

Berichte aus der Biologie

**Carsten Tober**

**Die Wirkungen von Riluzol auf das basale  
und Stimulus-evozierte Phosphorylierungsmuster  
in intakten Synaptosomen**

D 46 (Diss. Universität Bremen)

Shaker Verlag  
Aachen 2000

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

*Tober, Carsten:*

Die Wirkungen von Riluzol auf das basale und Stimulus-evozierte  
Phosphorylierungsmuster in intakten Synaptosomen / Carsten Tober.

- Als Ms. gedr. - Aachen : Shaker, 2000

(Berichte aus der Biologie)

Zugl.: Bremen, Univ., Diss., 1999

ISBN 3-8265-6899-0

Copyright Shaker Verlag 2000

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen  
oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungs-  
anlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Als Manuskript gedruckt. Printed in Germany.

ISBN 3-8265-6899-0

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 1290 • 52013 Aachen  
Telefon: 02407/95 96 - 0 • Telefax: 02407/95 96 - 9  
Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • eMail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

## Zusammenfassung

Riluzol (2-Amino-6-Trifluoromethoxybenzothiazol) ist ein antikonvulsiv wirkendes Pharmakon mit anästhetischer Potenz. Darüberhinaus erweist es sich auch in einer Reihe von Tiermodellen für akute und chronische neurodegenerative Krankheiten (wie z.B. Morbus Parkinson) sowie in der Behandlung von amyotropher Lateralsklerose beim Menschen als wirksam.

Frühe Studien legten nahe, daß die Wirksamkeit von Riluzol auf einem selektiven Eingriff in die exzitatorische Transmission beruht. Seither wird Riluzol in der Literatur etwas ungenau als Glutamatantagonist oder „antiglutaminerg“ bezeichnet. Als Hauptwirkmechanismus für diese „antiglutaminerge“ Eigenschaft Riluzols wird die Inhibition präsynaptischer Glutamatausschüttung als Folge der hochaffinen Bindung dieses Pharmakons an inaktivierte Natriumkanäle angenommen. Eine Reihe von Befunden legt jedoch die Vermutung nahe, daß weder Wirkort noch Wirkmechanismus hinreichend geklärt sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Aufklärung derjenigen präsynaptischen Riluzoleffekte, die zur Verminderung der Glutamatfreisetzung führen könnten: Dazu wurde der Effekt von Riluzol auf die basale und die Stimulus-evozierte Phosphorylierung von Dynamin IA bzw Synapsin Ib in intakten Synaptosomen aus dem cerebralen Cortex der Ratte untersucht. Beide Proteine sind an der Regulation der Transmitterfreisetzung beteiligt. Durch den Einsatz verschiedener Stimulierungsmethoden ist es möglich, verschiedene Wirkmechanismen voneinander zu unterscheiden: Das Calciumionophor A23187 sorgt für einen „unphysiologischen“ Calciumeintritt durch artifizielle Calciumkanäle, die Kaliumdepolarisation bewirkt Calciumeintritt durch physiologische Calciumkanäle, der Natriumkanalaktivator Veratridin und der Kaliumkanalblocker 4-Aminopyridin bewirken Calciumeintritt vermittelt über Natriumkanäle.

Intakte Synaptosomen, vorinkubiert mit  $^{33}\text{P}$ -Orthophosphat (45 min,  $37^\circ\text{C}$ ), wurden 10 min mit verschiedenen Konzentrationen von Riluzol (1 – 1000  $\mu\text{M}$ ) inkubiert. Die Proteine wurden entweder direkt mittels SDS-PAGE separiert oder nach Hinzufügen 1) des Natriumkanalaktivators Veratridin (30  $\mu\text{M}$ , 15 sec) oder 2) von 30 mM  $\text{K}^+$  (10 sec) oder 3) des Calciumionophores A23187 (40  $\mu\text{M}$ , 5 min) oder 4) des Kaliumkanalinhibitors 4-Aminopyridin (4-AP, 10 mM, 2 min). Die radioaktiv markierten Proteine wurden durch Autoradiographie sichtbar gemacht und mittels eines Laserdensitometers quantifiziert.

Riluzol (1 mM) reduzierte die basale Phosphorylierung von Synapsin Ib und Dynamin IA um etwa 10 %. Die Behandlungen 1) – 4) resultierten in verstärkter Synapsin Ib-Phosphorylierung und Dynamin IA-Dephosphorylierung.

Riluzol hatte keinen Einfluß auf die A23187-induzierten Phosphorylierungsänderungen sowie die 4-AP induzierte Dynamin I-Dephosphorylierung. Alle anderen evozierten Änderungen wurden konzentrationsabhängig von Riluzol abgeschwächt. Das Pharmakon hatte, abhängig vom Depolarisationsmechanismus, unterschiedliche Potenzen:  $EC_{50}$  von etwa 500  $\mu$ M bei der Kaliumdepolarisation, von etwa 40  $\mu$ M für Veratridin und etwa 7  $\mu$ M für 4-AP.

Die Ergebnisse zeigen, daß der Wirkmechanismus von Riluzol in bezug auf Phosphorylierungsreaktionen in Synaptosomen

1. vollständig beschränkt ist auf Prozesse vor dem Calciumeintritt
2. hinsichtlich der Inhibition von spannungsabhängigen Natriumkanälen bestätigt werden kann
3. sich nicht erschöpft in der Interaktion mit Natriumkanälen, sondern eine Inhibition von Calciumkanälen (höchstwahrscheinlich des P-Typs) als zusätzlicher Wirkmechanismus von Riluzol angenommen werden muß