Graf R (2016). Regulation of cerebral metabolism during cortical spreading depression. *J Cereb Blood Flow Metab* 36, 1965-1977.
- Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C (1988). Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science* 241, 462-464.
- Fricker M, Tolkovsky AM, Borutaite V, Coleman M, Brown GC (2018). Neuronal Cell Death. *Physiol Rev* 98, 813-880.
- Funfschilling U, Supplie LM, Mahad D, Boretius S, Saab AS, Edgar J, Brinkmann BG, Kassmann CM, Tzvetanova ID, Mobius W, Diaz F, Meijer D, Suter U, Hamprecht B, Sereda MW, Moraes CT, Frahm J, Goebbels S, Nave KA (2012). Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. *Nature* 485, 517-521.
- Gelderblom M, Leyboldt F, Steinbach K, Behrens D, Choe CU, Siler DA, Arumugam TV, Orthey E, Gerloff C, Tolosa E, Magnus T (2009). Temporal and spatial dynamics of cerebral immune cell accumulation in stroke. *Stroke* 40, 1849-1857.
- Gordon GR, Choi HB, Rungta RL, Ellis-Davies GC, Macvicar BA (2008). Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature* 456, 745-749.
- Gordon GR, Howarth C, Macvicar BA (2011). Bidirectional control of arteriole diameter by astrocytes. *Exp Physiol* 96, 393-399.
- Green DR (2005). Apoptotic pathways: ten minutes to dead. *Cell* 121, 671-674.
- Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, Brozman M, Davalos A, Guidetti D, Larrue V, Lees KR, Medeghri Z, Machnig T, Schneider D, Von Kummer R,

- Wahlgren N, Toni D, Investigators E (2008). Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 359, 1317-1329.
- Harms C, Albrecht K, Harms U, Seidel K, Hauck L, Baldinger T, Hubner D, Kronenberg G, An J, Ruscher K, Meisel A, Dirnagl U, Von Harsdorf R, Endres M, Hortnagl H (2007). Phosphatidylinositol 3-Akt-kinase-dependent phosphorylation of p21(Waf1/Cip1) as a novel mechanism of neuroprotection by glucocorticoids. *J Neurosci* 27, 4562-4571.
- Harris H, Rubinsztein DC (2012). Control of autophagy as a therapy for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 8, 108-117.
- Hay N (2016). Reprogramming glucose metabolism in cancer: can it be exploited for cancer therapy? *Nat Rev Cancer* 16, 635-649.
- Heiss WD, Zarow Weber O (2017). Validation of MRI Determination of the Penumbra by PET Measurements in Ischemic Stroke. *J Nucl Med* 58, 187-193.
- Hertz L, Gibbs ME (2009). What learning in day-old chickens can teach a neurochemist: focus on astrocyte metabolism. *Journal of neurochemistry* 109 Suppl 1, 10-16.
- Hetz C, Vitte PA, Bombrun A, Rostovtseva TK, Montessuit S, Hiver A, Schwarz MK, Church DJ, Korsmeyer SJ, Martinou JC, Antonsson B (2005). Bax channel inhibitors prevent mitochondrion-mediated apoptosis and protect neurons in a model of global brain ischemia. *J Biol Chem* 280, 42960-42970.
- Heuschmann PU, Busse O, Wagner M, Endres M, Villringer A, Röther J, Kolominsky-Rabas PL, Berger K, Für Das Kompetenznetz Schlaganfall DDSGSDSDS-H (2010). Schlaganfallhäufigkeit und Versorgung von Schlaganfallpatienten in Deutschland. *Akt Neurol* 37, 333-340.
- Holman C, Piper SK, Grittner U, Diamantaras AA, Kimmelman J, Siegerink B, Dirnagl U (2016). Where Have All the Rodents Gone? The Effects of Attrition in Experimental Research on Cancer and Stroke. *Plos Biology* 14.
- Huck JH, Freyer D, Bottcher C, Mladinov M, Muselmann-Genschow C, Thielke M, Gladow N, Bloomquist D, Mergenthaler P, Priller J (2015). De novo expression of dopamine D2 receptors on microglia after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 35, 1804-1811.

- Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW (2018). BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ* 25, 65-80.
- Kapogiannis D, Mattson MP (2011). Disrupted energy metabolism and neuronal circuit dysfunction in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 10, 187-198.
- Karch J, Kwong JQ, Burr AR, Sargent MA, Elrod JW, Peixoto PM, Martinez-Caballero S, Osinska H, Cheng EH, Robbins J, Kinnally KW, Molkenin JD (2013). Bax and Bak function as the outer membrane component of the mitochondrial permeability pore in regulating necrotic cell death in mice. *Elife* 2, e00772.
- Kim JW, Dang CV (2005). Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci* 30, 142-150.
- Kim JW, Gao P, Liu YC, Semenza GL, Dang CV (2007). Hypoxia-inducible factor 1 and dysregulated c-Myc cooperatively induce vascular endothelial growth factor and metabolic switches hexokinase 2 and pyruvate dehydrogenase kinase 1. *Mol Cell Biol* 27, 7381-7393.
- Lauritzen M, Dreier JP, Fabricius M, Hartings JA, Graf R, Strong AJ (2011). Clinical relevance of cortical spreading depression in neurological disorders: migraine, malignant stroke, subarachnoid and intracranial hemorrhage, and traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 31, 17-35.
- Lee Y, Morrison BM, Li Y, Lengacher S, Farah MH, Hoffman PN, Liu Y, Tsingalia A, Jin L, Zhang PW, Pellerin L, Magistretti PJ, Rothstein JD (2012). Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration. *Nature* 487, 443-448.
- Liotta A, Rosner J, Huchzermeyer C, Wojtowicz A, Kann O, Schmitz D, Heinemann U, Kovacs R (2012). Energy demand of synaptic transmission at the hippocampal Schaffer-collateral synapse. *J Cereb Blood Flow Metab* 32, 2076-2083.
- Lundgaard I, Li B, Xie L, Kang H, Sanggaard S, Haswell JD, Sun W, Goldman S, Blekot S, Nielsen M, Takano T, Deane R, Nedergaard M (2015). Direct neuronal glucose uptake heralds activity-dependent increases in cerebral metabolism. *Nat Commun* 6, 6807.

- Macleod MR, Michie S, Roberts I, Dirnagl U, Chalmers I, Ioannidis JP, Al-Shahi Salman R, Chan AW, Glasziou P (2014). Biomedical research: increasing value, reducing waste. *Lancet* 383, 101-104.
- Magistretti PJ, Allaman I (2018). Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule. *Nat Rev Neurosci* 19, 235-249.
- Markus R, Reutens DC, Kazui S, Read S, Wright P, Pearce DC, Tochon-Danguy HJ, Sachinidis JI, Donnan GA (2004). Hypoxic tissue in ischaemic stroke: persistence and clinical consequences of spontaneous survival. *Brain* 127, 1427-1436.
- Mathupala SP, Ko YH, Pedersen PL (2010). The pivotal roles of mitochondria in cancer: Warburg and beyond and encouraging prospects for effective therapies. *Biochim Biophys Acta* 1797, 1225-1230.
- Mergenthaler P, Dirnagl U (2011). Protective conditioning of the brain: expressway or roadblock? *J Physiol* 589, 4147-4155.
- Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A (2004). Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. *Metab Brain Dis* 19, 151-167.
- Mergenthaler P, Kahl A, Kamitz A, Van Laak V, Stohmann K, Thomsen S, Klawitter H, Przesdzing I, Neeb L, Freyer D, Priller J, Collins TJ, Megow D, Dirnagl U, Andrews DW, Meisel A (2012). Mitochondrial hexokinase II (HKII) and phosphoprotein enriched in astrocytes (PEA15) form a molecular switch governing cellular fate depending on the metabolic state. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 1518-1523.
- Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A (2013a). Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends Neurosci* 36, 587-597.
- Mergenthaler P, Meisel A (2012). Do stroke models model stroke? *Dis Model Mech* 5, 718-725.
- Mergenthaler P, Meisel A (2015). "Animal Models: Value and Translational Potency," in *Principles of Translational Science in Medicine - From Bench to Bedside*, ed. M. Wehling. 2 ed (Amsterdam: Elsevier), 83-90.
- Mergenthaler P, Muselmann C, Sunwoldt J, Isaev NK, Wieloch T, Dirnagl U, Meisel A, Ruscher K (2013b). A functional role of the cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (p21(WAF1/CIP1)) for neuronal preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab* 33, 351-355.

- Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C (2010). The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron* 67, 181-198.
- Neher JJ, Neniskyte U, Zhao JW, Bal-Price A, Tolkovsky AM, Brown GC (2011). Inhibition of microglial phagocytosis is sufficient to prevent inflammatory neuronal death. *J Immunol* 186, 4973-4983.
- Niu X, Brahmabhatt H, Mergenthaler P, Zhang Z, Sang J, Daude M, Ehlert FGR, Diederich WE, Wong E, Zhu W, Pogmore J, Nandy JP, Satyanarayana M, Jimmidi RK, Arya P, Leber B, Lin J, Culmsee C, Yi J, Andrews DW (2017). A Small-Molecule Inhibitor of Bax and Bak Oligomerization Prevents Genotoxic Cell Death and Promotes Neuroprotection. *Cell Chem Biol* 24, 493-506 e495.
- Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, Bonafe A, Budzik RF, Bhuva P, Yavagal DR, Ribo M, Cognard C, Hanel RA, Sila CA, Hassan AE, Millan M, Levy EI, Mitchell P, Chen M, English JD, Shah QA, Silver FL, Pereira VM, Mehta BP, Baxter BW, Abraham MG, Cardona P, Veznedaroglu E, Hellinger FR, Feng L, Kirmani JF, Lopes DK, Jankowitz BT, Frankel MR, Costalat V, Vora NA, Yoo AJ, Malik AM, Furlan AJ, Rubiera M, Aghaebrahim A, Olivot JM, Tekle WG, Shields R, Graves T, Lewis RJ, Smith WS, Liebeskind DS, Saver JL, Jovin TG, Investigators DT (2018). Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *N Engl J Med* 378, 11-21.
- O'collins VE, Macleod MR, Donnan GA, Horky LL, Van Der Worp BH, Howells DW (2006). 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol* 59, 467-477.
- Pearce EL, Pearce EJ (2013). Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. *Immunity* 38, 633-643.
- Pearce EL, Poffenberger MC, Chang CH, Jones RG (2013). Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science* 342, 1242454.
- Pellerin L, Magistretti PJ (2012). Sweet sixteen for ANLS. *J Cereb Blood Flow Metab* 32, 1152-1166.
- Pietrobon D, Moskowitz MA (2014). Chaos and commotion in the wake of cortical spreading depression and spreading depolarizations. *Nat Rev Neurosci* 15, 379-393.

- Plas DR, Thompson CB (2002). Cell metabolism in the regulation of programmed cell death. *Trends Endocrinol Metab* 13, 75-78.
- Prinz M, Priller J (2014). Microglia and brain macrophages in the molecular age: from origin to neuropsychiatric disease. *Nat Rev Neurosci* 15, 300-312.
- Robey RB, Hay N (2006). Mitochondrial hexokinases, novel mediators of the antiapoptotic effects of growth factors and Akt. *Oncogene* 25, 4683-4696.
- Rolfe DF, Brown GC (1997). Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol Rev* 77, 731-758.
- Ruscher K, Kuric E, Wieloch T (2012). Levodopa treatment improves functional recovery after experimental stroke. *Stroke* 43, 507-513.
- Scheidtmann K, Fries W, Muller F, Koenig E (2001). Effect of levodopa in combination with physiotherapy on functional motor recovery after stroke: a prospective, randomised, double-blind study. *Lancet* 358, 787-790.
- Scott DE, Bayly AR, Abell C, Skidmore J (2016). Small molecules, big targets: drug discovery faces the protein-protein interaction challenge. *Nat Rev Drug Discov* 15, 533-550.
- Semenza GL (2011). Hypoxia-inducible factor 1: regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning. *Biochim Biophys Acta* 1813, 1263-1268.
- Simon RP (2006). Acidotoxicity trumps excitotoxicity in ischemic brain. *Arch Neurol* 63, 1368-1371.
- Simpson IA, Carruthers A, Vannucci SJ (2007). Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *J Cereb Blood Flow Metab* 27, 1766-1791.
- Sokoloff L (1999). Energetics of functional activation in neural tissues. *Neurochem Res* 24, 321-329.
- Sünwoldt J, Bosche B, Meisel A, Mergenthaler P (2017). Neuronal Culture Microenvironments Determine Preferences in Bioenergetic Pathway Use. *Front Mol Neurosci* 10, 305.
- Suzuki A, Stern SA, Bozdagi O, Huntley GW, Walker RH, Magistretti PJ, Alberini CM (2011). Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cell* 144, 810-823.

- Tomar N, De RK (2014). Cross talk between the metabolic and immune systems. *Methods Mol Biol* 1184, 13-21.
- Tomasevic G, Kamme F, Stubberod P, Wieloch M, Wieloch T (1999). The tumor suppressor p53 and its response gene p21WAF1/Cip1 are not markers of neuronal death following transient global cerebral ischemia. *Neuroscience* 90, 781-792.
- Vaughn AE, Deshmukh M (2008). Glucose metabolism inhibits apoptosis in neurons and cancer cells by redox inactivation of cytochrome c. *Nat Cell Biol* 10, 1477-1483.
- Warburg O, Wind F, Negelein E (1927). THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *The Journal of General Physiology* 8, 519-530.
- Wu J, Ocampo A, Belmonte JCI (2016). Cellular Metabolism and Induced Pluripotency. *Cell* 166, 1371-1385.
- Yellen G (2018). Fueling thought: Management of glycolysis and oxidative phosphorylation in neuronal metabolism. *J Cell Biol* 217, 2235-2246.

Danksagung

Beginnend möchte ich mich besonders bei meinem Mentor Herrn Professor Dr. Andreas Meisel bedanken, der mich stets freundschaftlich und vorbehaltlos gefördert und unterstützt hat und meine Begeisterung für die experimentelle Forschung weckte. Ohne ihn wäre eine Umsetzung meiner Arbeiten nicht möglich gewesen.

Herrn Professor Dr. Ulrich Dirnagl danke ich für seine Unterstützung meiner eigenständigen wissenschaftlichen Entwicklung, die frühe Gewährung großer wissenschaftlicher Freiräume und die stets wohlwollende und Kreativität-fördernde Diskussion mit ihm.

Herrn Professor Dr. Matthias Endres danke ich für seine Förderung, meine wissenschaftlichen und klinischen Kompetenzen gleichermaßen entwickeln zu können.

Herrn Professor Dr. David Andrews aus Toronto, meinem zweiten wissenschaftlichen Mentor, danke ich für die Aufnahme in sein Labor, die wohlwollende und freundschaftliche Zusammenarbeit, und kreative Diskussionen und gemeinsame Interessen auch weitab der Wissenschaft nun schon seit vielen Jahren.

Ein besonderer Dank gilt meinen Freunden, Kollegen und Mitarbeitern diesseits und jenseits des Atlantiks mit denen ich in den vergangenen Jahren zusammengearbeitet habe und die den Erfolg der gemeinsamen Arbeiten wesentlich geprägt haben.

Mein besonderer Dank gilt auch meinen Eltern und Brüdern für ihre immerwährende Unterstützung und Rat und Tat in allen Lebenslagen.

Schließlich gilt mein wohl größter Dank meiner Partnerin Nicole für ihre liebevolle Unterstützung, Geduld und Verständnis.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/ Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Datum

Unterschrift