

MÄRZ 2004
X. JAHRGANG

D 13882 F
ISSN 0947-0875

1.04

Perspektiven der Hirnforschung



Neuro forum

Organ der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft



Der lange Weg zum ATP als extrazellulärem Signalstoff

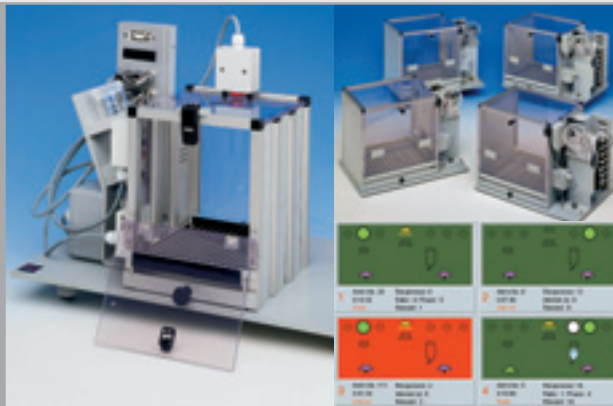
Verstärkte Langzeitpotenzierung und Umprogrammierung kortikaler Verbindungen

Wie kommt es zur Schichtung im Hippocampus?

Kurze Geschichte der Regeneration im Nervensystem

Sophisticated Research Instrumentation for Life Sciences and Laboratories

Operant Behavior Systems



- The complete solution for drug research
- Fully computerized custom systems for rats and mice
- Includes ready-to-use trials such as FR, VR, PR, FI, VI, DRH and DRL
- Create your own schedules with the unique program composer!

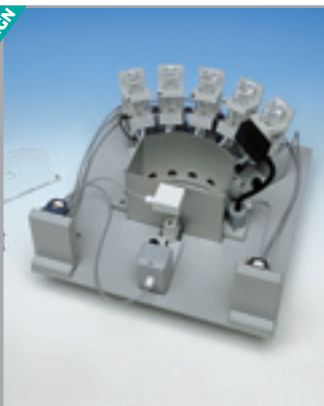
Stereotaxic Systems



- For all lab animals
- 3-dimension precision manipulator for left- & right-hand use
- Optional fine adjustment in the 3rd axis
- Choice of animal adapters, ear bars & accessories

NEW DESIGN

5-Hole-Box



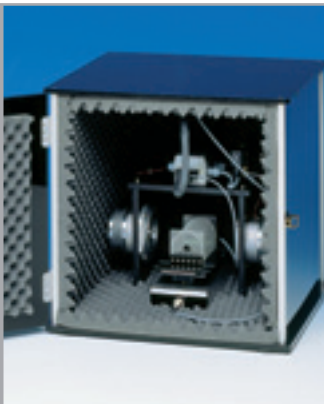
- Versatile attention testing system for rats & mice
- 5-choice serial reaction task
- Pellet feeder or liquid dispenser configuration
- Assess incorrect, correct & premature responses

VideoMot 2 - Video Activity System



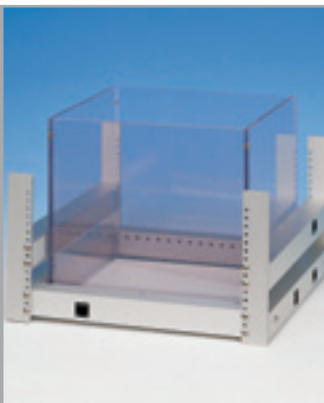
- For all arenas including open field, water maze, elevated plus maze, radial maze...
- Outputs distance travelled, time spent, latencies, entries, speed, rotation
- With key-board event recorder

Startle Response



- Analyze acoustic, tactile & fear-potentiated startle
- Control 4 units with one PC
- User-defined trial sequences
- Complex pre-pulse designs
- Outputs response latency & amplitude

Motility Systems



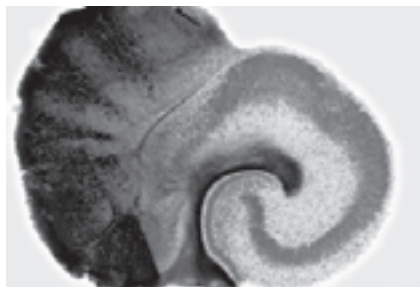
- Study open field behavior or home-cage activity
- Variable box sizes and infra-red sensor densities
- Vertical movement detection
- Detailed spatial & temporal analysis of locomotion

Contact us for other products and details.

TSE
Technical & Scientific
Equipment GmbH



Saalburgstr. 157
D-61350 Bad Homburg/Germany
Phone: +49 (0) 61 72-7 89-0
Fax: +49 (0) 61 72-7 89-50 0
E-Mail: info@TSE-Systems.de
Internet: <http://www.TSE-Systems.de>



Zum Titelbild: Fasern aus dem entorhinalen Kortex terminieren schichtenspezifisch mit scharfer Begrenzung in der äußeren Molekularschicht der *Fascia dentata*. (s. auch Beitrag von Michael Frotscher et al., Seite 151-155)



**Vorstand der
Amtsperiode 2003/2005**

Präsident:

**Prof. Dr. Herbert Zimmermann,
Frankfurt/M.**

Vizepräsident:

Prof. Dr. Klaus-Peter Hoffmann, Bochum

Schatzmeister:

Prof. Dr. Andreas Draguhn, Heidelberg

Generalsekretär:

Prof. Dr. Helmut Kettenmann, Berlin

Sektionssprecher

Computational Neuroscience:

Prof. Dr. Klaus Pawelzik, Bremen

Entwicklungsneurobiologie/Neurogenetik:

Prof. Dr. Sigrun Korsching, Köln

Klinische Neurowissenschaften:

Prof. Dr. Mathias Bähr, Göttingen

Kognitive Neurowissenschaften

und Verhalten:

Prof. Dr. Niels Birbaumer, Tübingen

Molekulare Neurobiologie:

Prof. Dr. Hans Werner Müller, Düsseldorf

Neuropharmakologie und -toxikologie:

Prof. Dr. Werner J. Schmidt, Tübingen

Systemneurobiologie:

Prof. Dr. Hermann Wagner, Aachen

Zelluläre Neurobiologie:

Prof. Dr. Tobias Bonhoeffer, Martinsried

INHALT 143

EDITORIAL 144

HAUPTARTIKEL

Herbert Zimmermann 145
Der lange Weg zum ATP als extrazellulärem Signalstoff

Michael Frotscher, Shanting Zhao und Eckart Förster 151
Wie kommt es zur Schichtung im Hippocampus?

Thomas Mittmann und Ulf T. Eysel 156
Verstärkte Langzeitpotenzierung und Umprogrammierung kortikaler Verbindungen nach Schädigungen der Sehrinde

Georg W. Kreutzberg 163
Kurze Geschichte der Regeneration im Nervensystem

ARTIKEL DES QUARTALS

Rose, C.R., Blum, R., Pichler, B., Lepler, A., Kafitz, K.W., Konnerth, A. 169
Truncated TrkB-T1 mediates neurotrophin-evoked calcium signalling in glia cells

NACHRICHTEN AUS DER NEUROWISSENSCHAFTLICHEN GESELLSCHAFT

Methoden-Kurs „Analysis and Models in Neurophysiology“ 171
Situation von Nachwuchswissenschaftlern/innen und Karriereöglichkeiten 173
Projektförderung der Schram-Stiftung 173
Hirnforschung im 21. Jahrhundert 174
Elfriede-Aulhorn-Preis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 175
Die Volkswagenstiftung richtet eine neue Förderinitiative ein: Neue konzeptionelle Ansätze zur Modellierung und Simulation komplexer Systeme 176
Wissenschaftspreis der NJR Foundation 176
DFG ruft erneut zur Antragstellung im Programm „Klinische Forschergruppen“ auf 176
Start für ein neues Programm zur Förderung Klinischer Studien 177

BÜCHER

Geld zum Forschen aus dem Reiche der Propheten 177

AUSBLICK/IMPRESSUM 178



Editorial

Mit dem Erscheinungsjahr 2004 geht Neuroforum in seinen 10. Jahrgang. Am Ende des Jahres 2004 werden fünf gebundene Ausgaben mit jeweils zwei Jahrgängen Neuroforum mein Bücherregal zieren.

Als die erste Ausgabe von Neuroforum im Februar 1995 erschien, waren sich Michael Frotscher, der damalige Präsident der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft, und ich als Initiatoren der Zeitschrift darüber im Klaren, dass wir uns einiges vorgenommen hatten. „Die Gründung einer neuen Zeitschrift in unserer von Informationen überfluteten Welt wird ein immer riskanteres Unternehmen. Folglich sind nur solche Unternehmungen sinnvoll, die eine wirkliche Lücke schließen können.“ – so begann unser Editorial der ersten Ausgabe von Neuroforum. Inzwischen wissen wir, dass sich der Mut zur Lücke gelohnt hat. Neuroforum ist zum „Spiegel der neurowissenschaftlichen Aktivitäten in Deutschland“ geworden, wie wir uns damals formuliert und erhofft hatten. Die Übersichtsartikel werden gerne für die Lehre genutzt, Studenten schätzen die Beiträge in Neuroforum als Begleitlektüre und Referatsgrundlage für Seminare. Wir

erhalten auch Anfragen von Gymnasiallehrern, die die Artikel für die Vorbereitung ihres Oberstufenunterrichtes nutzen wollen. Alle für die Neurowissenschaften wichtigen Förderinstitutionen wie z.B. DFG, BMBF oder Hertie-Stiftung werden durch Freiemplare von Neuroforum über den neuesten Stand und die Trends der Forschung in der deutschen Neurowissenschaft informiert. Darüber hinaus senden wir die Zeitschrift an einen Kreis von engagierten Wissenschaftsjournalisten.

Neuroforum ist eine Gemeinschaftsproduktion vieler engagierter Partner, die alle zum Gelingen dieser Zeitschrift beigetragen haben. Mein Dank gebührt vor allem Meino Gibson, die über den gesamten Zeitraum die redaktionelle Produktion der Zeitschrift organisiert hat. Das Redaktionsgremium war entscheidend für die inhaltliche Ausgestaltung und die Auswahl der Themen und Referenten, und wir hatten immer ausreichend Vorschläge, um die Seiten der Zeitschrift zu füllen. Dem Spektrum Akademischer Verlag / Elsevier, der bereit war, das Risiko der Neugründung einer Zeitschrift mitzutragen, möchte ich für die Unterstützung und die gute Zusammenarbeit danken. Nicht zuletzt gilt mein Dank allen Autoren von Neuroforum, die sich trotz des allgemeinen Credos

„publish or perish“ die Zeit genommen haben, einen Artikel für eine deutschsprachige Zeitschrift zu schreiben und geholfen haben, die unterschiedlichen Themen innerhalb der Neurowissenschaften in Deutschland einem breiten Publikum zugänglich zu machen.

Anlässlich des diesjährigen Jubiläums enthält diese Ausgabe vier Übersichtsartikel aus der Feder der bisherigen vier Präsidenten der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft: von Michael Frotscher (1993 - 1996), Ulf Eysel (1997 - 1998), Georg W. Kreutzberg (1999 - 2000) und Herbert Zimmermann (2001 - 2005). Diese Beiträge geben einen Einblick in die Arbeitsgebiete dieser vier Wissenschaftler, die bisher das Geschick der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft gelenkt haben und Neuroforum mitgetragen haben.

Helmut Kettenmann
Generalsekretär der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft und Chefredakteur von Neuroforum

Der lange Weg zum ATP als extrazellulärem Signalstoff

Herbert Zimmermann

Zusammenfassung

ATP ist eines der vielseitigsten zellulären Moleküle überhaupt. Seine Rolle als extrazellulärer Signalstoff wurde erst in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts konsolidiert, mit der Klonierung der Rezeptoren (P2-Rezeptoren) und von Enzymen (Ekto-Nukleotidasen), die extrazelluläres ATP hydrolysieren können. P2-Rezeptoren können je nach Subtyp durch ATP oder durch ADP, UTP, UDP und verschiedene Diadenosinpolyphosphate aktiviert werden. ATP und andere Nukleotide werden in Subtypen synaptischer Vesikel gespeichert und können exozytotisch freigesetzt werden. Außerhalb der Zelle werden Nukleotide bis zum jeweiligen Nucleosid hydrolysiert. Extrazellulär gebildetes Adenosin aktiviert seinerseits P1-Rezeptoren und wird anschließend wieder in die Nervenendigung oder in benachbarte Zellen aufgenommen. Bis jetzt wurden mehrere Ekto-Nukleotidasen kloniert und funktionell charakterisiert. Gegenwärtig analysieren wir ihre unterschiedliche zelluläre Lokalisierung im zentralen und peripheren Nervensystem. Die selektive Expression einer der Ekto-Nukleotidasen durch Stammzellen des adulten Nagerhirns weist den Nucleotiden eine Rolle auch bei der Regulation der adulten Neurogenese zu.

Abstract

ATP represents one of the most versatile cellular compounds. The notion that it functions also as an extracellular signaling molecule was corroborated in the 90ies of the last century by the cloning of its receptors (P2 receptors) and of the enzymes (ecto-nucleotidases) that catalyze the hydrolysis of extracellular nucleotides. Depending on subtype, P2 receptors can be activated by ATP or by ADP, UTP, UDP and several diadenosine polyphosphates. ATP and other nucleotides are stored in subtypes of synaptic vesicles and they can be released by exocytosis. After release, nucleotides are hydrolyzed to the respective nucleoside. Extracellular adenosine in turn activates P1 receptors and is recycled into the nerve terminal or into adjacent cells. To date several ecto-nucleotidases have been cloned and functionally characterized. We are presently investigating their differential cellular localization in the central and peripheral nervous system. The selective expression of one of the ecto-nucleotidases by neural stem cells in the adult rodent brain supports the notion that nucleotides play a role also in the control of adult neurogenesis.

Key words: ATP; ecto-nucleotidase; microglia; neurogenesis; synaptic vesicle

Einführung

ATP gehört zu den am besten allgemein bekannten organischen Molekülen. Als Energieträger ist es an der Steuerung zahlreicher intrazellulärer Prozesse beteiligt. Dazu gehören die Bereitstellung der Energie für motorische Funktionen wie etwa bei der Aktin-Myosin-Interaktion im Rahmen der Muskelkontraktion, bei der Zellbewegung oder beim Organelltransport. ATP energetisiert Molekül- und Ionentransporte innerhalb der Zelle oder über die Plasmamembran und es liefert die Energie für die Synthese einer Unzahl biologischer Substanzen. Schließlich wird der Funktionszustand eines Großteils der Proteine durch die Übertragung von

Phosphatresten gesteuert, welche wiederum aus dem ATP stammen. Nicht zu vergessen ist seine Bedeutung bei der Synthese von Ribonucleinsäuren, in die es als Adenin-Base eingebaut wird.

ATP auch als extrazelluläre Signalsubstanz? Das würde bedeuten, dass Zellen ihre wichtigste Energiewährung nach außen abgeben, dass diese über spezifische Rezeptoren ihre Wirkung an der Zelloberfläche entfaltet und schließlich ohne weiteren energetischen Nutzen für die Zelle verloren ist – ein Gegenargument, das man auch heute noch gelegentlich zu hören bekommt. Dabei wird leicht übersehen, dass auch alle anderen Signalmoleküle innerhalb der Zelle unter Energieverbrauch hergestellt werden

müssen. Dann könnte die Zelle aber auch gleich ATP als Signalsubstanz freisetzen. Wie wir heute wissen, stellen Nucleotide (nicht nur das ATP), eine ubiquitäre Gruppe von extrazellulären Signalsubstanzen dar, im Nervensystem und in anderen Geweben. Offensichtlich wurden ATP und andere Nucleotide schon sehr früh in der Entwicklungsgeschichte als extrazelluläre Signalfstoffe eingesetzt. Eine Analyse der vorhandenen Daten spricht dafür, dass Nucleotidrezeptoren bereits bei Protozoen gefunden werden und bei Invertebraten und Vertebraten gleichermaßen verbreitet sind.

Vesikuläre Speicherung und Freisetzung von ATP

Schon um 1930 wurde eine Wirkung von Adennucleotiden auf die Herzfunktion beschrieben. Dass ADP die Thrombozytenaggregation stimuliert, ist seit 40 Jahren bekannt. Von großer Bedeutung war schließlich der Nachweis, dass ATP in bestimmten sekretorischen Zellen vesikulär gespeichert und auf ein Signal hin nach außen sezerniert wird. Dazu gehören die sog. *dense bodies* der Thrombozyten oder die chromaffinen Granula der Zellen des Nebennierenmarks. Im Jahre 1974 gelang der Arbeitsgruppe von Victor Whittaker am biochemischen Institut der Universität Cambridge der Nachweis, dass ATP in hoher Konzentration in synaptischen Vesikeln gespeichert wird und zwar in den Azetylcholin-speichernden Vesikeln der Nervenendigungen, die das elektrische Organ des Zitterrochens innervieren. Heute wissen wir, dass ATP auch in synaptischen Vesikeln cholinergner Nervenendigungen des Säugers, in Noradrenalin-speichernden Vesikeln und in synaptischen Vesikeln des zentralen Nervensystems enthalten ist (Zimmermann 1994). ATP wird aus Nervenendigungen freigesetzt. Aber wo wirkt es?

Unsere ersten Versuche, Anfang der siebziger Jahre eine elektrogene Wirkung von ATP am Skelettmuskel des Frosches nachzuweisen, misslangen. Neueste Befunde zeigen, dass ATP auf Muskelfasern eine metabotrope Wirkung ausübt und die Synthese von synaptischen Enzymen wie der Azetylcholinesterase und von Azetylcholinrezeptoren stimuliert. Erfolgreicher waren frühe Untersuchungen an der glatten Muskulatur. Dort bewirkt ATP eine schnelle Depolarisation der Muskelfaser und eine nachfolgende Muskelkontraktion. Eine andere Frage war, wie ATP in die synaptischen Vesikel gelangt und ob es gegebenenfalls nach der Freisetzung abgebaut und in seinen Bestandteilen rezirkuliert wird, ähnlich wie Azetylcholin

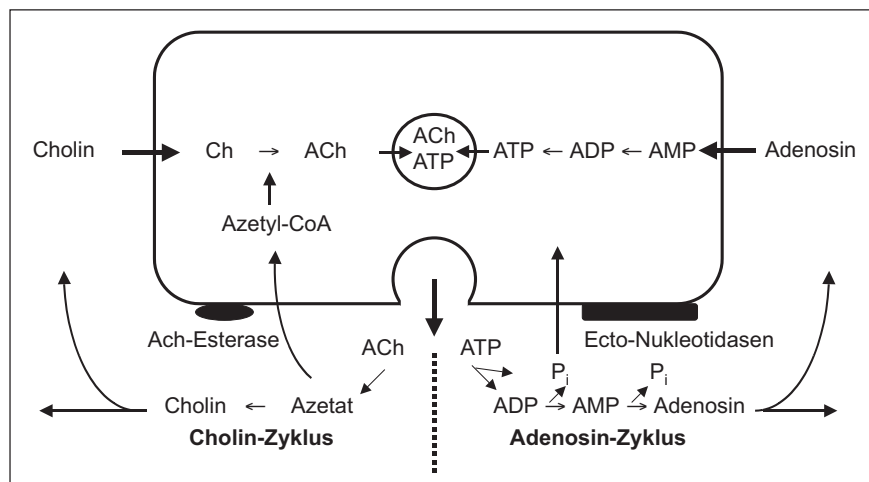


Abb. 1: Speicherung, Freisetzung und Rezirkulieren der Ko-Transmitter Azetylcholin (ACh) und ATP an einer cholinergen Synapse. Azetylcholin wird extrazellulär zu Cholin (Ch) und Azetat abgebaut, ATP zu Adenosin und Phosphat (P_i). Die Bestandteile werden in die Nervenendigung rezirkuliert und stehen für eine Neusynthese von Azetylcholin und ATP sowie eine Wiederbeladung der Vesikel zur Verfügung.

nach der Hydrolyse durch Azetylcholinesterase. In der Tat ergaben unsere an der damaligen Abteilung für Neurochemie am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen durchgeführten Untersuchungen, dass ATP aus synaptischen Vesikeln ausgeschüttet wird, dass es extrazellulär enzymatisch bis zum Adenosin abgebaut wird und dass das Adenosin wieder über einen hochaffinen Aufnahmemechanismus in die Nervenendigung aufgenommen wird. Die Wiederaufnahme in die Vesikel erfolgt über einen Nukleotidtransporter. Bietet man Nervenendigungen auf extrazellulärem Wege radioaktiv markiertes Adenosin, so findet man bald darauf radioaktiv markiertes ATP in den synaptischen Vesikeln. Die Ner-

venendigungen können also aufgenommenes Adenosin zum ATP rephosphorylieren und erneut vesikulär speichern. Wir kamen zu dem Schluss, dass die Nervenendigungen für ATP einen Adenosin-Zyklus besitzen, ganz analog zu dem bereits früher beschriebenen Cholin-Zyklus für das Azetylcholin (Abbildung 1). Heute gibt es zahlreiche Befunde, die eine Freisetzung von ATP auch aus nichtneuronalen Zellen des Nervengewebes belegen, z.B. aus Astrozyten, aus Endothelzellen der Blutgefäße oder aus Mikrogliazellen. Neben einer exocytotischen Freisetzung werden auch Transporter-getragene Freisetzungsmechanismen diskutiert oder die Freisetzung durch Connexin-Hemikanäle (Schwiebert 2003).

Rezeptoren für ATP und andere Nucleotide

In der Folgezeit häuften sich die Hinweise auf eine physiologische Wirkung von ATP in verschiedenen peripheren Organen und auch im Nervensystem. Pharmakologische Untersuchungen legten die Existenz von ATP-spezifischen Rezeptoren nahe. Der eigentliche Durchbruch kam schließlich im Jahre 1993 mit der Klonierung, heterologen Expression und funktionellen Charakterisierung der ersten ATP-Rezeptoren. In einem Fall handelte es sich um einen neuen Typ von Ionenkanal, der weder eine Homologie zu den Rezeptoren der Superfamilie nikotinischer Azetylcholinrezeptoren noch zu den ionotropen Glutamatrezeptoren aufwies (Schwiebert 2003). Eine Rezeptoruntereinheit besitzt lediglich zwei Transmembrandomänen mit einer großen extrazellulären Schleife, welche die ATP-Bindungsstelle besitzt. Inzwischen kennt man sieben verschiedene Untereinheiten für derartige Rezeptoren (Tabelle 1), die als P2X-Rezeptoren bezeichnet werden (P2X₁ bis P2X₇, in der Reihenfolge ihrer Beschreibung). Mit einer Ausnahme (P2X₆) können alle diese Untereinheiten funktionelle homooligomere Komplexe bilden; aber auch mehrere heterooligomere P2X-Rezeptoren wurden beschrieben. Diese Rezeptoren werden ausschließlich von ATP als endogenem Liganden aktiviert. Der Ionenkanal ist durchlässig für Na⁺, K⁺ und Ca²⁺-Ionen und daher besonders zu einer schnellen Signalübertragung und einer lokalen Erhöhung der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration befähigt. P2X-Rezeptoren sind im zentralen Nervensystem weit verbreitet, wo sie eine Rolle bei der schnellen synaptischen Transmission und auch bei der Modulation der synaptischen Übertragung spielen.

Ebenfalls 1993 wurde der erste Vertreter einer weiteren Klasse von ATP-Rezeptoren kloniert, der metabotropen, G-Protein gekoppelten Nucleotid-Rezeptoren (P2Y-Rezeptoren). Dieser Rezeptorfamilie gehören inzwischen acht verschiedene Spezies an (Schwiebert 2003), die sich in ihrer Ligandenspezifität unterscheiden (Tabelle 1). In menschlichem Gewebe ist nur einer davon ein eigentlicher ATP-Rezeptor. Es gibt drei verschiedene Rezeptoren für ADP, einen für UDP und schließlich einen, der von ATP oder UTP aktiviert wird. Das jüngste Mitglied der Proteinfamilie (P2Y₁₄) erwies sich als Rezeptor für Nucleotidzucker wie UDP-Glucose. Wegen der breiten Ligandenspezifität spricht man heute generell von Nucleotidrezeptoren (P2-Rezeptoren) mit den Untergruppen P2X und P2Y. Wie die P2X-Rezeptoren sind auch die

Tab. 1: Nucleotidrezeptoren

P2X-Rezeptor (Ionenkanal)	Agonist	P2Y-Rezeptor (G-Protein gekoppelt)	Bevorzugter Agonist
Homooligomere: P2X _{1,2,3,4,5,7}	ATP	P2Y ₁	ADP
Heterooligomere :		P2Y ₂	ATP = UTP
P2X _{2/3}	ATP	P2Y ₄	UTP
P2X _{4/5}	ATP	P2Y ₆	UDP
P2X _{2/6}	ATP	P2Y ₁₁	ATP
P2X _{4/6}	ATP	P2Y ₁₂	ADP
		P2Y ₁₃	ADP
		P2Y ₁₄	UDP-Glucose

P2X-Rezeptoren sind Na⁺, K⁺ und Ca²⁺-permeable Ionenkanäle, die entweder Hetero- oder Homooligomere ausbilden. Die Untereinheiten weisen je zwei Transmembrandomänen auf und sind in ihrer Membrantopographie den E-NTPDasen sehr ähnlich (vgl. Abbildung 3). P2Y-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelt (vorzugsweise Adenylylcyclase oder Phospholipase C). Die Ligandenspezifität variiert gering zwischen einzelnen Spezies. Angegeben sind die Eigenschaften menschlicher Rezeptoren.



P2Y-Rezeptoren in Nervengewebe weit verbreitet und entfalten ihre Wirkung u.a. bei der Modulation synaptischer Antworten. Die neuerdings entdeckten astrozytären Kalziumwellen, eine neue Form der Erregungsausbreitung im Gehirn, werden wesentlich durch extrazellulär freigesetztes ATP und P2Y-Rezeptoren getragen.

ATP kann nicht nur über die klassischen Nukleotid-Rezeptoren wirken. Kürzlich haben wir einen bestimmten Subtyp der ionotropen Glutamaterezeptoren als ein weiteres Ziel für extrazelluläres ATP identifiziert (Ortinou et al. 2003). ATP kann NMDA-Rezeptoren inhibieren, wobei der NR2B-Untereinheit eine zentrale Rolle zukommt. Dies lässt sich sowohl an heterolog exprimierten Rezeptoren, als auch an kultivierten hippokampalen Zellen nachweisen. ATP vermindert den durch NMDA induzierten Zelltod.

Extrazellulärer Abbau, Ekto-Nukleotidasen

Schwierig gestaltete sich die Identifizierung der Enzyme, die extrazelluläre Nukleotide hydrolysieren können, der Ekto-Nukleotidasen. Als erstes klonierten wir im Jahre 1991 das Enzym, welches die Hydrolyse vom AMP zum Adenosin katalysiert, die Ekto-5'-Nukleotidase, damals noch aus dem elektrischen Organ des Zitterrochens. Dieses Enzym ist über einen Glykosylphosphatidylinosit-(GPI-) Anker mit der Plasmamembran verbunden (Zimmermann 2001). Im Gehirn wird es vornehmlich von Astrozyten exprimiert. Im Säuger genom findet sich für diese Enzymspezies ein einziges Gen. Einige Jahre später (1996) gelang die erste Klonierung und funktionelle Charakterisierung eines Enzyms, welches extrazelluläres ATP und ADP spalten kann (Ekto-Nukleosidtriphosphat-Diphosphohydrolase, E-NTPDase). Die Erwartung, dass es mit einem Enzym getan sei, erfüllte sich nicht. Wir und andere klonierten und charakterisierten eine ganze Reihe von verwandten Enzymen, die sich in der Substratspezifität, in den gebildeten Produkten und in der zellulären Lokalisierung unterscheiden (Zimmermann 2001). Die ursprünglicheren Vertreter dieser Enzymfamilie sind intrazellulär lokalisiert, wo sie eine wichtige Rolle bei der Glykosylierung von Proteinen und Lipiden im ER bzw. Golgi-Apparat spielen dürften. Bisher sind drei Spezies bekannt, die an der Zelloberfläche liegen (NTPDase1 bis NTPDase3) (Abbildung 3). Alle drei Enzyme

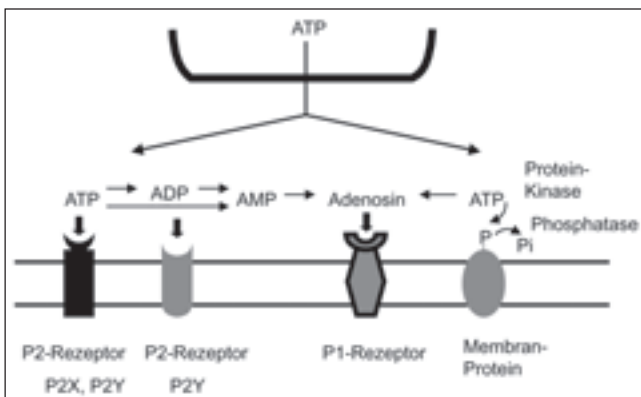


Abb. 2: Extrazellulärer Metabolismus von freigesetztem ATP und mögliche Rezeptorwirkungen. ATP und ADP werden je nach Rezeptortyp (P2X, P2Y, vgl. Tabelle 1) wirksam. Am Ende der Hydrolyse-Kaskade steht das Adenosin, das seinerseits P1-Rezeptoren aktiviert. Nicht dargestellt sind in einigen Zellsystemen zusätzlich existierende enzymatische Wege, über die vom AMP oder vom ADP ausgehend, ATP extrazellulär synthetisiert wird. Die Phosphorylierung von Membranproteinen durch Ekto-Proteinkinasen ist ebenfalls gut dokumentiert.

Analyze this!

Innovative tools for behavioral research

Noldus Information Technology bv

Wageningen, The Netherlands

Phone: +31-317-497677

E-mail: info@noldus.nl

Noldus Information Technology GmbH

Freiburg, Germany

Phone: +49-761-4701600

E-mail: info@noldus.de

Noldus Information Technology Inc.

Leesburg, VA, U.S.A.

Phone: +1-703-771-0440

Toll-free: 1-800-355-9541

E-mail: info@noldus.com

Scientists studying animal behavior have an increasing need for accurate quantitative data. As a behavioral neuroscientist, you need sensitive observational research tools with a maximum degree of automation. Our integrated solutions for data collection, analysis, management and visualization are today's premier tools for the study of behavior, locomotion and acoustics.

EthoVision - Video tracking system for automation of behavioral experiments

The Observer - System for collection and analysis of observational data, live or from video

UltraVox - System for automatic monitoring of ultrasonic vocalizations

Noldus
Information Technology

www.noldus.com

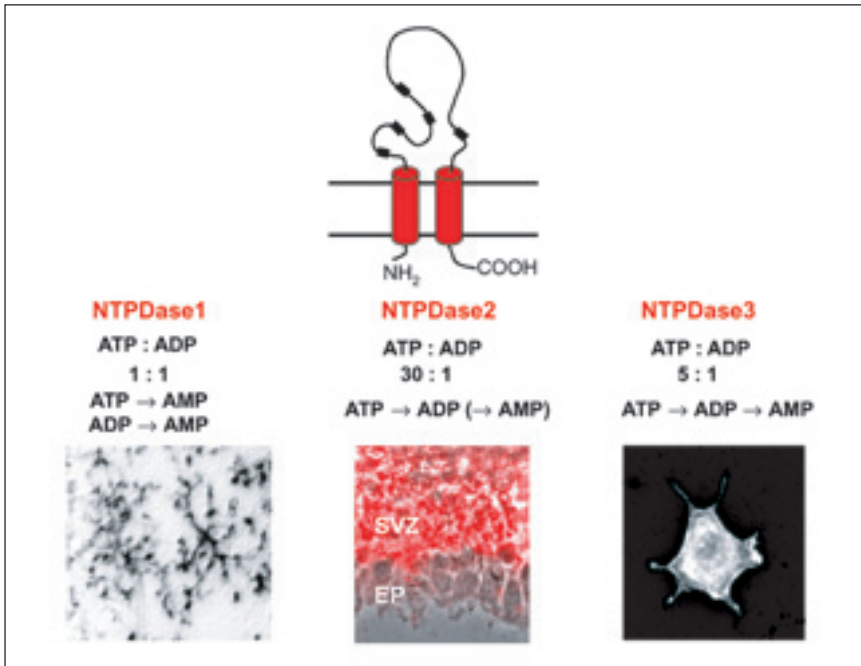


Abb. 3: Membrantopographie, wichtige funktionelle Eigenschaften und zelluläre Verteilung der drei zelloberflächenständigen Mitglieder der E-NTPDase-Familie (NTPDase1 bis NTPDase3). Gezeigt sind für jedes Enzym das Verhältnis der Hydrolyseraten für ATP und ADP sowie die gebildeten Produkte. NTPDase1 wird von Mikrogliazellen (und auch Endothelzellen) stark exprimiert, NTPDase2 liegt auf Typ-B-Zellen (rot) der subventrikulären Zone (SVZ) der Seitenventrikel vor (vgl. Abbildung 4, farbiges Schema). NTPDase3 wurde auf der Oberfläche von kultivierten PC12-Zellen nachgewiesen, die von Zellen des Nebennierenmarks der Ratte abgeleitet sind. EP, Ependym

werden im Säugerhirn exprimiert. NTPDase1 bis NTPDase3 hydrolysieren sowohl Purinal als auch Pyrimidinnukleotide. Der Einfachheit halber wird hier nur die Hydrolyse von Adeninnukleotiden zitiert. NTPDase1 hydrolysiert ATP und ADP etwa gleich gut. NTPDase2 hat eine sehr starke Präferenz für ATP und hydrolysiert ADP nur sehr langsam. NTPDase3 nimmt eine funktionelle Mittelstellung ein. Besonders interessant ist der Befund, dass NTPDase1 das ATP direkt zum AMP abbaut, ohne Freisetzung des Intermediats ADP. Dagegen hydrolysiert NTPDase2 ATP zum ADP, welches sich dann extrazellulär anreichert. NTPDase 3 nimmt wiederum eine Zwischenposition ein. Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Ligandenpräferenzen der Nukleotid-Rezeptoren besteht die Möglichkeit, dass derartige Enzyme ein Nukleosidtriphosphat als Liganden eliminieren und gleichzeitig ein Nukleosiddiphosphat als Liganden extrazellulär produzieren (vgl. Abbildung 2). Vertreter dieser oberflächenständigen Untergruppe der E-NTPDasen fehlen im Genom der Bäckerhefe, von *C. elegans* oder von *Drosophila*. Sie finden sich erstmals im Genom von Wirbeltieren. Das gleiche gilt übrigens auch für die P2X-Rezeptoren. Gab es eine Ko-Evolution des

schnellen ATP-Signalweges mit dieser Gruppe von Ekto-Enzymen?

NTPDase1, Mikroglia und Blutfluss

Wichtige Aufschlüsse zur Funktion dieser Enzyme ergaben sich nach der Herstellung spezifischer Antikörper und erster Knock-out-Mäuse. Mit Hilfe eines Antikörpers und einer Knock-out-Maus konnten wir die NTPDase1, welche ATP und ADP etwa gleich gut spaltet, im Gehirn und im peripheren Nervensystem lokalisieren. Das Enzym wird sehr stark von Mikrogliazellen exprimiert. Nach transienter globaler Vorderhirn-Ischämie findet man eine Hochregulation in aktivierten Mikrogliazellen, insbesondere im Bereich des Hippocampus und in der besonders verletzlichen CA1-Region. Parallel wird die Ekto-5'-Nukleotidase, welche AMP zum Adenosin hydrolysiert, verstärkt synthetisiert. Mikrogliazellen sind ein entscheidender Bestandteil des Immunsystems des zentralen Nervensystems. Bei Verletzungen, aber auch bei degenerativen Erkrankungen, werden sie aktiviert, teilen sich, verändern ihre Form und wandern zu geschädigten Gewebereichen. Sie sind nicht nur zur Phagozytose und zur Abgabe reaktiver Sauerstoffspezies befähigt, sondern

sezernieren auch eine Reihe von Cytokinen, die proinflammatorisch wirken. Daher kann eine zu starke Aktivierung der Mikroglia eine überschießende Abwehrreaktion einleiten, welche die Gewebeschäden noch verstärkt. Mikrogliazellen exprimieren unter anderem den P2X₇-Rezeptor, der die besondere Eigenschaft aufweist, sich zu einer großen, für niedermolekulare Substanzen permeablen Pore zu öffnen, was letztlich zum Zelltod führen kann. Die hohe Ekto-Nukleotidase-Aktivität der Mikrogliazellen könnte daher einen wichtigen Schutzmechanismus darstellen: einerseits für die Mikroglia selbst und andererseits für das umgebende Gewebe. Zusätzlich wirkt das am Ende der Hydrolysekaskade gebildete Adenosin entzündungshemmend. Die Deletion des NTPDase1-Gens verändert nicht die Anzahl der Mikrogliazellen. Jedoch sind die zahlreich verzweigten Fortsätze der Zellen stark reduziert.

NTPDase1 wird auch auf der inneren Oberfläche von Endothelzellen exprimiert. Dort dürfte dem Enzym eine zentrale Rolle bei der Kontrolle des Blutflusses in den Mikrogefäßen zukommen. Es spaltet neben ATP auch ADP, einen zentralen Initiator der Thrombozytenaggregation (Zimmermann 1999). Die Hydrolyse des ADP schränkt die Aggregation ein und garantiert effektiven Blutfluss.

Ein neues Kapitel: NTPDase2 und adulte Neurogenese

Eine besondere Überraschung erlebten wir, als wir die Verteilung der NTPDase2 in Nervengewebe untersuchten. Im zentralen Nervensystem von Nagern wird das Enzym in Gehirnregionen exprimiert, in denen auch im adulten Stadium noch Stammzellen aktiv sind (Braun et al. 2003). Ursprünglich war man davon ausgegangen, dass die Bildung von Nervenzellen beim Säuger während der Embryonalentwicklung abgeschlossen wird. Untersuchungen der letzten Jahre wiesen allerdings nach, dass sich auch im adulten Säugerhirn noch Stammzellen befinden, aus denen Nervenzellen weiterhin und kontinuierlich gebildet werden. Dies betrifft die subventrikuläre Zone (SVZ) der beiden Seitenventrikel (Abbildung 4) und den Gyrus dentatus des Hippocampus. Die im Bereich der SVZ gebildeten Neuronenvorläufer bleiben zunächst undifferenziert und wandern auf einem definierten Weg, dem sog. rostralen Migrationsstrom in den *Bulbus olfactorius*. Zahlreiche der neugebildeten Zellen sterben ab, andere wandern im *Bulbus olfactorius* aus dem rostralen Migrationsstrom aus und differenzieren sich dort in Interneurone. Vieles spricht dafür, dass astrozytenartige Zellen der



SVZ die eigentlichen Stammzellen darstellen (Typ-B-Zellen), aus denen schnell proliferierende Typ-C-Zellen entstehen, die wiederum Neuroblasten (Typ-A-Zellen) bilden. Die wandernden Zellen bilden ein eigentümliches räumliches Arrangement. Bündel von Typ-A-Zellen wandern in engem Kontakt und sind von einer Hülle aus langgestreckten Typ-B-Zellen umschlossen. Gegenwärtig ist praktisch nichts darüber bekannt, welche Faktoren die Typ-C- und Typ-A-Zellen entstehen lassen, warum die Typ-A-Zellen auf ihrer Wanderung undifferenziert bleiben und warum sie im Bulbus olfactorius in Neurone ausdifferenzieren können.

Im adulten Hippocampus erhält sich im Bereich des Gyrus dentatus eine Population sog. residuärer Radialglia, die ebenfalls als Vorläuferzelle fungieren kann und zum Einbau neuer Neuronen in die Körnerschicht führt. Dieser Einbau kann zu einer gesteigerten Langzeitpotenzierung an den Synapsen der Moosfasern in der CA3-Region und zu einer verbesserten Lernfähigkeit von Mäusen führen, bei denen der Einbau neuer Neuronen gesteigert ist.

Unser Befund, dass sowohl die Typ-B-Zellen der SVZ als auch die residuale Radialglia des Gyrus dentatus die NTPDase2 kräftig exprimieren, weist darauf hin, dass dem extrazellulären Signalweg über ATP oder andere Nukleotide eine wichtige regulatorische Funktion bei der adulten Neurogenese zukommen dürfte. Da NTPDase2 ATP spaltet und gleichzeitig ADP bildet (vgl. Abbildung 3), könnte es sowohl eine Rolle bei der Inaktivierung extrazellulärer Nucleosidtriphosphate als auch bei der Bildung extrazellulärer Nucleosiddiphosphate spielen. Diesen Aspekt untersuchen wir gegenwärtig. Die neuronalen

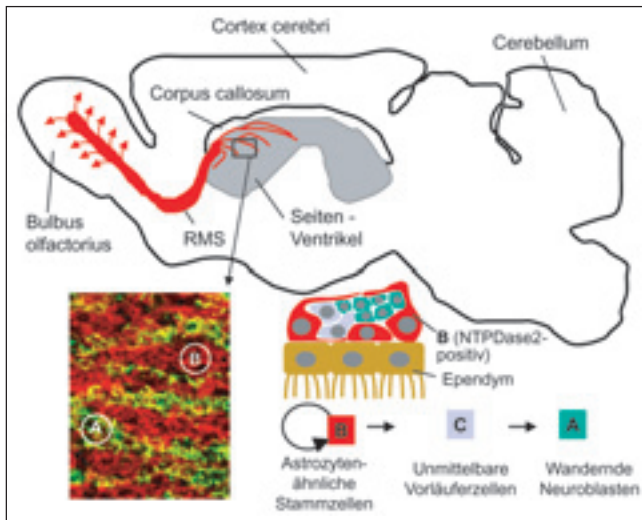


Abb. 4: Darstellung der neurogenen Zone des adulten Nagerhirns im Bereich der Seitenventrikel und Verteilung der NTPDase2. Die subependymal gebildeten neuronalen Vorläuferzellen wandern bündelweise über den rostralen Migrationsstrom (RMS) in den Bulbus olfactorius, wo sie sich zu Neuronen differenzieren können. Man geht heute davon aus, dass die astrozytenähnlichen Typ-B-Zellen die eigentlichen Stammzellen sind, aus denen über eine Zwischenstufe (Typ-C-Zellen) die wandernden Neuroblasten (Typ-A-Zellen) gebildet werden. Typ-B-Zellen exprimieren an ihrer Zelloberfläche das Enzym NTPDase2. Die relative Anordnung der drei Zelltypen unterhalb des Ependyms ist im farbigen Schema dargestellt (Querschnitt). Das Fluoreszenzbild (Sagittalschnitt) zeigt die Doppelmarkierung eines Bereiches der SVZ in der die wandernden Typ-A-Zellen grün (Antikörper gegen PSA-NCAM) und die Typ-B-Zellen rot (Antikörper gegen NTPDase2) markiert sind. Die wandernden Neuroblasten werden jeweils von Bündeln NTPDase2-positiver Typ-B-Zellen umhüllt.

F · S · T

FINE SCIENCE TOOLS

*Fine surgical instruments
and accessories
for research*

- Spring scissors
- Forceps
- Scalpels
- Sutures
- Retractors
- Clamps
- And much more

Fine Science Tools GmbH

Fahrtgasse 7 - 13
D-69117 Heidelberg
Germany

Tel.: +49 (0) 62 21 / 90 50 50

Fax: +49 (0) 62 21 / 60 00 01

E-Mail: europe@finescience.com

Web: www.finescience.com



Glaskapillaren zur Herstellung von

Mikroelektroden, Mikropipetten, Patch-Pipetten, etc.



Direkt vom Hersteller:

glas für
wissenschaft
labor
industrie
technik

hilgenberg

In allen Längen lieferbar...

auch mit feurpolierten Enden ...

... aus Borosilicat-, Soda-, Quarz- und Bleiglas

Verschiedene Formen:

- rund, eckig
- multibarrel
- Theta, Filament
- 2-Loch, 4-Loch
- usw.

Verschiedene Wandstärken:

- super dünn
- dünn
- normal
- dick
- sehr dick ...



Neu:

Spezialnadeln ab 70 µm Durchmesser, zum Befüllen von Mikroelektroden und Mikropipetten!

Hilgenberg GmbH, Strauchgraben 2, D - 34323 Malsfeld

Tel. ++49 (0) 5661 7303 0 Fax ++49 (0) 5661 7303 11

Email info@hilgenberg-gmbh.de Internet: www.hilgenberg-gmbh.de

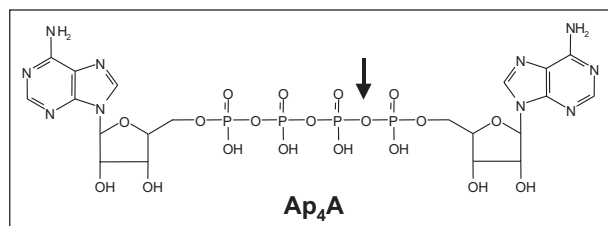


Abb. 5: Struktur von Diadenosintetraphosphat (Ap₄A) mit Spaltstelle für Ektonukleotidpyrophosphatasen/-phosphodiesterasen. Als Produkte der Spaltung entstehen ATP und ADP.

Stammzellen des adulten Gehirns lassen sich in der Kulturschale vermehren und bilden dort bei Zugabe mitogener Substanzen wie etwa dem „epidermal growth factor“ sog. Neurosphären, kugelige Zellhaufen, die in der Nährlösung schwimmen. Aus diesen Neurosphären werden nach Entzug des Mitogens Astrozyten, Neuronen und Oligodendrozyten gebildet. Dies bietet uns eine exzellente Möglichkeit, die Rolle von Signalmolekülen bei der Kontrolle der adulten Neurogenese *in vitro* einer genauen Analyse zu unterwerfen.

Weitere Enzyme und die Dinukleosidpolyphosphate

Die Situation ist allerdings komplizierter als bisher dargestellt. Neben den E-NTPDasen finden sich in vielen Geweben weitere Enzyme, die extrazelluläre Nucleotide spalten können. Die Situation ist also ganz anders als bei der Acetylcholinesterase, für die ein einziges Gen, allerdings mit mehreren Spleißvarianten, existiert. Zu den weiteren Nucleotidspaltenden Enzymen gehören die GPI-verankerten alkalischen Phosphatasen und die sog. Nucleotidpyrophosphatasen/-phosphodiesterasen (E-NPPs) (Zimmermann 2001). Zur letzteren Enzymgruppe gehören drei Vertreter (NPP1 bis NPP3). Wir zeigten kürzlich, dass diese Enzyme in der Lage sind, eine weitere Gruppe von Nucleotiden zu spalten, die sowohl in peripherem Gewebe als auch im Gehirn als Signalsubstanzen fungieren, die Dinukleosidpolyphosphate (Abbildung 5). In diesen Verbindungen sind zwei Nucleoside über eine Kette von zwei bis sieben Phosphatresten verbunden. In unterschiedlichen Geweben nachgewiesen wurden Diadenosinpolyphosphate (Ap_nAs), Diguanosinpolyphosphate (Gp_nGs) und auch gemischte Adenosinpolyphosphoguanosine (Ap_nGs). Sie können wie die anderen Nucleotide vesikulär gespeichert werden (Zimmermann 1994). Diadenosinpolyphosphate entfalten ihre Wirkung sowohl an einigen der P2X- und P2Y-Rezeptoren als auch an einer eigenen Gruppe von bisher molekular nicht charakterisierten Dinucleotid-Rezeptoren. An Nervenendigungen können diese Nucleotide die Wirkung von ATP modulieren. Die Hydrolyse der Dinucleosidpolyphosphate erfolgt jeweils asymmetrisch. Nach Hydro-

lyse etwa von Ap₄A entsteht entsprechend ATP und AMP. Die E-NPPs stellen also eine weitere Gruppe von Enzymen dar, die für die Regulation von Nucleotidwirkungen im Nervensystem eine wichtige Rolle spielen dürften.

Endprodukt der extrazellulären Hydrolysekaskaden ist jeweils das Nucleosid; im Falle des ATP das Adenosin (vgl. Abbildung 2). Adenosin ist seinerseits ein Signalstoff und entfaltet seine Wirkung über vier verschiedene Rezeptoren, sog. P1-Rezeptoren, die alle G-Protein gekoppelt sind (Schwiebert 2003). Adenosin wird zellulär direkt über Transporter freigesetzt und auf dem oben beschriebenen Wege zusätzlich extrazellulär gebildet. Auch Adenosin ist ein ganz wichtiger Modulator der synaptischen Übertragung im zentralen Nervensystem. Da erstaunt es nicht, dass es oft schwierig ist, die Wirkung von ATP oder ADP gegenüber der des Adenosins abzugrenzen.

Ausblick

Zukünftige Studien erfordern eine eingehende Analyse der proteinären Eigenschaften der Ekto-Nucleotidasen ebenso wie funktionelle Untersuchungen zu ihrer Wirkung an definierten zellulären Signalwegen innerhalb des Nervensystems. Dies schließt die Entwicklung spezifischer Hemmstoffe und die Ausschaltung der Gene *in vitro* und *in situ* ein. Für das Verständnis des Wechselspiels der verschiedenen Subtypen von Nucleotidrezeptoren und Ekto-Nucleotidasen bedarf es einer exakten immunzytologischen Lokalisierung auf elektronenmikroskopischer Ebene. Unter den vielfältigen Funktionen, die von Nucleotiden gesteuert werden können, erscheint die Rolle, die diese bei der Neurogenese einnehmen, besonders faszinierend. Das Verständnis der adulten Neurogenese wird wichtige praktische Konsequenzen haben. Dies betrifft insbesondere die Weiterentwicklung zelltherapeutischer Ansätze, wie sie möglicherweise in Zukunft zur Therapie akuter oder chronischer Schädigungen des Nervengewebes eingesetzt werden können.

Literatur

Braun, N., Sévigny, J., Mishra, S., Robson, S.C., Barth, S.W., Gerstberger, R., Hammer, K. und

Zimmermann, H. (2003): Expression of the ecto-ATPase NTPDase2 in the germinal zones of the developing and adult rat brain. *Eur. J. Neurosci.* 17: 1355-1364.

Ortinou, S., Laube, B. und Zimmermann, H. (2003): ATP inhibits NMDA receptors after heterologous expression and in cultured hippocampal neurons, and attenuates NMDA-mediated neurotoxicity. *J. Neurosci.* 23: 4996-5003.

Schwiebert, E.M. (2003): *Extracellular nucleotides and nucleosides. Release, receptors, and physiological effects.* Amsterdam, Boston, Heidelberg: Academic Press.

Zimmermann, H. (1994): Signalling via ATP in the nervous system. *Trends Neurosci.* 17: 420-426.

Zimmermann, H. (1999): Nucleotides and cd39: Principal modulatory players in hemostasis and thrombosis. *Nature Med.* 5: 987-988.

Zimmermann, H. (2001): Ectonucleotidasen: Some recent developments and a note on nomenclature. *Drug Dev. Res.* 52: 44-56.

Eine ausführliche Literaturliste kann beim Autor angefordert werden.

Danksagung

Herrn PD Dr. Norbert Braun (Frankfurt) danke ich für die Bereitstellung der Immunfluoreszenzaufnahmen.

Kurzbiographie

Univ. Prof. Dr. Herbert Zimmermann: 1964-1969 Studium Chemie und Biologie, LMU München. 1971 Promotion Zoologie, Universität Regensburg. 1972/73 Postdoc, Biochemisches Institut der Universität Cambridge/England. 1973-1979 Wiss. Mitarbeiter, M. P. I. für Biophysikalische Chemie, Göttingen. 1980-1983 Prof. C3 für Ethologie und Neurobiologie, Universität Oldenburg. Seit 1983 Prof. C4 für Zoologie, Universität Frankfurt am Main. Forschungsarbeiten zum Mechanismus der synaptischen Transmitterfreisetzung, zur Rolle der Astroglia bei der neuronalen Informationsverarbeitung, zur Rolle der Nucleotide, insbesondere der Ekto-Nucleotidasen bei der zellulären Signalvermittlung im Nervensystem.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Herbert Zimmermann
 Biozentrum der J. W. Goethe-Universität
 AK Neurochemie
 Marie-Curie-Str. 9
 D-60439 Frankfurt am Main
 Tel.: ++49 (0) 69 7982 9602
 Fax: ++49 (0) 69 7982 9606
 e-mail: h.zimmermann@zoology.uni-frankfurt.de

Wie kommt es zur Schichtung im Hippocampus?

Michael Frotscher, Shanting Zhao und Eckart Förster

Zusammenfassung

Die Hippocampusformation ist durch eine klare Schichtung der Zellen und Fasern gekennzeichnet. Im Gyrus dentatus sind dem Körnerzellband Assoziations- und Commissurenfasern (A/C-Fasern) und entorhinale Afferenzen aufgelagert. Dabei besteht eine scharfe Grenze zwischen entorhinalen und A/C-Fasern. Die entorhinalen Fasern in der äußeren Molekularschicht endigen an den distalen Dendriten der Körnerzellen und die A/C-Fasern in der inneren Molekularschicht an proximalen Dendritenabschnitten. Wie wird diese Präzision der Zell- und Faserschichtung kontrolliert?

Wir haben kürzlich gezeigt, dass die A/C-Fasern ihre Schicht über Signalmoleküle an den Dendriten der Körnerzellen finden. Anders die entorhinalen Afferenzen: Hier spielen Moleküle der extrazellulären Matrix wie Hyaluronsäure und assoziierte Moleküle eine entscheidende Rolle. Die Schichtung der Körnerzellsomata wird durch das Glycoprotein Reelin bestimmt. Bei der Reeler-Maus, der Reelin fehlt, ist die Schichtung der Körnerzellsomata aufgehoben. Unsere Befunde deuten darauf hin, dass diese Migrationsstörung aus einer Fehldifferenzierung der Radialglia resultiert, die für neuronale Migration benötigt wird.

Abstract

How is hippocampal lamination controlled?

The hippocampal formation is characterized by a clear-cut lamination of its cells and fibers. In the dentate gyrus the lamination of the granule cells is accompanied by the sharply segregated termination of entorhinal afferents and commissural/associational (C/A) fibers. Entorhinal fibers in the outer molecular layer terminate on distal granule cell dendrites, whereas C/A fibers impinge on proximal dendritic segments. How is this precise lamination of cells and fibers controlled?

We have recently shown that C/A fibers find their termination zone via molecules on granule cell dendrites. In contrast, entorhinal afferents are guided by molecules of the extracellular matrix such as hyaluronan and molecules associated with it. The lamination of granule cell somata is controlled by the glycoprotein Reelin. In the mouse mutant reeler lacking Reelin, the lamination of granule cells is lost. Our findings suggest that this migration defect results from a malformation of the radial glia required for neuronal migration.

Key words: developmental neurobiology; dentate gyrus; neuronal migration; radial glia; axonal pathfinding

Einleitung

Verglichen mit dem Neokortex fällt beim Hippocampus der einfachere Aufbau und die klare Schichtung der Pyramidenneurone und Körnerzellen auf. Beide Arten von Nervenzellen bilden jeweils ein einzelnes Zellband. Besonders ausgeprägt ist die strukturelle Gliederung im Gyrus dentatus. Die dicht gepackten Zellkörper der Körnerzellen trennen die Molekularschicht von der Hilusregion. In die Molekularschicht dehnen sich die Körnerzeldendriten aus. Die überwiegende Mehrzahl der Körnerzellen weist keine Basaldendriten auf; von der Basis des Zellkör-

pers entspringt jedoch das Axon, die Moosfaser, die in die Hilusregion zieht. Damit trennt das Zellband gleichsam die Inputseite, repräsentiert durch die Körnerzeldendriten in der Molekularschicht, von der Outputseite, dem Axon, das durch die Hilusregion zu den Pyramidenzellen der CA3-Region zieht. Die auf die Körnerzeldendriten auftreffenden Afferenzen in der Molekularschicht sind weiter untergliedert. An den proximalen Dendritenabschnitten endigen die Assoziations- und Commissurenfasern (A/C-Fasern), während an den distalen Dendritenabschnitten in der äußeren Molekularschicht die Afferenzen aus der entorhinalen

Rinde synaptische Kontakte ausbilden. Bemerkenswert ist die scharfe Grenze, die zwischen beiden afferenten Fasersystemen besteht (Abbildung 1). Es stellt sich die Frage, wie diese geordnete Organisation, wie die Schichtung der Afferenzen und die Schichtung der Körnerzellsomata während der ontogenetischen Entwicklung entstehen. Welche Moleküle kontrollieren die Migration der Körnerzellen und ihre Anordnung in einem dicht gepackten Zellband? Welche Faktoren determinieren das schichtenspezifische Einwachsen der A/C-Fasern und der entorhinalen Axone?

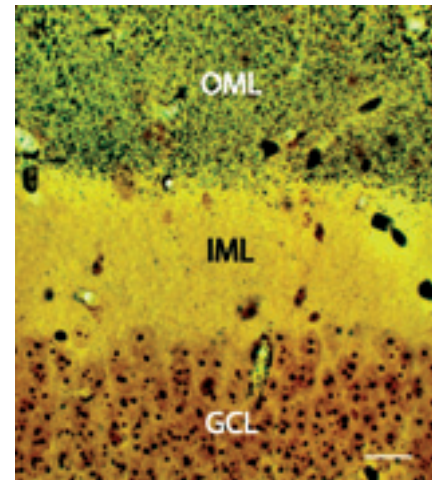


Abb. 1. Ausschnitt aus dem Gyrus dentatus der Ratte zur Darstellung der Zell- und Faserschichtung. Entorhinale Afferenzen in der äußeren Molekularschicht (OML) sind durch ihre anterograde Degeneration nach Läsion des entorhinalen Kortex markiert (Fink-Heimer-Technik). Die innere Molekularschicht (IML), die A/C-Fasern enthält, ist nicht markiert. Die Körnerzellschicht (GCL) enthält die dicht gepackten Zellkörper der Körnerzellen. Maßstab: 20 μm (aus Frotscher and Heimrich 1993; copyright (1993) National Academy of Sciences, USA).

Die hippocampale Schnittkultur als Modellsystem

Um diese Fragen anzugehen, verwenden wir im Labor seit vielen Jahren organotypische Schnittkulturen der Hippocampusformation. Eine Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieses Modellsystems war natürlich, dass sich sowohl die Schichtung der Körnerzellsomata als auch die Schichtung der beiden afferenten Fasersysteme, der C/A-Fasern und der entorhinalen Afferenzen, unter diesen *in vitro*-Bedingungen entwickeln würden. Abbildung 2 belegt, dass dies der Fall ist. Wie in Abbildung 1 sind die entorhinalen Afferen-



zen dieser Komplexkultur, bestehend aus entorhinalem Kortex und Hippocampus, markiert. Wie im perfusionsfixierten Gehirn terminieren die entorhinalen Afferenzen in der äußeren Molekularschicht; die innere Molekularschicht, das Endigungsgebiet der A/C-Fasern, ist ausgespart. Die Körnerzellsomata bilden ein dicht gepacktes Band. Färbt man nicht die entorhinalen Afferenzen, sondern die A/C-Fasern mit einem anterograd transportierten Marker an, ist entsprechend die innere Molekularschicht gefärbt, während die äußere Molekularschicht ausgespart bleibt. Auch die Bipolarität der Körnerzellen bildet sich wie unter *in vivo*-Bedingungen heraus. Golgi-Imprägnierungen zeigen zudem, dass auch unter den Bedingungen der Schnittkultur die Körnerzeldendriten dicht mit Spines, charakteristischen postsynaptischen Elementen, besetzt sind (Frotscher et al. 1995). Die Schlussfolgerung ist gerechtfertigt, dass auch unter diesen *in vitro*-Bedingungen die Signale vorhanden sind, die die charakteristische Schichtung der Körnerzellen und ihrer Afferenzen regulieren.

Wie kommt es zur Faserschichtung im Gyrus dentatus?

Vorauszuschicken ist hier, dass es möglicherweise zweckdienlich ist, den Prozess der Schichtenbildung von jenem der axonalen Wegfindung abzugrenzen. Verschiedene Moleküle, die über Abstoßung und Anziehung die Navigation des Wachstumskolbens am Ende auswachsender Axone steuern, sind bekannt und haben auch Bedeutung für die Wegfindung entorhinaler Axone und der A/C-Fasern. Der Leser findet eine gute Zusammenfassung der verschiedenen Befunde in einer Übersichtsarbeit von Skutella und Nitsch (2001). Wir fanden u. a. heraus, dass früh gebildete Cajal-Retzius-Zellen in der äußeren Molekularschicht der Fascia dentata eine axonale Projektion zum entorhinalen Kortex ausbilden, die den später auswachsenden entorhinalen Afferenzen als Leitstruktur dient (del Rio et al. 1997; Frotscher 1998; Ceranik et al. 1999). Wie aber orientiert sich das entorhinale Axon oder die A/C-Faser in der Molekularschicht? Wie kommt es zur Ausbildung der klaren Trennung zwischen diesen beiden Fasersystemen? Gradienten, die von löslichen Molekülen aufgebaut werden, scheinen nicht geeignet, eine solche scharfe Grenzziehung zwischen beiden Afferenzen herzustellen. Könnten Moleküle der extrazellulären Matrix eine Rolle spielen? Gibt es Rezeptormoleküle für die commissuralen Afferenzen an den proximalen Dendritensegmenten der

Körnerzellen und andersartige Rezeptoren für die entorhinalen Fasern an den distalen Dendriten?

Untersuchungen von Bayer und Altman (Bayer und Altman 1987) hatten gezeigt, dass früh einwachsende Afferenzen im Hippocampus regelmäßig an den distalen Dendritensegmenten endigen, während später einwachsende Fasern proximale Dendritensegmente bevorzugen. Bayer und Altman haben daraufhin die Hypothese aufgestellt, dass die Schichtung der Afferenzsysteme durch die Sequenz ihres Einwachsens bedingt sei. Wir haben zunächst diese Hypothese einer Testung unterzogen und gefragt, ob eine Umkehr der Sequenz des Einwachsens der beiden Hauptafferenzen des Gyrus

Allerdings änderte sich diese Zonierung auch dann nicht, als wir die Sequenz der Co-kultivation änderten und nun zunächst der hippocampalen Zielkultur commissurale Afferenzen und dann, zeitversetzt, entorhinale Afferenzen anboten. Mit klarer Grenzziehung endeten die entorhinalen Afferenzen weiterhin in der äußeren Molekularschicht und die A/C-Fasern in der Innenzone. Die „zeitliche Hypothese“ der Schichtenbildung musste verworfen werden (Frotscher und Heimrich 1993).

Als nächstes wandten wir uns der Frage zu, ob unterschiedliche Rezeptoren für die beiden Fasersysteme an den Dendriten der Körnerzellen vorkommen. Wäre dies der Fall, dann wäre die parallele Schichtung der

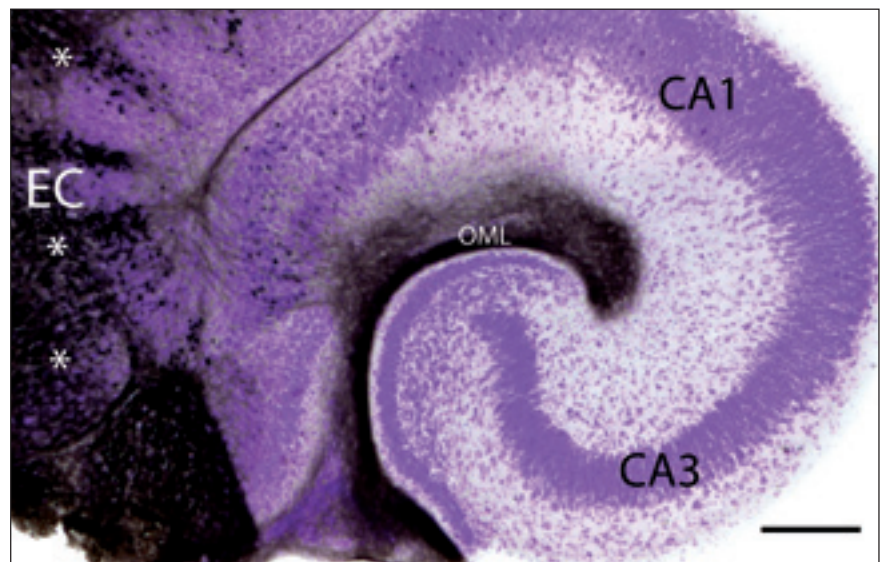


Abb. 2. In einer Komplexkultur von entorhinalem Kortex und Hippocampus bleibt die schichtenspezifische Endigung entorhinaler Afferenzen in der äußeren Molekularschicht erhalten. Entorhinale Afferenzen sind hier mit dem anterograd transportierten Tracer Biocytin markiert (schwarz). EC, entorhinaler Kortex; OML, äußere Molekularschicht mit Biocytin-markierten entorhinalen Fasern. Die Sterne markieren den Applikationsort des Tracers. Maßstab: 100 µm.

dentatus auch eine Umkehr ihrer Schichtung nach sich ziehen würde. Derartige Untersuchungen sind *in vivo* schwer angebar, können aber an hippocampalen Schnittkulturen untersucht werden. Wir haben hippocampale Zielkulturen zunächst wie im normalen Entwicklungsgang mit entorhinalen Afferenzen konfrontiert und dann – mit einigen Tagen Verzögerung – C/A-Fasern durch Cokultivation mit einer weiteren Hippocampus-schnittkultur hinzugegeben. Wie nicht anders zu erwarten war, blieb bei dieser Sequenz des Einwachsens von entorhinalen Fasern und A/C-Fasern die normale Zonierung in der Molekularschicht (entorhinale Fasern außen, A/C-Fasern innen) erhalten.

entorhinalen Fasern und der A/C-Fasern durch die parallele Ausrichtung der Körnerzellen bedingt. In einer Situation, in der die Körnerzellen nicht mehr parallel angeordnet sind, müsste auch die Lamination der beiden Fasersysteme verloren gehen. Gibt es eine solche Situation?

Die in der neurobiologischen Forschung lange bekannte Reeler-Maus weist einen charakteristischen Migrationsdefekt der Körnerzellen auf. Die Körnerzellen sind nicht mehr in einem dicht gepackten Band angeordnet, sondern locker über die gesamte Hilusregion verstreut (Stanfield und Cowan 1979; Drakew et al. 2002). Welche Konsequenzen hat die Aufhebung der parallelen

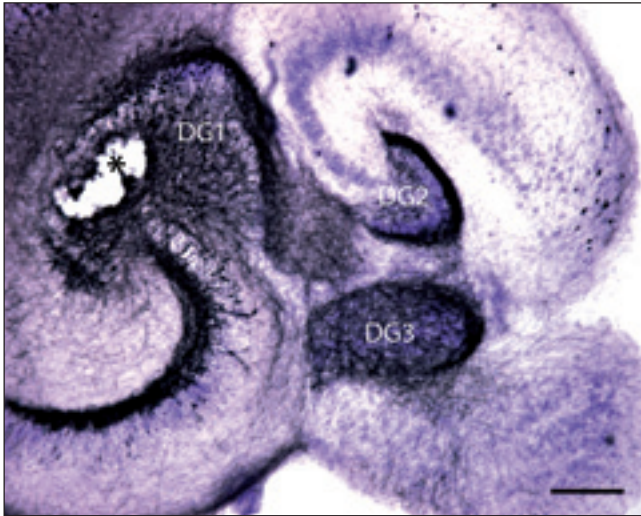


Abb. 3. Dreifachkultur zur Darstellung der Zielzellabhängigkeit commissuraler Fasern. Der Stern markiert den Injektionsort des Tracers. Von der linken Wildtyp-Kultur (DG1) ausgehende „commissurale“ Fasern terminieren in einer zweiten Wildtyp-Kultur (DG2) schichtenspezifisch in der inneren Molekularschicht. Kollateralen derselben Axone terminieren dagegen diffus in einer gleichfalls kokultivierten Reeler-Schnittkultur (DG3), in der auch die Zielzellen, die Körnerzellen des Gyrus dentatus, wegen eines Migrationsdefektes diffus verteilt sind. Maßstab: 100 μ m (aus Zhao et al. 2003; copyright (2003) by the Society for Neuroscience).

Anordnung der Körnerzellen für die Schichtung von entorhinalen Fasern und A/C-Fasern? Auch für diese Fragestellung haben wir wieder organotypische Schnittkulturen herangezogen. Wir haben Schnitte von Wildtypmäusen mit Schnitten von Reeler-Mäusen kokultiviert, um auszuschließen, dass es einen Effekt der Reeler-Mutation auf die projizierenden Neurone selbst gibt. Wir konnten zeigen, dass commissurale Afferenzen aus der Wildtyp-Kultur völlig ungeordnet, diffus über die gesamte Hilusregion der Reeler-Cokultur terminierten, also der ungeordneten Verteilung der Körnerzellen, ihrer Zielzellen, folgten. Umgekehrt, wenn wir commissurale Fasern aus einer Reeler-Schnittkultur in eine Wildtyp-Kultur hineinverfolgten, endigten diese Axone schichtenspezifisch unter Ausbildung eines kompakten, klar abgegrenzten Bandes ganz normal in der inneren Molekularschicht. Ein zellautonomer Effekt der Reeler-Mutation auf die commissuralen Neurone selbst konnte damit verneint werden; vielmehr deuten die Befunde darauf hin, dass die commissuralen Axone sich an der Position ihrer Zielzellen orientieren (Zhao et al. 2003). Abbildung 3 verdeutlicht in anschaulicher Weise dieses Ergebnis: Commissurale Afferenzen aus einer Wildtyp-Kultur endigen in einer kokultivierten zweiten Wildtyp-Kultur schichtenspezifisch in der inneren Molekularschicht, während Kollateralen derselben Axone völlig ungeordnet in der Fascia dentata einer gleichfalls kokultivierten Reeler-Kultur terminieren. Es bietet sich die Schlussfolgerung an, dass die A/C-Fasern ihren Zielzellen folgen, dass offensichtlich molekulare Interaktionen zwischen den Axonendigungen der A/C-Fasern und den Dendriten der Körnerzellen die Schichtung dieser Afferenz bedingen.

Wie aber sieht es mit den entorhinalen Fasern aus? Zu unserer Überraschung fanden wir, dass die entorhinalen Afferenzen ungeachtet der Fehlpositionierung ihrer Zielzellen in Schnittkulturen der Reeler-Maus ihre schichtenspezifische Termination in der äußeren Molekularschicht beibehalten, offensichtlich also ein anderes Prinzip der Schichtenerkennung als bei den A/C-Fasern. Wir erinnerten

uns daran, dass die entorhinalen Afferenzen sehr früh in den Gyrus dentatus einwachsen, etwa um den 17. Embryonaltag (Ceranik et al. 1999; Super und Soriano 1994). Bemerkenswert ist hierbei, dass die entorhinalen Afferenzen von Beginn an ihr Terminationsgebiet (die äußere Molekularschicht) erkennen, obgleich die Mehrzahl ihrer Zielzellen zu diesem Zeitpunkt noch gar nicht gebildet worden ist. Bekanntlich werden die meisten Körnerzellen erst postnatal geboren. Eigentlich deutete schon diese zeitliche Diskrepanz an, dass die Schichtenerkennung der entorhinalen Afferenzen nicht von Erkennungsmolekülen auf den Zielzellen, die ja zum Zeitpunkt des Fasereinwachsens noch gar nicht vorhanden waren, kontrolliert werden konnte. Die Beibehaltung der Schichtenerkennung der entorhinalen Fasern in den Schnittkulturen der Reeler-Maus, bei der die Zielzellen völlig ungeordnet über den Gyrus dentatus verteilt sind, bestätigt, dass für die Lamination der entorhinalen Afferenzen ein anderer Mechanismus als für die der A/C-Fasern anzunehmen ist. Wenn nicht die Zielzellen in Frage kommen, könnte es dann sein, dass für die Schichtung der entorhinalen Afferenzen Moleküle der extrazellulären Matrix von Bedeutung sind? Wir konnten in der Tat zeigen, dass der enzymatische Abbau von Hyaluronsäure mit Hyaluronidase die Schichtenspezifität der entorhinalen Afferenzen aufhob (Förster et al. 2001; Zhao et al. 2003). Natürlich war es ein wichtiges Kontrolleexperiment zu zeigen, dass sich die schichtenspezifische Projektion der A/C-Fasern nach der Behandlung mit Hyaluronidase nicht veränderte, weil, wie ausgeführt, für deren

WORLD PRECISION INSTRUMENTS

LABORATORY EQUIPMENT FOR THE LIFE SCIENCES

STIMULATORS, ISOLATORS

DS8000 8-CHANNEL DIGITAL STIMULATOR

WPI

WWW.WPI-EUROPE.COM



Schichtenerkennung von einem anderen Mechanismus auszugehen ist. Tatsächlich blieb die schichtspezifische Termination der A/C-Fasern nach Enzymbehandlung völlig unverändert, wie im übrigen auch die regionsspezifische und schichtspezifische Termination der Moosfasern (Zhao et al. 2003). Zusammengefasst hatten wir aus diesen Untersuchungen gelernt, dass unterschiedliche Mechanismen die abgegrenzte Schichtung von entorhinalen und A/C-Fasern regulieren.

Wie wird die Schichtung der Körnerzellen kontrolliert?

Wir haben bereits gesehen, dass bei der Reeler-Maus die dichte Packung der Körnerzellen aufgehoben ist; die Körnerzellen liegen über den gesamten Gyrus dentatus verstreut. Es liegt ein Defekt im Reelin-Gen vor, das für ein Protein der extrazellulären Matrix (ECM) codiert. Reelin ist ein Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 400 kD, das von Cajal-Retzius (CR)-Zellen der Marginalzone der Hirnrinde gebildet wird. Im Hippocampus liegen die Cajal-Retzius-Zellen in der Umgebung der *Fissura hippocampi*, d. h. im *Stratum lacunosum-moleculare* und in der äußeren Molekularschicht der Fascia dentata. Da die Körnerzellmigration bei Abwesenheit von Reelin gestört ist, müssen wir fragen, wie denn Reelin die Migration der Körnerzellen und ihre Anordnung im Körnerzellband kontrolliert. Um hier einer Antwort näher zu kommen, haben wir den Streifenassay zum Studium auswachsender Nervenfasern nach Bonhoeffer (Walter et al. 1987) als Zellmigrationsassay zur Untersuchung der Rolle von Reelin adaptiert. Rekombinantes Reelin haben wir im Überstand von kultivierten 293-Zellen angereichert, die mit der vollständigen Reelin cDNA transfiziert worden waren. Wir haben dann Streifen mit reelinhaltigem Medium beschichtet, Kontrollstreifen mit reelinfreiem Kontrollmedium, und anschließend Schnittkulturen auf der Streifenmatrix inkubiert. Die Zellen, die aus den Schnittkulturen auswanderten, wurden mit Hilfe neuronaler oder glialer Marker identifiziert. Zu unserer Enttäuschung fanden wir jedoch nur wenige auswandernde Neurone und keine Präferenz dieser Neurone für die Reelinstreifen oder die Kontrollstreifen. Ein anderes Bild zeigte sich allerdings, wenn wir die aus den Schnittkulturen auswandernden Zellen mit einem Antikörper gegen den Gliamarker GFAP (glial fibrillary acidic protein) anfärbten. GFAP-positive Zellen fanden sich bevor-

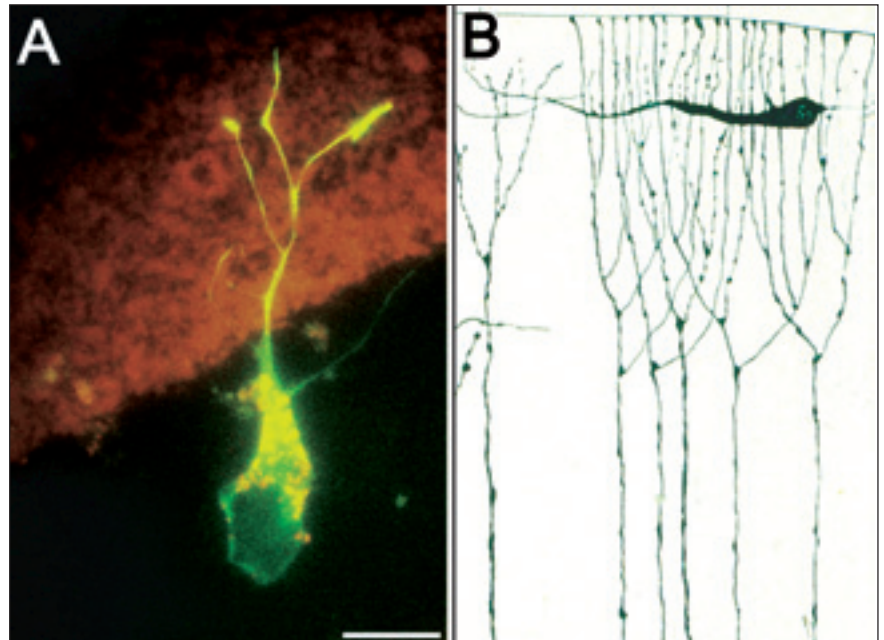


Abb. 4. Verankerung der Radialgliazellen in der Marginalzone. (A) GFAP-positive Gliazelle, die einen Fortsatz in Richtung auf einen Reelin-haltigen Streifen (rote Fluoreszenz) abgibt. Auf dem Reelin-Streifen verzweigt sich dieser Fortsatz mehrfach (Anzahl der Verzweigungspunkte von GFAP-positiven Fortsätzen signifikant höher auf dem Reelin-Streifen im Vergleich mit dem Kontrollstreifen, vgl. Förster et al. 2002). Maßstab: 20 μ m. (B) Bereits Retzius (1893) beobachtete, dass sich Radialgliafasern in der Marginalzone, die Cajal-Retzius-Zellen (horizontales Neuron) und Reelin enthält, stark verzweigen und dadurch die langen Radialgliafortsätze in der Marginalzone verankern (aus Förster et al. 2002; copyright (2002) National Academy of Sciences, USA).

zugt auf den Reelinstreifen. Wenn Schnitte aus der Reeler-Maus verwendet wurden, war der Effekt sogar noch verstärkt, vermutlich deshalb, weil das rekombinante Reelin auf den Streifen nun nicht mehr mit dem nativen Reelin aus der Schnittkultur konkurrierte. Wir interpretierten den Befund dahin gehend, dass, zumindest in diesem Assay-System, migrierende GFAP-positive Zellen, nicht aber Neurone auf Reelin reagieren. Nachzutragen ist, dass während der Hippocampusentwicklung Antikörper gegen GFAP nicht nur Astrozyten, sondern auch Radialgliazellen markieren. Wir konnten in diesem Zusammenhang auch zeigen, dass ein wichtiges Signalmolekül der Reelin-kaskade in Neuronen, Disabled1 (Dab1), auch in GFAP-positiven Radialgliazellen exprimiert wird (Förster et al. 2002). Wir stellten daraufhin die Hypothese auf, dass Reelin auch auf Radialgliazellen als Signalmolekül wirkt und dass mit dem Fehlen von Reelin bei der Reeler-Maus auch ein Defekt der Radialgliadifferenzierung verknüpft sein könnte. In der Tat fanden wir in Hirnschnitten der Reeler-Maus ein fast völliges Fehlen des Radialgliagerüsts im Gyrus dentatus (Förster et al. 2002; Weiss et al. 2003; Frotscher et al. 2003). Wir

schlussfolgerten, dass der Migrationsdefekt der Körnerzellen bei der Reeler-Maus zumindest zum Teil durch eine Fehlbildung des Radialgliagerüsts, das bekanntlich für die regelrechte neuronale Migration erforderlich ist (Rakic 1972), verantwortlich sein könnte. Erste Untersuchungen der Arbeitsgruppe weisen einen Weg, wie man sich die Wirkung von Reelin auf die Differenzierung des Radialgliagerüsts vorstellen kann (Abbildung 4). GFAP-positive Zellen zeigten nicht nur eine Präferenz für Reelin-beschichtete Streifen, sondern ihre Fortsätze verzweigten sich auch signifikant häufiger auf Reelinstreifen als auf Kontrollstreifen (Abbildung 4A, Förster et al. 2002). Dieser Befund erinnert an alte Abbildungen von Gustaf Retzius (Abbildung 4B), der in Golgi-Imprägnationen beobachtete, dass Radialgliafasern, sobald sie in die Marginalzone eintreten und dort auf Cajal-Retzius-Zellen treffen, sich stark verzweigen. Wir wissen heute, dass diese Marginalzone Reelin enthält. Es liegt die Hypothese nahe, dass beim Fehlen von Reelin das auf die Marginalzone ausgerichtete Wachstum der Radialgliafasern und ihre Verästelung in dieser Zone – und damit auch ihre Verankerung – ausbleiben. Das Ergebnis ist ein Kollaps des

Radialgliaerüsts; die Leitschienen für die neuronale Migration (Rakic 1972) stehen nicht mehr zur Verfügung, wie wir es am Beispiel des Gyrus dentatus der Reeler-Maus vorgefunden haben. Man kann sich also die Migrationsstörung bei der Reeler-Maus auch als ein Ergebnis der Fehldifferenzierung der Radialgliazellen vorstellen. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Magdalena Goetz haben wir kürzlich auch Effekte von Reelin auf Radialgliazellen des Neokortex, nicht aber der Basalganglien, nachweisen können (Hartfuss et al. 2003).

Offene Fragen

Wir haben gesehen, dass unterschiedliche Faktoren für die Schichtenbildung entorhinaler Fasern und der A/C-Fasern verantwortlich sind. Während im Falle der A/C-Fasern von einer engen Wechselwirkung zwischen Axonendigung und postsynaptischem Dendrit auszugehen ist, spielen bei der Schichtenerkennung entorhinaler Afferenzen Moleküle der extrazellulären Matrix eine maßgebliche Rolle. Welche Moleküle sind es, die als Liganden bzw. Rezeptoren bei der Schichtenerkennung der A/C-Fasern wirksam werden? Hyaluronsäure, deren Abbau zum Verlust der Schichtenspezifität entorhinaler Afferenzen führt, ist vermutlich nicht das entscheidende Signalmolekül der extrazellulären Matrix für die Orientierung der entorhinalen Fasern. Vielmehr haben erste Untersuchungen Hinweise darauf geliefert, dass mit Hyaluronan assoziierte Chondroitinsulfatproteoglykane, wie beispielsweise Neurocan, eine entscheidende Rolle spielen (Förster et al. 2001; Zhao et al. 2003). Unsere Befunde weisen zwar darauf hin, dass Reelin wichtig für die Ausbildung des Radialgliaerüsts im Gyrus dentatus ist und dass der Migrationsdefekt der Körnerzellen bei der Reeler-Maus zumindest zum Teil durch das Fehlen des Radialgliaerüsts verursacht wird. Auch hier sind viele Fragen offen. Wie muss man sich z.B. die Fehlorientierung der Körnerzeldendriten bei der Reeler-Maus erklären? Hat Reelin auch einen Effekt auf die Dendritendifferenzierung? Auch beim Menschen gibt es eine der Reeler-Maus vergleichbare Migrationsstörung der Körnerzellen, die sog. Körnerzelldispersion, die bei der epilepsieassoziierten Ammonshornsklerose vorkommt. Gibt es auch Veränderungen des Radialgliaerüsts bei diesen Patienten? Erste Untersuchungen haben bereits Hinweise darauf geliefert, dass Störungen der Reelinexpression im Gyrus den-

tatus von Epilepsiepatienten mit Körnerzelldispersion vorliegen (Haas et al. 2002). Es ist eigentlich wie immer, neue Ergebnisse werfen auch neue Fragen auf. Aber auch diese Fragen werden wir angehen können.

Literatur

- del Rio, J.A., Heimrich, B., Borrell, V., Förster, E., Drakew, A., Alcantara, S., Nakajima, K., Miyata, T., Ogawa, M., Mikoshiba, K., Derer, P., Frotscher, M. and Soriano, E. (1997): A role for Cajal-Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature* 385: 70-74.
- Förster, E., Zhao, S. and Frotscher, M. (2001): Hyaluronan-associated adhesive cues control fiber segregation in the hippocampus. *Development* 128: 3029-3039.
- Förster, E., Tielsch, A., Saum, B., Weiss, K.H., Johansen, C., Graus-Porta, D., Müller, U. and Frotscher, M (2002): Reelin, Disabled 1, and beta1 integrins are required for the formation of the radial glial scaffold in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 99: 13178-13183.
- Frotscher, M. (1998): Cajal-Retzius cells, Reelin, and the formation of layers. *Curr. Opin. Neurobiol.* 8: 570-575.
- Zhao, S., Förster, E., Chai, X. and Frotscher, M. (2003): Different signals control laminar specificity of commissural and entorhinal fibers to the dentate gyrus. *J. Neurosci.* 23: 7351-7357.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagung

Den Mitarbeitern der Abteilung I am Anatomischen Institut in Freiburg, derzeitigen wie ehemaligen, namentlich Frau Prof. Carola A. Haas, Herrn Prof. Thomas Deller, Herrn Prof. Bernd Heimrich, danken wir für viele Anregungen und Kommentare. Die Untersuchungen wurden von der DFG unterstützt (SFB 505, Transregio-SFB TR-3).

Kurzbiographien

Michael Frotscher: Studium der Medizin an der Humboldt-Universität Berlin. Wissenschaftlicher Assistent am Anatomischen Institut der Humboldt-Universität und Promotion zum Dr. med. an der Humboldt-Universität 1974. Postdoc am 1st Department of Anatomy, Semmelweis University Budapest, Ungarn. 1979 – 1981 Forschungsstipendiat der Max-Planck-Gesellschaft am MPI für Hirnforschung, Frankfurt/Main. Habilitation an der Universität Frankfurt/

Main 1981. 1982 Professur (C 2) für Anatomie an der Universität Heidelberg, 1983 – 1989 C 3-Professur am Zentrum der Morphologie, Universität Frankfurt/Main. Seit 1989 Direktor der Abteilung I des Instituts für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg.

Shanting Zhao: Studium der Medizin am Binzhou Medical College und am Xinjiang Medical College in China. Von 1988 – 1998 Lecturer am Department of Histology and Embryology, Xinjiang Medical College. 1997 – 2000 Doktorand am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg, Promotion 2001. Seit 2001 Postdoc am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg.

Eckart Förster: Studium der Biologie in Freiburg und Toulouse. Untersuchungen für die Diplomarbeit in Ann Arbor/Michigan, USA. 1991 – 1994 Doktorarbeit am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Freiburg und anschließend Postdoc an diesem Institut. Seit 2003 Hochschulassistent (C 1); das Habilitationsverfahren wurde kürzlich eröffnet.

Korrespondenzadresse

Michael Frotscher, Shanting Zhao, Eckart Förster
 Institut für Anatomie und Zellbiologie I
 Universität Freiburg
 Albertstr. 17
 D-79104 Freiburg
 Tel.: ++49 (0) 761 203 5056
 Fax: ++49 (0) 761 203 5054
 e-mail: Michael.Frotscher@anat.uni-freiburg.de



Verstärkte Langzeitpotenzierung und Umprogrammierung kortikaler Verbindungen nach Schädigungen der Sehrinde

Thomas Mittmann und Ulf T. Eysel

Zusammenfassung

Treten Verletzungen der Sehrinde im Erwachsenenalter auf, reagiert das Zentralnervensystem mit einer funktionserhaltenden Reorganisation, bei der Nervenzellen in der Sehrinde durch Verstärkung synaptischer Kontakte neu verdrahtet werden und so neue oder zusätzliche Funktionen übernehmen können. Das geschieht zum Beispiel in der direkten Umgebung lokaler Schädigungen der primären Sehrinde. Diese Reorganisationsvorgänge haben wir *in vivo* im Sehsystem der Katze und *in vitro* im Kortex von Ratten untersucht. Veränderungen der funktionellen Repräsentation des Sehraumes *in vivo* (größere rezeptive Felder, veränderte Retinotopie) weisen auf Veränderungen der synaptischen Kopplung von Neuronen hin. Die *in vitro* Untersuchungen der synaptischen Plastizität ebenso wie immunhistochemische und molekularbiologische Arbeiten weisen auf Mechanismen, die auf eine transiente Regression in Richtung frühkindlicher Programme mit erhöhter Bereitschaft zur synaptischen Remodellierung deuten: Verschiebungen der Balance von Erregung und Hemmung zugunsten einer höheren Erregbarkeit, verstärkte synaptische Plastizität (Langzeitpotenzierung, LTP) und Veränderungen der beteiligten Glutamat-Rezeptoren. Von den modellhaft im Experiment gewonnenen Daten besteht ein Bezug zur klinisch-neurologischen Medizin und der möglichen Verbesserung einer trainingsabhängigen Rehabilitation nach Schädigungen des Zentralnervensystems.

Abstract

Enhanced long-term potentiation and reprogramming of cortical connections after lesions of the visual cortex

The visual cortex responds to injury in the adult with reorganization and functional restoration. Visual cortical neurons are newly connected by increasing weights of synaptic contacts and take over new or additional functions. This takes place in the vicinity of local damage in the primary visual cortex. We have investigated this cortical reorganization in the cat visual cortex *in vivo* and in the rat visual cortex *in vitro*. Changes of the functional representation of visual space *in vivo* (larger receptive fields, changed retinotopy) indicate changes in the synaptic connectivity of neurons. The related *in vitro* studies of synaptic plasticity as well as immunohistochemistry and molecular biology indicate underlying mechanisms that are reminiscent of a transient regression towards early postnatal patterns with an increased potential for synaptic remodelling: the balance between excitation and inhibition is shifted towards increased excitability, synaptic plasticity (long-term potentiation, LTP) is increased, and the involved glutamate receptors are modified. The experimental data can be related to neurological medicine and the possibility to improve training-induced rehabilitation following damage of the central nervous system.

Key words: visual cortex; lesions; receptive fields; long-term potentiation (LTP); calcium imaging

Einleitung

Nach lokalen Defekten der Sehrinde treten bei Patienten umschriebene Gesichtsfeldausfälle (Skotome) auf, deren Größe das Ausmaß des neuronalen Zelltods und der funktionellen Beeinträchtigung kortikaler Neurone widerspiegelt. Abbildung 1A zeigt eine experimentelle Thermoläsion im visuellen Kortex, deren funktionelle Auswirkungen im intakten Gehirn mit der Methode der optischen Registrierung intrinsischer Signale (optical imaging) gemessen werden. Man sieht nicht nur die Abschwächung der Signalstärke im geschädigten Gebiet (Abbildung 1 B), sondern in der Umgebung der Läsion (Penumbra) auch den Verlust spezifischer neuronaler Leistungen wie der Analyse der Orientierung visueller Reize (Abbildung 1C). Das Verfahren des optical imaging ist nicht-invasiv, eine Videokamera und aufwendige Nachbearbeitung im Rechner machen die Unterschiede der Lichtabsorption sichtbar, die in aktiven Gebieten größer ist als in inaktiven. Das Ausmaß der nach einer Läsion beobachteten Ausfälle kann sich mit der Zeit und insbesondere unter spezifischem Training verkleinern (Zihl und von Cramon 1979, 1985; Kasten et al. 1998; Eysel und Schweigart 1999). Eine mögliche Grundlage für die Funktionsverbesserung ist die Reaktivierung von „stummen“ Zellen in der nur partiell geschädigten Penumbra der Läsion durch verstärkte Aktivierung ihrer synaptischen Verbindungen. Eine andere Möglichkeit besteht in der Vergrößerung der rezeptiven Felder von Zellen am Läsionsrand, die dazu führt, dass Teile des verlorenen Gesichtsfeldes von diesen Zellen zusätzlich „übernommen“ und damit für die Wahrnehmung wieder zugänglich werden. Generell können adaptive Prozesse in sensorischen Kortexbereichen erhebliche Reorganisationen nach Läsionen bewirken (Übersichten bei Kaas 1991; Eysel 1992; Gilbert 1998). Nach Läsionen in der somatosensorischen Hirnrinde des erwachsenen Affen wurde bereits früher eine Verkleinerung des sensorischen Ausfalls durch Vergrößerung rezeptiver Felder in der Handregion gefunden (Jenkins und Merzenich 1987). Wie der somatosensorische, so hat auch der visuelle Kortex ein erhebliches Potential zu Plastizität und Reorganisation. Vielfach wurde bereits eine kortikale Plastizität nach Läsionen der Netzhaut beobachtet (Kaas et al. 1990; Heinen und Skavenski 1991; Gilbert und Wiesel 1992; Chino et al. 1995; Eysel et al. 1999; Arckens et al. 2000). In diesen Fällen wird die von der Zerstörung der Netzhaut betroffene Region des visuellen Kortex durch verstärkte Anknüpfung horizontal-lateraler Verbindungen aus normalen

Nachbarregionen reaktiviert (Das und Gilbert 1995). Längerfristig wird dieser Prozess von anatomischen Veränderungen begleitet, bei denen die Endigungen der horizontalen Nervenfasern lokalisiert im betroffenen Gebiet aussprossen und so vermehrte Kontakte bilden können (Darian-Smith und Gilbert 1994). Bei der Reorganisation nach Hirnrindenläsionen steht diese Möglichkeit wegen der direkten Schädigung der Zellen nicht mehr zur Verfügung und es müssen andere Reparaturmechanismen genutzt werden. Primär wird eine allgemein erhöhte Erregbarkeit in der Umgebung kortikaler Läsionen beobachtet (Eysel und Schmidt-Kastner 1991), die parallel zu speziellen Veränderungen kortikaler Plastizität auftritt. Um das genauer zu untersuchen, haben wir auf Veränderungen der Größe rezeptiver Felder in den ersten Tagen und Monaten nach Schädigungen im visuellen Kortex geachtet (Eysel und Schweigart 1999; Schweigart und Eysel 2002). Außerdem haben wir studiert, wie die rezeptive Feldgröße durch wiederholte, natürliche Reize verändert werden kann (Eysel et al. 1998; Eyding et al. 2002). Bei diesen *in vivo* Experimenten zeigte sich, dass häufig wiederholte Reizung verbunden mit hohen Entladungsraten rezeptive Felder verändern kann. Da wiederholte hochfrequente Benutzung von Synapsen zur synaptischen Verstärkung durch Langzeitpotenzierung (LTP) führt, kamen wir zu der Hypothese, dass die von uns gemessenen Veränderungen rezeptiver Feldgrößen auf LTP-artigen Mechanismen beruhen. Die LTP hat eine wichtige Bedeutung als zelluläres Modell für Lernen und Gedächtnis, und kann in Hirnschnittpräparaten nach hochfrequenter Stimulation von afferenten Eingängen als verstärkte synaptische Übertragung für einen Zeitraum von >1 Stunde gemessen werden. Sie wurde im Säugtier-ZNS bereits vor längerer Zeit u.a. im Hippocampus (Lomo 2003) sowie im visuellen Kortex von Ratten nachgewiesen (Artola und Singer 1987; Kirkwood et al. 1995). Unter Bedingungen einer verstärkten synaptischen Plastizität, wie sie z.B. im jungen visuellen Kortex während der Phase der kritischer Perioden im Entwicklungsalter auftritt, ist die LTP am stärksten exprimiert (Katz 1999). Um unsere Hypothese zur läsionsinduzierten Reorganisation in der Sehrinde zu prüfen, haben wir den visuellen Kortex der Ratte mit Läsionen in Gehirnschnitten *in vitro* auf zelluläre Mechanismen synaptischer Plastizität untersucht (Mittmann und Eysel 2001; Barmashenko et al. 2001). Die Ergebnisse ergaben charakteristische Veränderungen der Plastizität nach Läsionen, die geeignet sind, die Hypothese von LTP-artigen

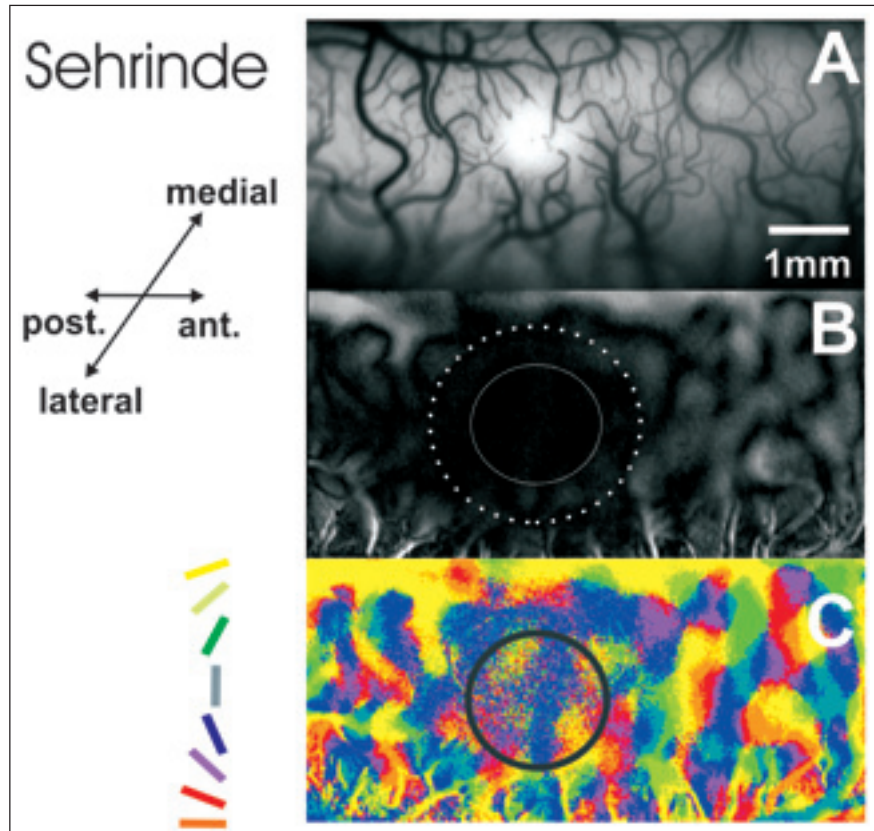


Abb. 1: Schädigung der Sehrinde einer Katze mit direkten und indirekten Funktionsausfällen.

(A) Auf der freigelegten Hirnoberfläche ist das Läsionsgebiet deutlich durch die fehlende Durchblutung erkennbar. Die mit einem Lichtkoagulator berührungsfrei erzeugte Schädigung hat einen Durchmesser von rund einem Millimeter. (B) Die Ableitung intrinsischer optischer Signale zeigt, dass um den Kern der vollständigen Läsion (durchgezogener Kreis) ein Bereich mit unterdrückter Funktion zu sehen ist. Hier ist die Signalstärke deutlich verringert (gepunkteter Kreis). In dieser Darstellung sind höhere Aktivitäten als hellere Grauwerte dargestellt. (C) Die Aktivierung der Sehrinde durch Reize verschiedener Orientierung ist hier farbmarkiert dargestellt. Während im Kern der Läsion alle funktionelle Spezifität aufgehoben ist, zeigt die Karte in der Übergangsregion eine aufgelöste Struktur, die sich weiter entfernt vom Läsionsrand normalisiert.

Mechanismen bei der Umprogrammierung der Sehrinde nach Schädigungen zu stützen.

Umprogrammierung der Sehrinde nach lokalen Schädigungen *in vivo*

Wir haben das Verhalten von einzelnen Nervenzellen in der Randregion von Sehrindenläsionen bei erwachsenen Katzen mit Mikroelektroden untersucht (Eysel und Schweigart 1999; Schweigart und Eysel 2002). Zuerst wurde in einer kleinen Sehrindenregion eine experimentelle Läsion durch excitotoxischen Zelltod ausgelöst (lokale Übererregung der Nervenzellen durch Ibotensäure). Der folgende, erregungsbedingte „Selbstmord“ von Nervenzellen tritt auch natürlicherweise in den Randregionen von Ausfällen beim Schlaganfall auf. Die Vermessung

der Repräsentation des Gesichtsfeldes im Kortex mit Bestimmung der rezeptiven Felder durch Mikroelektrodenableitungen von einzelnen Nervenzellen zeigt einen Gesichtsfeldausfall. Die rezeptiven Felder in der Randregion sind in ihrer Größe primär normal und repräsentieren in korrekter Weise die Umgebung der Läsion, so dass ein blinder Bereich im Gesichtsfeld an der Stelle der Läsion entsteht (Abbildung 2A). Ohne Einfluss visueller Reize bleibt dieser Zustand in den ersten Tagen nach der Schädigung unverändert (mittlere Größe der rezeptiven Felder 101% im Vergleich zu den RF-Größen vor der Schädigung in derselben Sehrindenregion).

Wir konnten allerdings zeigen, dass wiederholte Stimulation von rezeptiven Feldern mit Reizen, die das Feld selbst und seine di-

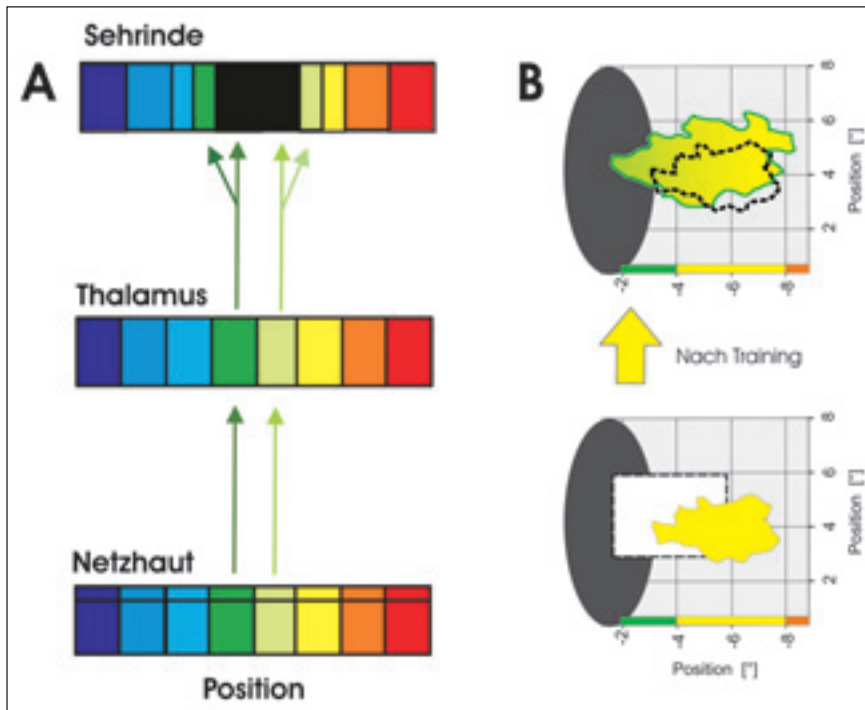


Abb. 2: Schematische Darstellung des topographischen Ausfalls und seiner Kompensation durch vergrößerte receptive Felder am Läsionsrand.

(A) Die Ortsinformation ist hier farbkodiert. Benachbarte Regionen aus der Netzhaut sind auch in Thalamus und Sehrinde benachbart. Das bietet die Grundlage zu einer Kompensation einer Sehrindenschädigung (schwarzer Bereich). Am Eingang zur Sehrinde liegt die gesamte Information vor. Der blinde Bereich im Gesichtsfeld (Skotom, siehe Text) ist durch die fehlenden Zielzellen in der Sehrinde bedingt. Wenn die Zellen am Läsionsrand die Information für die Nachbarzellen mit übernehmen, dann kann der Ausfall kompensiert werden. Alle topographischen Bereiche der Netzhaut stehen wieder für die Wahrnehmung zur Verfügung. Dabei kommt es zu einer Vergrößerung der receptive Felder, die jetzt sowohl ihre alten als auch die neuen Funktionen erfüllen.

(B) Ein Trainingsprogramm mit häufig wiederholten Reizen, das gezielt den erregbaren Bereich eines rezeptiven Feldes einer Zelle gemeinsam mit seinem unerregbaren Umfeld stimuliert (unten), führt zu einer Vergrößerung des Funktionsbereichs dieser Zelle (oben). Dabei wird durch die zusätzliche Funktion der Zelle der blinde Bereich verkleinert. Der Farbübergang von Gelb nach Hellgrün im vergrößerten rezeptiven Feld symbolisiert die gleichzeitige Repräsentation der alten Funktion (Gelb) und der neu übernommenen (Grün) durch ein und dieselbe Zelle.

rekt angrenzende Umgebung zugleich erregen, zu einer Vergrößerung von rezeptiven Feldern führen kann (Eysel et al. 1998; Eydin et al. 2002). Das passt zu einem generell beobachteten kortikalen Phänomen, das in der Vergrößerung stark erregter Areale besteht. Das wird ebenso nach elektrischer intrakortikaler Mikrostimulation des visuellen Kortex (Godde et al. 2002) wie nach verstärkter Aktivierung des Kortex durch ganz bestimmte visuelle Reize beobachtet (z.B. wenn Reize ganz bestimmter Orientierung isoliert und lange Zeit wiederholt dargeboten werden (Dragoi et al. 2001).

Wenn wir Zellen am Läsionsrand 2 Tage nach der Schädigung einem Training mit wiederholten Reizen aussetzen, das darauf abzielt, die Randregion der rezeptiven Felder zu er-

weitern (Schweigart und Eysel 2002), tritt tatsächlich innerhalb einer Stunde eine Feldvergrößerung auf, die im Mittel rund einem Grad Sehwinkel entspricht (Abbildung 2B).

Die zeitlich eng korrelierte Reizung von rezeptiven Feldern und ihrer unmittelbaren Umgebung, wie wir sie experimentell bei narkotisierten Tieren durch wiederholte, zeitgleiche Erregung realisiert haben, erfolgt bei den wachen Tieren nach der Läsion in ihrer gewohnten Umgebung: Augenbewegungen über Kontrastgrenzen hinweg führen zu häufiger, hochfrequentere und korrelierter Erregung rezeptiver Felder und ihrer unmittelbaren Umgebung. Wenn wir die rezeptive Feldkarte in der Sehrinde dann nach zwei Monaten an der Läsionsgrenze überprüfen (Abbildung 3A, B), haben einzelne Zellen erheblich ausgedehntere

rezeptive Feld-Vergrößerungen als im akuten Experiment in den ersten Tagen nach der Läsion (Abbildung 3C). Die Felder von Läsionsrandzellen (innerhalb eines Millimeters) sind entsprechend ihrer Nutzung beim freien Umherblicken in einer visuell strukturierten Umgebung in alle Richtungen vergrößert (im Mittel 182% größer als in den Kontrollen vor der Schädigung). Einzelne Zellen zeigten RF-Vergrößerungen um bis zu 7.8° Sehwinkel - damit wurde der ehemals blinde Bereich im Gesichtsfeld komplett ausgefüllt und war für die Wahrnehmung wieder verfügbar (Abbildung 3C). Die Vergrößerung der rezeptiven Felder bedeutet, dass Nervenzellen Bereiche des Gesichtsfeldes übernommen haben, die vorher von Zellen wahrgenommen wurden, die durch den Gehirnschaden verloren gegangen sind. Diese Übernahme von Funktionen der verlorenen Nachbarzellen verringert den durch die Schädigung des Gehirns entstandenen blinden Bereich. Tatsächlich vernachlässigen die einzelnen Zellen nicht ihre alten Aufgaben, sie lernen die neuen Fähigkeiten zusätzlich (Vergrößerung der rezeptiven Felder anstelle einer örtlichen Verlagerung).

Mit den von uns im Experiment beobachteten Feldvergrößerungen verschiebt sich die Grenze eines kortikalen Skotoms um 3-4°. Dies entspricht in der Größenordnung der mittleren Gesichtsfeldverbesserung um 4.9°, die bei Patienten beobachtet wurde, die nach zentralen Schädigungen der Sehbahn ein Computer-gestütztes Gesichtsfeldtraining ausführten (Kasten et al. 1998).

Zellen, die weiter vom Läsionsrand entfernt lagen, zeigten in unseren Studien keine Veränderungen der rezeptiven Felder. Das wirft die Frage auf, was in der Läsionsrandregion anders ist. In früheren Arbeiten hatten wir eine erhöhte Erregbarkeit von Zellen in der Läsionsrandregion beobachtet (Eysel und Schmidt-Kastner 1991). Diese Region liegt bei dem excitotoxischen Läsionsmodell näher am Läsionsrand als bei unserem zweiten Läsionsmodell, einer Thermoläsion, die durch Laserstrahlen oder durch auf die Kortexoberfläche fokussiertes Xenon-Licht erzeugt wird. Durch die damit einhergehende Schädigung der lokalen Durchblutung in der Umgebung (Lindsberg et al. 1991) tritt hier in der Penumbra nahe der Läsion eine Unterdrückung der Funktion auf, der erst weiter entfernt die Zone der Übererregbarkeit folgt. Ausgehend von der Beobachtung der funktionellen Veränderungen der rezeptiven Felder im Randbereich der Läsionen und der Hypothese, dass LTP-artige, synaptische Plastizität zugrunde liegt, haben wir Hirschnitte des visuellen Kortex von Ratten mit lokalisierten Thermoläsionen *ex vivo* - *in vitro* untersucht.

Läsionsinduzierte, verstärkte Langzeitpotenzierung im visuellen Kortex *in vitro*

Unsere Hypothese ist, dass diese Umprogrammierung von Zellfunktionen am besten durch die sogenannte Langzeitpotenzierung (LTP) erklärbar ist. Dabei führt eine wiederholte und hochfrequente Nutzung von Zellkontakten zu deren dauerhafter Verstärkung. Für diese Experimente verwendeten wir akute, kortikale Hirnschnitte von Ratten. Das Hirnschnittpräparat wird „in vitro“ in einer künstlichen, zerebrospinalen Flüssigkeit inkubiert, und ist so für 8-12 Stunden vital. Unter optischer Kontrolle eines Infrarotmikroskopes kann mit scharfer Mikroelektrode von einem einzelnen Neuron im Hirnschnitt das Membranpotential intrazellulär abgeleitet werden (Abbildung 4A, B).

Die LTP wird durch eine Theta-Burst-Stimulation (TBS) ausgelöst, bei der innerhalb einer Minute drei Salven von je 20 hochfrequent wiederholten erregenden Antwortpotentialen (EPSP) an der Synapse ausgelöst werden. Normalerweise verändern die Zellen in der erwachsenen Sehrinde nach einer solchen Reizung die Stärke ihrer Verbindungen nur geringfügig, die Größe der gemessenen postsynaptischen Potentiale (LTP) zeigt sich bis zu einer Stunde nach Gabe des TBS nur schwach vergrößert. Die aufregende Entdeckung unserer Arbeiten der letzten Jahre war, dass die hierfür notwendige synaptische Plastizität nach einer Schädigung des Gehirns nicht etwa schwächer, sondern deutlich verstärkt ist. Ein Gehirn, das „eingefahrene“ Bahnen benutzt, erhält plötzlich Fähigkeiten des jugendlichen Gehirns zurück: es ist wieder wesentlich besser in der Lage, neu- bzw. umzulernen und es bildet neue Verschaltungen aus. So konnten wir in Hirnschnitten von Ratten mit kleinen Laserläsionen zeigen, dass bei Zellen in einem definierten Abstand vom Läsionsrand und bis zu einer Woche nach Induktion der Verletzung eine hochsignifikant verstärkte Langzeitpotenzierung auftritt (Abbildung 5A, B). Während im gesunden Gehirn weniger als die Hälfte der Zellen eine schwache LTP zeigt (Amplitudensteigerung auf $134.5 \pm 9.9\%$ der Ausgangsamplitude), fanden wir am Läsionsrand bereits in der ersten Woche nach der Verletzung bei zwei Dritteln aller Zellen eine deutlich stärkere Langzeitpotenzierung (Amplitudensteigerung auf $191.3 \pm 20.8\%$). Durch verstärkte Aktivierung wird die Verbindung zwischen Nervenzellen - die Synapse - effektiver, sie koppelt zwei Zellen stärker aneinander. So kann Information, die vorher durch schwache Synapsen nicht

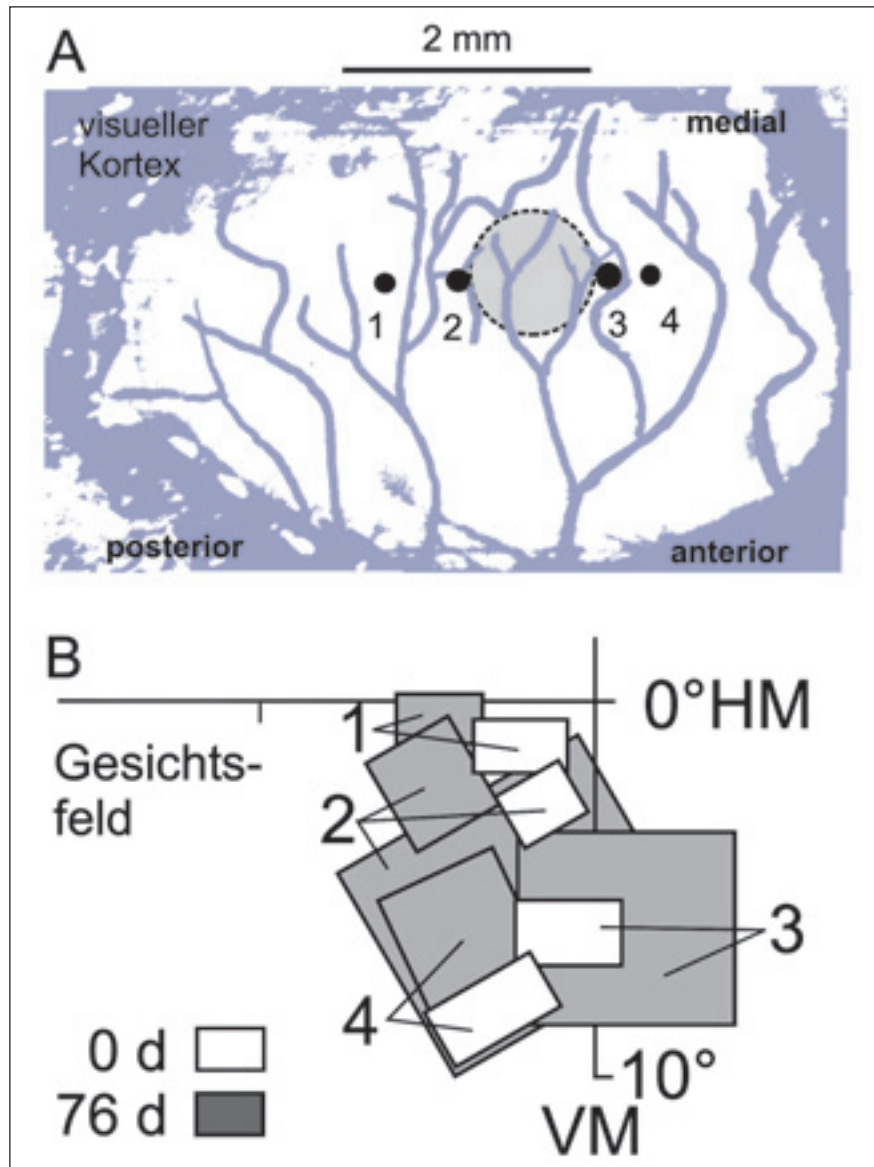


Abb. 3: Registrierung der Größe rezeptiver Felder an identischen Orten vor und 2 Monate nach einer lokalisierten Schädigung der Sehrinde.

(A) Die Oberfläche der Sehrinde ist den Ableitorten (1-4) und der Ausdehnung der Läsion (grauer Bereich im gepunkteten Kreis) schematisch überlagert. Die Zahlen markieren die Ableitstellen vor und nach der Läsion.

(B) Die größten rezeptiven Felder vor der Läsion sind weiß dargestellt, die größten rezeptiven Felder nach 76 Tagen sind grau markiert. Während die Felder bei 1 in der Größe vergleichbar sind, finden sich bei den läsionsnahen Orten 2-4 stark vergrößerte rezeptive Felder nach über 2 Monaten.

weitergeleitet werden konnte, eine Zelle erreichen – und so könnten durch diese Reorganisation im visuellen Kortex Teile des Gesichtsfeldes, die primär verloren waren, durch verstärktes Ankoppeln schwacher Eingänge wieder wahrgenommen werden.

Wie kann nun der adulte Kortex eine solche Erhöhung in der synaptischen Plastizität verwirklichen?

Wir haben bereits in einer früheren elektrophysiologischen Arbeit gezeigt, dass am Läsionsrand die Balance zwischen der exzitatorischen, glutamatergen sowie der inhibitorischen GABAergen synaptischen Übertragung gestört ist (Mittmann et al. 1994). So haben wir eine Schwächung in der Effizienz der GABAergen synaptischen Transmission im läsionsbehandelten Neokortex beobachtet. Zugleich wurde eine erhöhte NMDA-Rezeptor abhängige synaptische Transmission gemessen. Wie pharmakologische Studien gezeigt haben, erleichtern diese funktionellen

erhöhten NMDA-Rezeptor abhängigen synaptischen Transmission im läsionsbehandelten Neokortex beobachtet. Zugleich wurde eine erhöhte NMDA-Rezeptor abhängige synaptische Transmission gemessen. Wie pharmakologische Studien gezeigt haben, erleichtern diese funktionellen

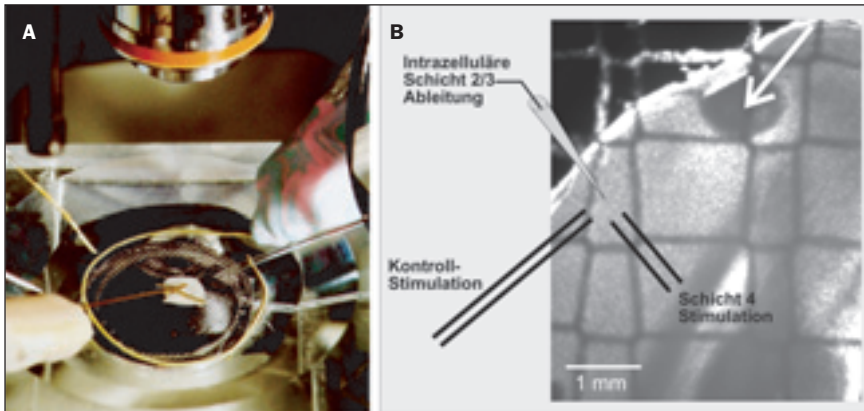


Abb. 4: Die *in vitro* Ableitsituation (A) Fotografie der Messkammer, in dessen Zentrum ein vitaler, koronaler Hirnschnitt des visuellen Kortex lagert. Dieser weist eine Dicke von 350µm auf und wird mit künstlicher Zerebrospinalflüssigkeit umspült. Unter mikroskopischer Kontrolle werden die Reiz- und Ableitelektroden eingebracht. (B) Ein kortikaler Hirnschnitt am post-Läsionstag 3 (siehe Pfeil) mit der schematischen Darstellung der Ableitelektrode für die intrazellulären Ableitungen in der Kortexschicht II/III, sowie die Position der Reizelektroden in der Kortexschicht IV (gepaarter Eingang für die LTP Induktion) sowie lateral von der Ableitstelle in Schicht II (Kontrolleingang).

Veränderungen im kortikalen Netzwerk die Ausbildung von LTP (Artola und Singer 1987; Hümeke et al. 2002).

Als eine weitere Ursache für die verstärkte synaptische Plastizität des Gehirns post-Läsion konnten wir die intraneuronale Kalziumkonzentration $[Ca^{2+}]_i$ in den Zellen am Läsionsrand identifizieren (Barmashenko et al 2001). Durch Messungen der Fluoreszenz eines ionensensitiven Farbstoffes (Fura-2)

konnten wir zeigen, dass sowohl die neuronale Ruhe-Kalzium-Konzentration als auch der Stimulus-induzierte Kalziumeinstrom am Läsionsrand moderat erhöht ist. Zusätzliche pharmakologische Experimente gaben Hinweise auf eine verstärkte Beteiligung von ionotropen NMDA- und AMPA Rezeptoren an der Erhöhung der $[Ca^{2+}]_i$. Dies lässt den Schluss zu, dass der verstärkte Kalziumeinstrom ein zusätzlicher zellulärer Mechanis-

mus für die verstärkte LTP am Läsionsrand ist (Abbildung 6).

Weitere Experimente ergaben Hinweise auf eine Veränderung in der Zusammensetzung der Untereinheiten von ionotropen Glutamat-rezeptorkanälen am Läsionsrand.

(1) So konnte mittels kompetitiver Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eine veränderte Expression der m-RNA für die NMDA-Rezeptor Untereinheiten NR2A und NR2B nachgewiesen werden (Rumpel et al. 2000). Dies könnte bedeuten, dass die NR2B-Untereinheit des NMDA-Rezeptors am Läsionsrand verstärkt exprimiert wird. Interessanterweise findet sich eine verstärkte Expression der NR2B-Untereinheit auch im gesunden, früh-postnatalen Kortex (Monyer et al. 1994), die mit erhöhter synaptischer Plastizität einhergeht (Kirkwood et al. 1995).

(2) Auch die ionotropen AMPA-Rezeptoren zeigten veränderte funktionelle Eigenschaften am Läsionsrand, die in den oben beschriebenen Kalzium-Imaging Experimenten durch eine unter Kontrollbedingungen nicht vorhandene Kalziumpermeabilität sichtbar wurden (Barmashenko et al. 2001). Diese Kalziumpermeabilität lässt sich durch eine Veränderung in der Zusammensetzung der Untereinheiten des AMPA-Rezeptors erklären: eine reduzierte Expression in der GluR2 Untereinheit, welche unter physiologischen Bedingungen nur in früh-postnatalen Gewebe beobachtet wird, ermöglicht einen Kalziumeinstrom durch die AMPA-Rezeptoren am Läsionsrand (Pellegrini-Giampietro et al. 1997; Kumar et al. 2002).

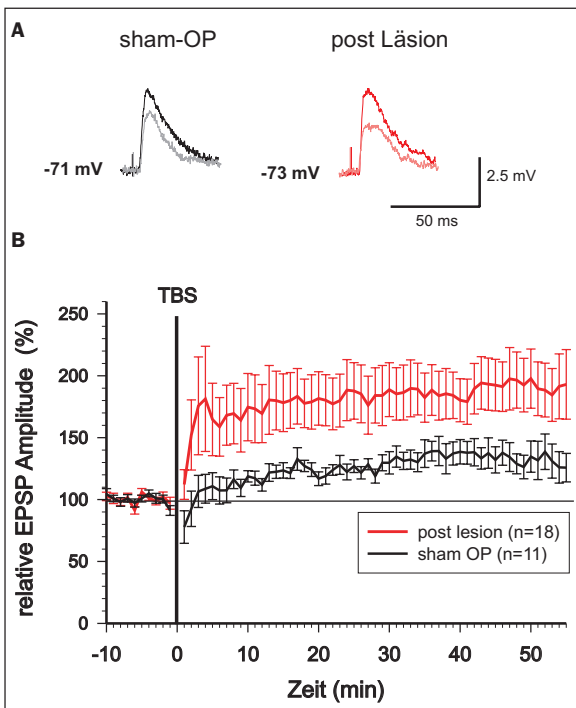


Abb. 5: Verstärkte LTP nach Läsionen (A) Original Spannungsspur (EPSPs) einer intrazellulären Ableitung von einem Neuron aus Kontrollgewebe (grau/schwarz) sowie nach einer Läsion (hellrot/dunkelrot). Die graue und die hellrote Spur wurden 5 Minuten vor Gabe der Theta-Burst Stimulation (TBS) aufgezeichnet, während die schwarze und dunkelrote Spur eine Aufnahme 55 Minuten nach Gabe des TBS zeigt. Beachten Sie nach TBS das größere Signal im läsionsbehandelten Kortex. (B) Mittelwertdiagramm des Zeitverlaufes der relativen Änderungen in der EPSP Amplitude in Kontrollen (schwarz) sowie im visuellen Kortex am Läsionsrand (rot). Beachten Sie die stärkere Expression der LTP im verletzten Gewebe.

Zusammenfassung und Ausblick

Die veränderte synaptische Plastizität unmittelbar nach Eintreten der Verletzung bedeutet ein erhöhtes Potential des Gehirns, den Schaden zu kompensieren. Unter molekularen und zellphysiologischen Aspekten scheint dieses Phänomen der frühkindlichen Plastizität des Gehirns ähnlich. Die „alten“ Zellen lernen wieder wie in ihrer Jugendzeit in den ersten Wochen nach der Geburt. Wenn geeignete Reize auf eine Zelle einwirken, kann sie neue Verknüpfungen bilden oder schwache Verbindungen so verstärken, dass sie neue Funktionen übernehmen kann. Das stellt eine interessante biologische Anpassung der Hirnrinde dar, durch Selbstreparatur und Umprogrammierung überleben zu können.

Das Besondere an unserem Forschungsansatz ist die Verbindung vom System (der Betrachtung des gesamten, funktionierenden Gehirns) mit den zellulären Grundlagen, der Elektrophysiologie und bildgebenden Verfahren sowie der Anatomie und molekularen

Ansätzen. Dabei liegt das Schwergewicht bei uns in experimentell-systemischen Fragestellungen, die direkte Verbindungen zur menschlichen Physiologie und Pathologie eröffnen. Die hier beschriebene Rückkehr zur frühkindlichen Plastizität nach einer Gehirnschädigung ist allein schon für die Grundlagenforschung ein aufregendes Ergebnis. Für die Therapie hirngeschädigter Patienten könnten unsere Beobachtungen aber über die bereits gesicherten Erkenntnisse der letzten Jahre hinaus neue Impulse geben. Dass das Gehirn auch im hohen Alter plastisch und lernfähig ist, hat die Forschung der letzten 20 Jahre gezeigt. Dass es nach Schädigungen vorübergehend sogar „jünger“ und plastischer werden kann, ist dagegen neu. Möglicherweise eröffnet die erleichterte Plastizität in der Umgebung von Schädigungen neue Wege zu einer besseren Rehabilitation. Allerdings ist der Zustand erleichteter Plastizität nicht dauerhaft, sondern zeitlich begrenzt. Wie die Untersuchungen an Hirnschnitten erkennen lassen, steht nach der Schädigung nur ein bestimmtes Zeitfenster zur Verfügung, in dem die Lernbereitschaft der Zellen maximal ist. Danach ist zwar nicht alles verloren, aber es bedarf viel größerer Anstrengungen, um einen vergleichbaren Lernerfolg bei den Zellen und damit eine Funktionsverbesserung zu erreichen. Die bereits jetzt erfolgreichen Trainingsprogramme könnten noch effektiver eingesetzt werden, wenn der Zeitverlauf einer vorübergehend verstärkten Plastizität mit einbezogen würde. In diese Richtung geht unsere Forschung. Wir wollen eine Brücke zur klinischen Medizin schlagen und helfen, die Behandlungsmethoden für Menschen nach Hirnschädigungen zu verbessern.

Erste Untersuchungen am Menschen deuten darauf hin, dass sich die im Tierversuch gewonnene Daten auf klinisch-medizinische Anwendungen übertragen lassen. Möglicherweise lassen sich nach Verletzungen und Zelltod Hirnfunktionen tatsächlich durch ein frühzeitiges Training leichter wieder zurückgewinnen.

Literatur

- Arckens, L., Schweigart, G., Qu, Y., Wouters, G., Pow, D.V., Vandesande, F., Eysel, U.T. und Orban, G.A. (2000): Cooperative changes in GABA, glutamate and activity levels: the missing link in cortical plasticity. *Eur. J. Neurosci.* 12: 4222-4232.
- Artola, A. und Singer, W. (1987): Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature* 330: 649-652.
- Kaas, J.H. (1991): Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. *Annu Rev Neurosci* 14: 137-167.

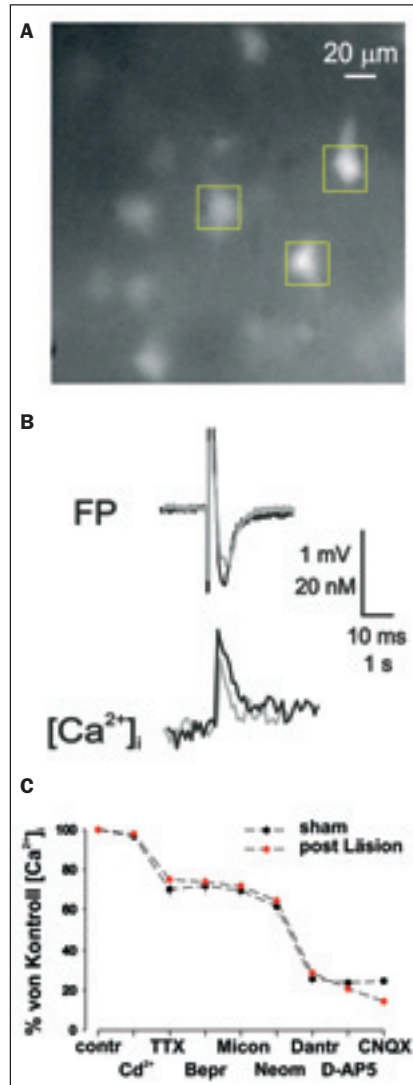


Abb. 6: Kalzium Imaging am Läsionsrand (A) Fotografie eines Schnittes aus dem visuellen Kortex, dessen Neurone mit dem Kalzium-sensitiven Farbstoff Fura2-AM beladen wurden. Das Gewebe wurde unter einem Epifluoreszenzmikroskop mit Licht geeigneter Wellenlänge beleuchtet, wodurch der Farbstoff in den Neuronen eine bestimmte Fluoreszenzintensität zeigte, die nach Kalibrierung des Systems einer definierten intrazellulären Kalziumkonzentration $[Ca^{2+}]_i$ entspricht. Die gelben Quadrate zeigen fluoreszierende Neurone, die mit einer geeigneten Computersoftware ausgewertet wurden. (B) Nach synaptischer Stimulation konnten in der kortikalen Schicht II/III extrazelluläre Feldpotentiale (FPs) aufgezeichnet werden (obere Spuren), während simultan der Stimulus korrelierte neuronale Kalziumeinstrom in der Nähe der Ableitelektrode aufgezeichnet wurde (untere Spuren). Im Vergleich zu den Kontrollaufnahmen (graue Spuren) konnte nach TBS Gabe bis zu 55 Minuten eine LTP mit vergrößerten FPs (obere schwarze Spur) gemessen werden, was mit einem gleichzeitig verstärkten Kalziumeinstrom korrelierte (untere schwarze Spur). (C) Weitere Imaging Experimente zeigten eine läsions-induzierte signifikant erhöhte Sensitivität (rote Sechsecke) der intraneuronalen Ruhekonzentration für spezifische Antagonisten des NMDA-Rezeptors (D-AP5) sowie des AMPA-Rezeptors (CNQX).

Mittmann, T. und Eysel, U.T. (2001): Increased synaptic plasticity in the surround of visual cortex lesions in rats. *Neuroreport* 12: 3341-3347.

Schweigart, G. und Eysel, U.T. (2002): Activity-dependent receptive field changes in the surround of adult cat visual cortex lesions. *Eur J Neurosci* 15: 1585-1596.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Kurzbiographien

Thomas Mittmann: 1983-1990 Biologiestudium an der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz und der Philipps-Universität Marburg, 1991-1994 Promotion zum Dr.rer.nat. bei Prof. Uwe Heinemann und Dr. Heiko Luhmann im Institut für Physiologie und Pathophysiologie der Universität zu Köln. 1995-1997 Forschungsaufenthalt bei Prof. Wayne Crill und Prof. Bertil Hille im

Department of Physiology and Biophysics an der University of Washington, Seattle, U.S.A. durch ein Feodor-Lynen Stipendium der Alexander von Humboldt Stiftung. 1997-1999 Aufbau eines elektrophysiologischen *in vitro* Labors als wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Prof. Ulf Eysel in der Abteilung für Neurophysiologie der Ruhr-Universität Bochum. Seit 2000 wissenschaftlicher Assistent bei Prof. Ulf Eysel. 1999-2001 Teilprojektleiter im SFB 509 „Neuronale Mechanismen des Sehens“, Ruhr-Universität Bochum. Seit 2003 Fakultätsmitglied der „International Graduate School of Neuroscience“ (IGSN) an der Ruhr-Universität Bochum. Forschungsgebiete: Neurophysiologie und Pathophysiologie des Neokortex, Zelluläre Mechanismen von synaptischer Plastizität.

Ulf T. Eysel: 1965-1971 Medizinstudium an der Freien Universität Berlin, Stipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes, Promotion zum Dr.med. und Approbation als Arzt; 1968/69 Forschungs- und Studienaufenthalt an der University of Miami, Florida, USA. 4 Jahre Forschungsstipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft am



Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin, 2 Jahre Habilitationsstipendiat der DFG. 1975 Habilitation für das Fach „Physiologie“. 1976 Berufung an das Institut für Physiologie am Universitätsklinikum Essen und Ernennung zum wissenschaftlichen Rat und Professor für Physiologie, 1981/82 Gastprofessur an der University of Chicago, USA, Department of Physiological and Pharmacological Sciences. 1987 Ernennung zum Universitätsprofessor (C4) und geschäftsführenden Leiter der Abteilung für Neurophysiologie in der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum. 1991-1995 Mitglied des Senatsausschusses der DFG und des Bewilligungsausschusses für die Sonderforschungsbereiche. 1994 Gottfried Wilhelm Leibniz-Preis der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Seit 1996 Sprecher SFB 509 „Neuronale Mechanismen des Sehens“, Ruhr-Universität Bochum. Seit 1996 Mitglied der DFG Senatskommission für tierexperimentelle Forschung. 1997-1998 Präsident der Deutschen Neurowissenschaftlichen Gesellschaft und Dekan der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum. Section Editor NeuroReport (Visual System), Experimental Brain Research (Sensory Physiology), Receiving Editor Neuroscience Research, Japan (System/Behavioral Neuroscience), Reviewing Editor: Neuroscience (IBRO). Forschungsgebiete: Neuro- und Sinnesphysiologie. Sehsystem - Struktur und Funktion, Neuronale Plastizität, Pathophysiologie, Neuropharmakologie.

Glossar

AMPA-Rezeptor: Ein liganden-gesteuerter Ionenkanal, Hauptligand ist die exzitatorische Aminosäure L-Glutamat. Das Rezeptormolekül bildet ein Pentamer aus bis zu vier verschiedenen Untereinheiten (GluR1-4). Die funktionellen Eigenschaften des AMPA-Rezeptors hängen wesentlich davon ab, aus welchen Untereinheiten das Rezeptormolekül zusammengesetzt ist. Der Rezeptorkanal hat eine hohe Permeabilität für Na⁺- und K⁺-Ionen währenddessen die Ca²⁺-Durchlässigkeit von den Eigenschaften der GluR2 Untereinheit limitiert wird.

Excitotoxischer Zelltod: Der Neurotransmitter L-Glutamat und strukturanaloge Substanzen können bei erhöhter Konzentration durch Übererregung und vermutlich die daraufhin folgende Störung des intrazellulären Kalziumgleichgewichts zu selektivem Zelltod von Neuronen führen.

Gesichtsfeld: Der bei unbewegtem Auge überschaubarer Bereich; monokular, mit ei-

nem Auge, beim Menschen ca. 140°, binokular, beidäugig, ca. 220°.

Kritische Periode: Sensible Phase in der Entwicklung des Zentralnervensystems, in der es seine Verschaltungen differenziert und besonders stark auf äußere Reize reagiert. In dieser Phase ist die neuronale Plastizität verstärkt.

Langzeitpotenzierung (LTP): An isolierten Hirnschnitten ist es möglich, aktivitätsabhängige Langzeitveränderungen in der synaptischen Übertragung zu untersuchen. Starke und gleichzeitige Aktivierung von Afferenzen und deren nachgeschalteten Zellen führt zu einer lang anhaltenden Verbesserung der synaptischen Übertragung, einer Langzeitpotenzierung (LTP).

NMDA-Rezeptor: Er wird ebenfalls hauptsächlich durch L-Glutamat aktiviert. Besonderheiten: (1) er ist sowohl für Kalium und Natrium, als auch für Kalziumionen permeabel; (2) Der Kalzium-Einstrom durch NMDA-Kanäle aktiviert kalzium-abhängige Second-Messenger Kaskaden; (3) Der Kanal öffnet sich nur in Gegenwart von Glycin; (4) er zeigt neben einem liganden- auch ein spannungsgesteuertes Verhalten, welches sich durch eine Blockierung der Kanalöffnung beim Ruhemembranpotential (ca. -70mV) zeigt. Diese Blockierung wird durch Anlagerung von Magnesiumionen im Extrazellulärraum vermittelt. Bei Depolarisation der Zellmembran wird das Magnesium durch die elektrostatische Abstoßung aus dem Kanal getrieben, wodurch Natrium und Kaliumionen den Ionenkanal passieren können.

Optische Messung intrinsischer Signale: Ein Verfahren, bei dem die Lichtabsorption der Gehirnoberfläche (im orange-roten Bereich) mit hochempfindlichen Kameras gemessen wird. Der wichtigste Faktor ist dabei die Oxygenierung des roten Blutfarbstoffs, des Hämoglobins. Deoxygeniertes Hämoglobin absorbiert in diesem Wellenlängenbereich stärker, wodurch in den Rohdaten dieser Messungen aktive Gebiete, in denen mehr Sauerstoff verbraucht wird, dunkler erscheinen. Achtung: in Abb. 1B ist bereits eine Weiterverrechnung erfolgt, nach der helle Grauwerte höhere Aktivität darstellen. Durch Verrechnung von Messungen mit verschiedenen Reizbedingungen (z.B. verschiedenen Reizorientierungen) können farbkodierte Karten hergestellt werden, bei denen die Farben jene Regionen anzeigen, in denen der entsprechende Reiz am stärksten beantwortet wird.

Penumbra: Randgebiet einer Läsion (in der Regel durch Durchblutungsstörungen (Infarkt) bedingt), die einen Übergang von vollständigem Zelluntergang im Zentrum der Schädigung zu weiter entfernt gelegener, vollständig normaler Gewebe darstellt. In der Penumbra ist die Zellfunktion reduziert und kann sowohl in verzögerten Zelltod als auch in einer Restitution der Zellfunktion übergehen.

Retinotopie: Topographische Abbildung der Netzhaut in den nachgeschalteten Stationen der Sehbahn, hier im visuellen Kortex.

Rezeptives Feld: Örtlicher Bereich (z.B. der Netzhaut) innerhalb dessen ein Reiz zur Erregung einer Zelle (z.B. im visuellen Kortex) führt.

Skotom: Gesichtsfeldausfall. Blinder Bereich im Gesichtsfeld, der auf einer Schädigung der Sehbahn beruht, in unserem Fall bedingt durch Verlust der Zellen in der Sehirnrinde, die normalerweise den betreffenden Gesichtsfeldbereich repräsentieren.

Thermoläsion: Hitzeläsion. Unselektive, nicht invasive Zerstörung von Gewebe durch Koagulation. In unserem Fall durch fokussiertes Licht einer starken Xenon-Lampe oder durch Laserstrahlen - beide Methoden werden klinisch zur Koagulation in der Netzhaut eingesetzt, werden von uns aber auch zur Erzeugung standardisierter, kleiner Hirnläsionen verwendet. Die Hitzeläsion ist von einer Penumbra umgeben.

Theta-Burst Stimulation (TBS): Eine spezifische Reizung der afferenten Fasern zur Auslösung von LTP. Sie ist gekennzeichnet durch 3 Stimmulationsereignisse innerhalb einer Minute. Diese Stimmulationsereignisse bestehen aus je 20 hochfrequenten Einzelreizen mit einer maximalen Frequenz von 100Hz.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Ulf Eysel, Dr. Thomas Mittmann
Abteilung für Neurophysiologie
Medizinische Fakultät
Ruhr-Universität Bochum
D-44780 Bochum
Tel.: ++49 (0) 234 32 23849
Fax: ++49 (0) 234 32 14192
e-mail: eyssel@rub.de

Kurze Geschichte der Regeneration im Nervensystem

Georg W. Kreuzberg

Mein Briefträger ist ein intelligenter und fundingsreicher Mann. Seit 25 Jahren versorgt er mich pünktlich und zuverlässig mit meiner Briefpost. Von den vielen medizinischen Zeitschriften, die meine Frau und ich bekommen, weiß er, dass wir Ärzte sind. Eines Tages erzählte er mir aufgeregt vom Onkel, der ins Krankenhaus musste, weil er den linken Arm und das linke Bein nicht mehr wie gewohnt bewegen konnte. Die Ärzte hätten ihm aber versichert, dass an den Extremitäten nichts krank sei. Alles käme vom Kopf. Ob das denn wahr sein könne. Natürlich wusste er grob, was ein Schlaganfall war. Konfrontiert aber mit den Lähmungen fehlte ihm dennoch das Verständnis dafür, dass ein Ereignis im Großhirn den Onkel in so eindrucksvoller Weise einseitig seiner Beweglichkeit beraubt hatte.

Wenige Krankheitsereignisse beeindruckten uns so sehr wie der Verlust der Motorik, sei es als Halbseitenlähmung nach einem Schlaganfall, als Querschnittslähmung nach einer Rückenmarksverletzung oder als Gesichtslähmung nach einem Schaden am Fazialisnerven. Der allgemeine Sprachgebrauch setzt Lähmung mit Ausfall der Motorik gleich und verbindet damit nicht selten den Verlust anderer oder höherer Funktionen des Nervensystems.

Die erste Beschreibung einer Querschnittslähmung

In einem Jahrhundert nie dagewesener Veränderungen, in dem sich in kurzer Zeit Ignoranz in Wissen und Mutmaßungen in harte Daten verwandeln, wo aus Träumen hilfreiche Maschinen werden und aus tödlichen Krankheiten heilbare Banalitäten, wird es besonders spannend, ein Auge auf die Vergangenheit zu werfen. Mit einem Blick in die Geschichte erfährt man oft mehr über den menschlichen Geist, seinen Umgang mit einem Problem und die verschlungenen Wege einer Lösung als es das trockene Ergebnis der Anstrengung ahnen lässt. Für die Ideengeschichte der Erforschung der Regeneration des verletzten Nervensystems bedeutet dies eine Rückblende in die Vergangenheit vor 4500 Jahren.

Wir schauen in das alte Reich Ägyptens, wo um das Jahr 2550 v.Chr. der Pharao Djoser herrschte. Im Geschichtswerk des Manetho um 280 v.Chr. heißt es: „unter Djoser lebte Imhotep, dieser wurde von den Ägyptern wegen seiner Heilkunst für Asklepios gehalten. Er erfand das Bauen mit glatt behauenen Steinen. Auch der Schrift galt sein Interesse“. Man hält ihn für den Architekten der Stufenpyramide und des heiligen Bezirks des Djoser in Sakkara. Seinem Genie wird auch der zweifellos beste medizinische Text der Ägypter zugeschrieben. Wegen der Präzision

der Beobachtung und Beschreibung von Krankheiten verdient er auch das Prädikat „wissenschaftlich“. Den Text kennen die Ägyptologen als Abschrift aus der 18. Dynastie des neuen Reiches, 16. Jhd. v.Chr. Nach seinem Entdecker wird er als Papyrus Edwin Smith bezeichnet. Im sogen. Wundenbuch findet man u.a. die Beschreibung verschiedener Schädel-Hirn- und Wirbelsäulen-Rück-



Abb. 1: Papyrus Edwin Smith: das Wundenbuch wird Imhotep zugeschrieben, der um 2550 v. Chr. lebte.

kenmarks-Verletzungen. Der Fall 33 berichtet über eine Querschnittslähmung und soll hier zitiert werden:

„Unterrichtung über die Quetschung eines Halswirbels. Wenn du einen Mann untersuchst mit einer Quetschung eines Wirbels im Nacken und du findest, daß sich dieser in einen zweiten verschoben hat; außerdem ist er bewußtlos, er kann nicht sprechen. Sein Fall mit dem Kopf nach unten ist die Ursache, dass ein Wirbel sich in den nächsten gekeilt hat. Du findest, daß er seiner Arme und Beine nicht mächtig ist infolgedessen. Dann mußt du dazu sagen: (d.i.) einer mit einem Halswirbelbruch, der seine Arme und Beine nicht bewegen kann und bewußtlos ist. Eine Krankheit, die man nicht behandeln kann.“

Im Sinne der modernen Medizin bedeutet dies: ein Mann fällt auf den Kopf und erleidet einen Trümmerbruch eines Halswirbels, der sich in einen zweiten Wirbel verkeilt. Er ist bewusstlos und tetraplegisch. Die Prognose ist schlecht und eine Behandlung nicht möglich. Aus dieser ersten Beschreibung einer hohen Querschnittslähmung lässt sich folgern, dass die altägyptischen Ärzte den Zusammenhang zwischen dem Trauma der Wirbelsäule und der Lähmung der Extremitäten erkannten und um die Unheilbarkeit des Zustands wussten.

Allerdings muss man einräumen, dass die ägyptischen Ärzte über die Bedeutung des Rückenmarks und seiner Verletzung als der eigentlichen Ursache der Lähmung nicht Bescheid wussten. Sie hielten nämlich das Herz für das Organ all der Funktionen, von denen wir heute wissen, dass sie im Gehirn und dem Rückenmark lokalisiert sind wie z.B. dem Fühlen, dem Denken und dem Handeln. Man glaubte, das Herz teile über ein Röhrensystem (die Blutgefäße) diese Funktionen dem ganzen Körper mit.

Dieses Wissen wurde durch die Erfahrung der Kriege und der Jagd auch in den folgenden Jahrhunderten bestätigt und ergänzt. Im Palast von Assurbanipal in Ninive, den die Assyrer im 7. Jhd.v.Chr. erbauten, findet sich das außerordentlich eindrucksvolle Relief einer Löwenjagdszene. Eine Löwin wurde von drei Pfeilen rücklings getroffen. Sie stemmt sich mit großer Kraft auf ihre Vorderbeine aber das Hintergeläuf versagt den Dienst. Diagnose: Paraplegie der hinteren Extremitäten.

Die Griechen entdecken das Gehirn als das Werkzeug des Denkens

In Kroton, einer griechischen Kolonie am Golf von Tarent in Süditalien, lehrte um 500 v. Chr. Alkmaion, ein Arzt und mehr noch



Philosoph im Sinne eines Naturphilosophen der empirischen Art, aus dem Umkreis der Pythagoräer. Es wird ihm zugeschrieben, dass er an Tieren seziierte und experimentierte und aufgrund seiner Beobachtungen zu der Einschätzung kam, das Gehirn und nicht das Herz sei der Sitz mentaler Funktionen. Wahrnehmung und Denken trennte er scharf und sah darin die Unterscheidung des Menschen vom Tier.

Der große Hippokrates von Kos (460-379 v.Chr.) wusste ebenso wie die assyrischen Jäger, dass Verletzungen des unteren Teils des Rückgrats zu Lähmungen der unteren Extremitäten führen und Läsionen im oberen Teil die Lähmung aller Glieder bedeuten konnten. Den Ärzten von Kos waren wie auch dem späteren Celsus die Symptome der Krämpfe, der gestörten Harnentleerung, des Erbrechens und der Atembeschwerden bei spinalem Trauma geläufig.

Das Werk des griechischen Arztes Galen, 130 n.Chr. in Pergamon geboren, bildet den Höhepunkt der antiken Medizin und wirkt noch durch das ganze Mittelalter bis an die Schwelle der Moderne. Er entwickelte die hippokratische Medizin weiter und nahm das Experiment an Tieren auf in das Instrumentarium des Erkenntnisgewinns. Experimente hatte es schon vorher gegeben, so bei Erasistratos von Keos (um 250 v.Chr.), der als Begründer der experimentellen Physiologie des Herzens und der Ernährung angesehen wird. Galen war, bevor er für viele Jahre nach Rom ging, Gladiatorenarzt in Pergamon. Es gehört nicht viel Fantasie dazu, sich vorzustellen, welche Erfahrungen in der Trauma-

tologie ein Arzt in diesem Milieu machen konnte. Die auf diesem Schlachtfeld gemachten Beobachtungen mögen sehr wohl die Veranlassung für die Tierexperimente gewesen sein, die er an Schweinen, Affen, Hunden und Rindern durchführte. Für die Erkrankungen und Verletzungen des Rückenmarks stellte er fest, dass Bewegung und Empfindung in den abwärts gelegenen Körperteilen verloren waren. Wenn er das Rückenmark in der Längsachse einschchnitt, blieb die Lähmung aus. Hier muss der Berichterstatter seine Hochachtung vor den mikrochirurgischen Fähigkeiten des Experimentators ausdrücken, denn ein Längsschnitt durch das Rückenmark im Experiment ist keine einfache Sache, zumal, wenn man Kollateralschäden vermeiden muss. Auch eine horizontale Hemisektion, bei der nur die eine Hälfte des Rückenmarks durchtrennt wird, ist nicht einfach. Sie gelang dem Galen offensichtlich so gut, dass er aus dem Resultat schließen durfte, dass eine Lähmung auch nur auf der Seite der Läsion beobachtet werden konnte.

Galen starb im Jahr 199 n.Chr. Sein Wissen um die Folgen der Verletzungen von Schädel, Hirn und Rückenmark genügte Generationen von Ärzten. In den folgenden 1500 Jahren gibt es kaum neue Erkenntnisse. Insbesondere gibt es nirgendwo einen Hinweis auf Beobachtungen, die auf eine Regeneration des zentralen oder peripheren Nervensystems nach Verletzung hindeuten würden. Meine Recherche in der Medizin des Morgenlandes haben bisher auch noch keine positiven Ergebnisse gebracht, so dass man annehmen muss, die medizinische Welt hat bis

zum 18. Jahrhundert von der Regenerationsfähigkeit des Nervensystems nichts geahnt.

Wunderheilungen

Aus dem Studium der alten Literatur gewinnt man tatsächlich den Eindruck, dass es keine Langzeitbeobachtungen nach Nervenverletzungen oder Rückenmarkstrauma gab und dass deshalb die Erfahrung einer Funktionsherstellung nach Regeneration z.B. eines verletzten peripheren Nervs nicht gemacht werden konnte. Wenn also „jedermann“ wusste „Lähmungen sind irreversibel“, dann konnte die Wiederherstellung von Gefühl oder Beweglichkeit nur als Mirakel gedeutet werden.

Diese Erfahrung existierte allerdings in der Welt des Glaubens und der Wunder: „Da war ein Mann mit einer Fallhand. Er (Jesus) sprach zu dem Mann: Strecke deine Hand aus. Da streckte er sie aus und sie ward wiederhergestellt, gesund wie die andere (Matthäus: 12,10-13)“. Wunderheilung einer Radialislähmung! In der Altstadt von Jerusalem kann man seit wenigen Jahren den vermutlichen Heilbrunnen von Bethesda bestaunen. Das Johannes-Evangelium (Kap.5) berichtet uns, dass es hier fünf Hallen gab, in denen eine Menge Kranke warteten, bis das Wasser in Wallung käme. Stieg doch von Zeit zu Zeit der Engel des Herrn herab und ließ das Wasser aufwallen. Wer zuerst in das bewegte Wasser stieg wurde geheilt. Schon 38 Jahre lag ein Kranker hier. Seine Behinderung erlaubte ihm nie das wallende Wasser rechtzeitig zu erreichen. „Und Jesus sprach zu ihm: Steh auf, nimm dein Bett und geh! Und so gleich ward der Mann gesund; er nahm sein Bett und ging umher“. Genauso erging es einem Gelähmten, den seine Freunde auf seinem Bett liegend durch das Dach mitten hin vor Jesus gebracht hatten (Lukas: 5,17-26).

Wunderheilungen von Lähmungen werden auch aus der vorchristlichen Zeit berichtet. Im klassischen Griechenland waren die Heilkünste der Asklepiosjünger in besonderen Orten der Tempelmedizin zu finden. Kranke wurden im Asklepeion einem Heilschlaf unterworfen und erwachten am Morgen gebessert oder geheilt von ihren Gebrechen. In der ganzen antiken Welt über Jahrhunderte berühmte Orte solchen Heils waren Kos, Knidos, Epidauros und im 3. Jhd. Alexandria. In Epidauros fand der antike Historiker Pausanias Inschrifttafeln, die über die Wunderheilungen und die Geheilten protokollarisch Auskunft gaben. Zwei Krankengeschichten von Gelähmten erfreuen uns noch heute: „Ein Mann, dessen Finger bis auf einen gelähmt waren, kam hilfessuchend



Abb. 2: Paraplegie einer Löwin. Palast des Assurbanipals in Niniveh, ca. 645 v. Chr. (British Museum London)

zum Gott. Als er aber die Bilder im Tempel sah, konnte er nicht an die Heilungen glauben und machte sich darüber lustig. Während des Tempelschlafs hatte er aber eine Erscheinung. Er träumte, er habe vor dem Tempel Würfel gespielt und als er gerade werfen wollte, sei der Gott erschienen, ihm auf die Hand gesprungen und habe ihm die Finger gestreckt. Als er weggetreten war, habe ihm geschienen, er könne an der gelähmten Hand jeden einzelnen Finger gerade strecken. Da habe ihn der Gott gefragt ob er noch den Inschriften im Heiligtum misstrauete, was er verneint habe. Doch der Gott habe gesagt: „Weil Du nun ihnen, die doch nicht unglaublich waren früher nicht glauben wolltest sollst Du künftig UNGLÄUBIG heißen. Als der Tag anbrach, kam er gesund heraus.“ Aus Epidauros wird uns auch eine heitere Heilungsgeschichte berichtet. „Nikanor, gelähmt. Diesem entriss, als er, ohne zu schlafen dasaß, ein Kind den Stock und lief damit davon. Er aber sprang auf, verfolgte es und wurde darauf gesund“.

Die Nervennaht

Wenn man eine knifflige Reparatur auszuführen hat, kennt man meistens jemand, der das machen könnte. Man hat einen Freund mit Uhrmacherhänden, der auch noch Spaß daran hat, ein schwieriges technisches Problem zu lösen und die Sache wieder in Ordnung zu bringen. In der Medizin erscheinen solche Begabungen häufig und nützlich. Insbesondere in den operativen Fächern findet man eine solche Leidenschaft zur Reparatur durch Herstellung des ursprünglichen Zustands.

Solche Motive müssen wohl auch die frühen Wundärzte bewegt haben, die eine Nervennaht anstrebten, ohne zu wissen, ob das zu einem Erfolg in der Funktionswiederherstellung führen würde oder ob sie etwas Unsinniges machten. Es scheint wohl erwiesen, dass die griechischen Ärzte vor Galen zwischen Sehnen, Ligamenten und Nerven nicht zu unterscheiden wussten. Die Forderung nach einer „Nervennaht“, die wir zum ersten Mal von Paulos von Aegina, einem byzantinischen Arzt des 7. Jhd.n.Chr. (ein auch in den späteren Jahrhunderten geschätzter Compiler klassischen medizinischen Wissens), hörten, entstand wohl aus der Einsicht, dass es nicht falsch sein konnte, durch ein Trauma Getrenntes wieder aneinanderzuheften. Und so versuchten denn zunächst im Morgenland und später in Europa, Chirurgen das zusammenzunähen, was wohl zusammen gehört.

Der Fürst der arabischen Medizin, der Perser Avicenna (980 - 1037), an der galenisch-aristotelischen Wissenschaft orientiert, wur-



Abb. 3: Wunderheilung einer Fallhand (Radialislähmung) Mosaik in Ravenna

de mit seinem fünfbändigen Kanon die führende Autorität seiner Zeit und blieb das auch nach der lateinischen Übersetzung seiner Werke bis in das 16. Jahrhundert im Abendland. Er empfahl die Adaptation eines durchtrennten Nervs durch Zusammennähen des Perineuriums, also der bindegewebigen Hüllen des Nervs. Über den Erfolg dieser Operation wissen wir leider nichts Sicheres. Immerhin blieb diese Technik im Gespräch und begegnet uns in der Medizin von Bologna wieder, die sich im 13.Jhd. neben Salerno als die führende Medizinschule Europas etablierte. Diese sogenannten „Oberitalienische Medizin“ verdankte der Ärztefamilie der Borgognoni aus Lucca sehr viel an praktischen Erfahrungen und theoretischen Überlegungen. Aus dieser Schule stammt auch Wilhelm von Saliceto (1210-1280), der versuchte, die Chirurgie wieder in die wissenschaftliche Medizin einzugliedern. Sein Schüler Guido Lanfranchi lernte es, zwischen verschiedenen Verletzungsarten der peripheren Nerven zu unterscheiden. Es wurde ihm klar, dass eine Stichverletzung, die einen Nerv längs oder quer traf, zu unterschiedlich schweren Beeinträchtigungen führte. Die Schule von Bologna kannte und praktizierte die von Avicenna empfohlene Nahttechnik und gab sie auch weiter, z.B. an Guy de Chauliac (um 1300 -1368).

Mit Chauliac erreicht die französische Chirurgie des Mittelalters einen Höhepunkt. Sein „Collectorium“ umfasste als Lehrbuch die gesamte Chirurgie und blieb für mehr als zwei Jahrhunderte das autoritative Werk des Faches, die „Chirurgia magna“. Sie enthält

Tausende von Zitaten von etwa 100 medizinischen Klassikern, wobei er sich besonders gerne auf die arabische Chirurgie des Abulcasis (939 - 1010 in Cordoba) und seinen „Tesrif“ bezieht. Das letzte Buch dieses Werkes erscheint sogar 1497 in lateinischer Übersetzung in Venedig unter dem Namen des längst verstorbenen Guy de Chauliac, sozusagen ein posthumes passives Plagiat. Eine besondere Pikanterie ist dabei, dass auch das Original von Abulcasis großzügig von den Schriften des Paulos von Aegina aus der Alexandrinischen Schule profitiert hatte, der, wie schon erwähnt, einer der fleißigen Kompilatoren der spätantiken Medizin war.

Die Misere der Stagnation im Fortschritt des medizinischen Wissens eines ganzen Jahrtausends muss man wohl auf zwei Faktoren zurückführen: Autoritätsgläubigkeit und Fehlen des Experiments. Die großen Ikonen des Altertums wie Hippokrates, Aristoteles und Galen galten bei allen Nachfolgern als unantastbar, als herrschende Meinung, als absolute Wahrheiten. Das galt für alle postantiken Kulturen, die byzantinische, die arabisch-muslimische ebenso wie für die christliche des Abendlands. Die religiösen Ideologien verboten außerdem die Obduktion, quasi die Verifizierung und Evaluation des Naturexperimentes der Krankheit. Dass es keine Tierexperimente gab lag auf der gleichen Linie. So bestand der Fortschritt immer nur aus neuen Spekulationen, die sich bald mit anderen genauso wenig fundierten Ideen zu messen hatten, wobei die Rhetorik immer eine größere Beweiskraft hatte als der faktische Nachweis durch ein oft wenig durchschaubares Experiment.

Vor diesem Hintergrund müssen wir aber noch den wirklichen Beitrag Chauliacs zur Regeneration peripherer Nerven nach Trauma würdigen. Der Leibarzt dreier Päpste in Avignon erlebte auf dem Schlachtfeld zum ersten Mal auch Schussverletzungen durch das kürzlich erfundene Schießpulver und die damit revolutionär veränderte Kriegstechnik und in ihrem Gefolge auch die Kriegschirurgie. Chauliac empfahl die Readaptation durchtrennter Nervenstümpfe durch Vernähen des Perineuriums oder benachbarten Gewebes (cum carne). Er äußerte erstmals eine Meinung hinsichtlich der Resultate und beobachtete, dass ein geringer Substanzverlust an der Verletzungsstelle des Nervs die Überleitung von „etwas Vitalität“ nach der Nervennaht und den Funktionsverlust für den Patienten verkürzt. Mit dem heutigen Wissen gesehen hatte er beobachtet, dass ein großer Abstand zwischen proximalem und distalem Stumpf eines durchtrennten Nervs auf den Erfolg und den zeitlichen Ablauf der



Regeneration von großem Einfluss waren. Ganz besonders wichtig ist aber die folgende Feststellung: „Ich habe gesehen und gehört von vielen durchtrennten Nerven und Sehnen, die durch die Naht restituiert oder hilfreich verbessert wurden, was nachgerade unglaublicherweise (*incredibile*) festgestellt werden konnte nachdem diese ja durchschnitten waren.“ Obwohl wir aus dem Text nicht klar entnehmen können, ob die völlig unerwarteten Erfolge der Naht nun bei den durchschnittenen Sehnen und den Nerven gesehen wurden, so spricht doch auch der erste Teil des Textes (s.o.) dafür, dass wir hier den Bericht der ersten erfolgreichen Nerven-naht vor uns haben, die auch mit der Regeneration des Nervs belohnt wurde.

Wie aus dem Disput der folgenden fünf Jahrhunderte hervorgeht, war diese Erstbeschreibung wohl kein Durchbruch und hat keinesfalls zum Verständnis der Regeneration im Nervensystem beigetragen, zumal die Nahttechnik auf Grund der hippokratischen Befürchtungen von „Convulsiones“ nach Punktieren der Nervenstümpfe mit der Nadel umstritten war.

Die erste Beobachtung einer Nervenregeneration im Experiment

Fromme Berichte über die Wunderheilungen von Gelähmten waren sicher den Zeitgenossen des 18. Jahrhunderts geläufig. Vielleicht war auch deshalb die Skepsis so groß, als William Cumberland Cruikshank 1776 zum ersten Mal das Zusammenwachsen von zwei von ihm selbst durchtrennten Nerven beobachtete und dieses als Regeneration deutete. Auf welchem Hintergrund kam es zu diesem Experiment und zu dieser Entdeckung?

William Cruikshank (1745-1800) arbeitete als Prosektor für den berühmten schottischen Anatom und Chirurgen John Hunter (1728-1793). Dieser wunderte sich über die unterschiedlichen klinischen Bilder nach Verletzungen der Halswirbelsäule in verschiedenen Höhen. Verletzungen im oberen Halsteil führten schon nach wenigen Stunden zum Tod durch Atemlähmung während bei den Verletzungen im unteren Teil die Zwerchfellatmung erhalten blieb. Eine solche lokalisierte Funktion des Rückenmarks widersprach völlig der von Albrecht von Haller beherrschten Meinung, nach der das Rückenmark nur in seiner Gesamtheit eine Funktion ausübte. Cruikshank bemühte sich, diesen Widerspruch durch eine Serie von Experimenten aufzuklären und kam zu bahnbrechenden Erkenntnissen über die Beziehungen von Atmung, Herz-tätigkeit und Nervensystem. Sein Werk ist ein Meilenstein auf dem Wege zur Entdeckung

des Atemzentrums. Im Rahmen dieser Experimente wurde auch der Vagusnerv durchschnitten und nach einigen Wochen fand der ebenso aufmerksame wie erstaunte Prosektor, dass die Lücke zwischen dem proximalen und dem distalen Stumpf des Nervs durch ein Kallus-ähnliches Material gefüllt war. Hören wir ihn selbst 20 Jahre später: „Diese Experimente waren für einen anderen Zweck gemacht und durch welche ich die Unabhängigkeit der Bewegungen des Herzens von seinen Nerven und die Regeneration in den Nerven selbst entdeckte.“

Zeitlos gültig ist auch die Beschreibung der beiden Enden der durchschnittenen Nerven. Er fand sie kugelig angeschwollen, offensichtlich eine Folge des Anstaus von zytoplasmatischem Transport in den Axonen, der allerdings erst mehr als 175 Jahre später von Paul Weiss entdeckt werden sollte. Weil das Material, das den Zwischenraum zwischen den beiden Enden ausfüllte, die gleiche Farbe hatte wie peripheres Nervengewebe, wurde auf eine gewebliche Regeneration des durchtrennten Nervs geschlossen. In späteren Versuchen ergab sich aus den Protokollen auch eine Wiederherstellung der Funktion, sodass wir auch diese Entdeckung der funktionellen Restitution einer peripheren Nervenfunktion dem Prosektor William C. Cruikshank verdanken.

Eine Entdeckung gilt in den experimentellen Disziplinen der Wissenschaft solange als ungesichert, wie sie nicht von anderer Seite

bestätigt oder widerlegt ist. Auch im Falle der Entdeckungen von Cruikshank war dies so. Es gab sogar zwei renommierte Forscher, die seine Resultate bestätigten, allerdings erst viele Jahre später und das lag an der Veröffentlichung der Ergebnisse von Cruikshank.

Mehrere Quellen geben uns die folgende Geschichte des harzigen Publikationsversuchs wieder. Auf Anregung von John Hunter schrieb Cruikshank ein Papier über seine Forschungen, das von Hunter der Royal Society zum Druck eingereicht wurde (ca.1776). Es scheint, dass die Entdeckung zu sehr der herrschenden Meinung widersprach, die von Albrecht von Haller vertreten wurde, einem Schweizer, der in Göttingen als Professor der Medizin lehrte und die markanteste Persönlichkeit dieser Zeit nach dem Tode seines Lehrers Hermann Boerhaave war. Der Präsident der Royal Society, Sir John Pringle, war ein guter Freund von Haller und hat möglicherweise der Lehrmeinung der Berühmtheit aus Göttingen mehr Vertrauen geschenkt als dem „Dissektor“ aus Schottland. Fast zwei Jahrzehnte später führte John Haighton sehr ähnliche Experimente durch und kam zu den gleichen Ergebnissen wie Cruikshank. Er hatte das Privileg, seine Resultate der Royal Society vortragen zu dürfen, wo sie auch von Sir Everard Home, einem Schwager von John Hunter, gehört wurden. Dieser erinnerte sich an die Experimente von Cruikshank und überzeugte den Präsidenten, dass beide Papiere in die *Philosophical Transactions* des Jahres 1794 aufgenommen werden sollten. *Quod non est in libro non est in mundo*. Mit dieser Publikation war die Entdeckung der Nervenregeneration bekannt gemacht und somit in der Welt. Dass die Entdeckung „in der Welt“ war, zeigte sich bereits vor dem denkwürdigen Jahr.

Abbé Felix Fontana, einer der führenden italienischen Forscher des Nervensystems der Zeit besuchte das Laboratorium von Hunter und begegnete William Cruikshank im Jahre 1778. Dieser zeigte ihm seine Präparate. Fontana war nicht unerfahren auf diesem Gebiet, denn er hatte schon Durchtrennungsexperimente mit dem Ischiasnerv gemacht, allerdings ohne ein „Zusammenwachsen“ gesehen zu haben. Die Präparate von Cruikshanks Experimenten, die bis heute im Hunter Museum in Glasgow erhalten sind, müssen auch den Abbé beeindruckt haben, denn er begann eine neue Serie von Experimenten und nutzte seine technischen Möglichkeiten, nämlich die Mikroskopie. Er bestätigte, dass die füllende Substanz zwischen den beiden Enden des durchschnittenen Vagusnervs ebenso „streifig oder spiralförmig“ aussah wie bei anderen Nerven. Dieser Befund



Abb. 4: William Cruikshanks Original-Präparat der ersten experimentellen Vagotomie mit erfolgreicher Regeneration 1776. Courtesy of Hunters Museum, Glasgow)

ist für den modernen Betrachter schwierig zu akzeptieren. Wir nehmen heute an, dass die Substanzen, die man zwischen dem proximalen und dem distalen Stumpf sieht, aus Axonsprossen, Schwann-Zellen und Fibroblasten bestehen, die nicht unbedingt der Struktur des normalen Nervs ähneln.

Die Entdeckung von William C. Cruikshank und die Bestätigung durch Haighton und den Abbé Fontana sind der Anfang der Erforschung der Regenerationsfähigkeit des Nervensystems und damit zugleich das Ende einer schier nicht zu begreifenden Periode der Unwissenheit, die man von der Erstbeschreibung der Querschnittslähmung durch den weisen Imhotep auf 4500 Jahre schätzen darf. Mit dem Jahr der Publikation der Entdeckung im Jahre 1795 erreichen wir fast schon das 19. Jahrhundert. Was stellte sich die gelehrte Welt zu diesem Zeitpunkt unter dem Nervensystem vor? Spätestens seit Vesals (1514-1564) wunderbarer Anatomie war die Einheit des Nervensystems, d.h. der Zusammenhang zwischen dem Gehirn und dem Rückenmark einerseits und den peripheren Nerven andererseits allgemeines Wissen der Ärzte. Allerdings fehlten noch weitgehend die Kenntnisse über die Histologie, d.h. die mikroskopischen Fakten, die erst eine realistische Theorienbildung erlaubten. Die Hirnphysiologie des René Descartes (1596-1650) ist hierfür eine treffliches Beispiel.

Den experimentellen Beobachtungen von Cruikshank und Haighton folgten bald klinische Befunde beim Menschen. In wenigen Jahren des frühen 19. Jahrhunderts galt das Zusammenwachsen von peripheren Nerven als gesichertes Wissen. Allerdings war es erst Augustus Waller in London, der erkannte, dass die Nervenregeneration die Verbindung zum Neuron als „nutritivem Zentrum“ benötigte und dass die Regeneration des Neuriten stets vom proximalen Stumpf ausging, während die von der Nervenzelle abgetrennten Nervenfasern zerfielen, eben der Wallerschen Degeneration unterlagen. In Analogie zu diesen Erfolgen in der Peripherie folgerte man, dass es auch bei zentralen Unterbrechungen der „Nervenleitungen“ zu einer spontanen Reparatur kommen müsste. Man bemühte sich konsequent, diese zu erforschen und für die Heilung zentraler Lähmungen zu nutzen.

Der prominenteste und konsequenteste Forscher dieser Zeit war der große Spanier Santiago Ramon y Cajal, der Vater der Neuronentheorie und der Neurohistologie. Mehr als zwanzig Jahre widmete er sich experimentell dem Thema Regeneration im Rückenmark und Gehirn und beschrieb die ganze Pathologie des Neurotraumas mit allen Reaktionen an den Nervenzellelementen und

Opinions concerning the causes of the breakdown of regeneration of the central tracts. --All the above observations with regard to the phenomena following on spinal, cerebellar, and cerebral traumatism, lead to the conclusion that, as is well known, the central tracts are incapable of regeneration, for the majority of the regenerative acts described in man and laboratory animals are temporary reactions, aborted restoratory processes, incapable of bringing about a complete and definitive repair of the interrupted paths.

Abb. 5: Santiago Ramon y Cajal (1928) fasste seine Meinung abschließend in diesem Verdikt über die Regenerationsfähigkeit des ZNS zusammen. Aus „Degeneration and Regeneration of the Nervous System“, Vol.2,pg 744

den Gliazellen. Als er in den 20er Jahren des XX. Jahrhunderts die Ergebnisse seiner Forschungen in zwei epochalen Bänden publizierte, kam er am Ende zu dem Schluss, dass eine Regeneration im ZNS nicht möglich ist. Unterbrochene Leitungsbahnen im Gehirn oder Rückenmark sind nicht reparabel. Wir werden an Imhotep erinnert: „eine Krankheit, die man nicht behandeln kann.“ Dieses Verdikt eines der angesehensten Neurowissenschaftlern seiner Zeit beendete für 50 Jahre die Regenerationsforschung in der Welt.

Erst mit der Entdeckung des Nervenwachstumsfaktors NGF durch Rita Levi-Montalcini (Nobelpreis 1986) und des axonalen Transports in den Nervenfasern durch Paul A. Weiss, begleitet von der stürmischen Entwicklung neuer zellbiologischer Methoden wie der Zellkultur, der Elektronenmikroskopie und der radioaktiven Tracer kam frisches Interesse in dieses Forschungsgebiet. Ein neuer Optimismus breitete sich aus, als es Albert Aguayo gelang, mit seinen Transplantationsversuchen den „proof of principle“ zu führen für die grundsätzliche Fähigkeit zentraler Axone zur Regeneration. Es kam auf das zelluläre und molekulare Milieu an, das die wachsenden Nervenfasern vorfinden mussten. Martin Schwab gelang es dann mit seinen später Nogo genannten Molekülen, ein von den Oligodendrogliazellen oder dem Myelin ausgehendes inhibitorisches Prinzip zu finden, das den repulsiven Effekt von Gliazellen und den Kollaps der axonalen Wachstumskegeln erklärte.

Der eigene Beitrag

In meinem Labor in München und in Martinsried haben wir die zellulären Interaktionen an der peripheren Läsionsstelle, die enzymatischen und metabolischen Veränderungen in der regenerierenden Nervenzelle, also besonders der zentralen Motoneurone sowie die sie begleitenden Gliareaktionen, untersucht. Dabei wurden schon früh Entdeckungen gemacht, die später auch in ande-

rem Zusammenhang Bedeutung erhielten. So fand ich schon 1966 die frühe Proliferation der perineuronalen Mikroglia bei axotomierten Motoneuronen des Fazialis Kerns. Der Nachweis des Verlusts von synaptischen Bouton auf der Oberfläche dieser Motoneurone war völlig unerwartet und ging als „synaptic stripping“ in die Literatur ein (zusammen mit K.H. Blinzinger 1968). Dieses Phänomen erklärt auch die Entstehung der häufigen Dyskinesien nach Verletzung des Fazialisnerven bei Patienten.

Auf Einladung von Paul Weiss verbrachte ich das berühmte Jahr 1968 in New York an der Rockefeller Universität. Mit dem experimentellen Nachweis, dass Colchicin den axonalen Transport blockierte, hatte ich zum ersten Mal ein mechanistisches Prinzip für den axoplasmatischen Transport gefunden, der offensichtlich intakte Mikrotubuli benötigte. Es stellte sich heraus, dass dieses auch für die Dendriten galt. Der dendritische Transport, der in meinem Labor erstmals durch Einzelzellinjektionen nachgewiesen worden war, konnte nun auch gemessen werden (zusammen mit Peter Schubert). Wir fanden, dass ein spinale Motoneuron seine äußerste dendritische Peripherie innerhalb von nur zwanzig Minuten mit neugebildeten Proteinen erreichen konnte. Mit Blick auf die in-

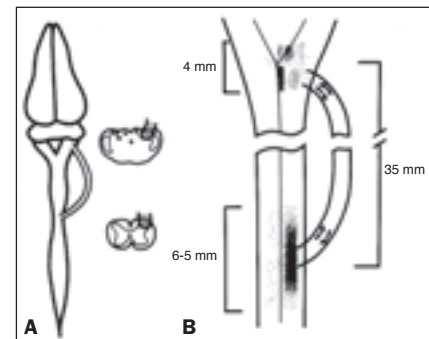


Abb. 6: Albert Aguayos Schlüsselexperiment, das den „proof of principle“ der Regeneration von ZNS - Axonen brachte (Science 214, 931, 1981)

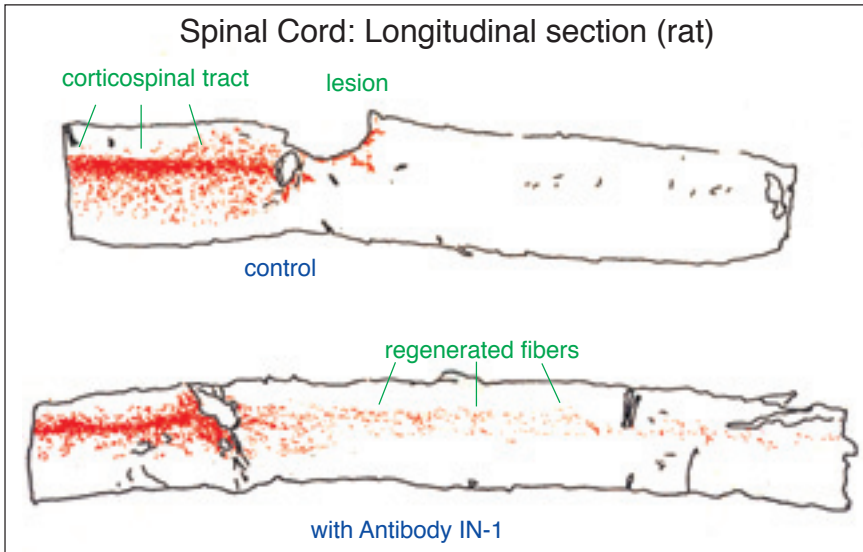


Abb. 7: Originalprotokollskizze eines Anti-Nogo-Experiments von Martin Schwab und Lisa Schnell.

zwischen entdeckte Dynamik in dendritischen Spines ist dies ein passender Befund (T.Bonhoeffer).

Unser besonderes Interesse fanden die Gliareaktionen im Umfeld der regenerierenden Motorneurone. Axotomie oder Quetschung des peripheren Nervs stimulierte die Mikroglia und die Astrozyten zu reaktiven Zellen. Damit stand zum ersten Mal ein experimentelles, leicht reproduzierbares Modell zur Verfügung, mit dem man Nervenzellen und perineuronale Glia aktivieren konnte ohne das Gehirn zu traumatisieren, sogar ohne es zu berühren. Damit gelang erstmals die saubere Unterscheidung der hirneigenen von den vaskulär und hämatogen gesteuerten Abwehrmechanismen (mit Carola Haas, R. Banati, W. Tetzlaff, M. B. Graeber, W. Streit, S. Schön, G. Raivich, M. Reddington, G. Hager, J.Priller et. al.).

Das Modell des axotomierten Fazialissystems fand eine unerwartete Anwendung in der Suche nach Überlebensfaktoren für ver-

letzte Nervenzellen. Es war bekannt, dass die Durchschneidung des N. Facialis in der postnatalen Phase zu einem Untergang der anhängigen Neurone führte. Mit Michael Sendtner und Hans Thoenen benutzten wir diese Beobachtung, um die Wirkung von Neurotrophinen zu untersuchen. Dabei fanden wir für den „ciliary neurotrophic factor“ CNTF einen eindrucksvollen lebenserhaltenden Effekt auf die amputierten motorischen Nervenzellen. Diese erste Beobachtung wurde dann auch auf viele andere Wachstumsfaktoren und Zytokine angewandt und entwickelte sich bald zu einem Standardtest für neurotrophe Wirkungen.

Auf der Suche nach den entscheidenden metabolischen, enzymatischen und zellbiologischen Korrelaten der Regeneration von Neuronen haben wir die meisten uns damals zugänglichen Parameter untersucht. Es war eine mühselige Arbeit. Nur ganz allmählich konnten wir uns ein Bild machen darüber, dass während der Regeneration die Gene abge-

schaltet wurden, die mit den Vorgängen der synaptischen Übertragung oder der Neurotransmission zu tun hatten. Viele Proteine, die jedoch mit der Energieversorgung, dem Membranaufbau oder dem Transport verbunden waren, waren hoch reguliert. Die heutige Methodik mittels Mikrochips über die Genexpression an viel umfassendere Daten und darauf basierend zu rationalen Strategien zu gelangen, führt uns auch die Vergänglichkeit großer Anstrengungen in der sich schnell verändernden Wirklichkeit der Wissenschaft vor Augen.

Literatur

Graeber, M. B., Blakemore, W. F. und Kreutzberg, G. W. (2002): Cellular Pathology of the Central Nervous System. In: Graham, D. I. and Lantos, P. L. (eds) *Greenfield's Neuropathology*, 7th Edition. London: Arnold; 123-191.
 Kreutzberg, G.W. (1996): Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci.* 19 : 312-318.
 Moran, L. B. und Graeber, M. B. (2004): The facial nerve axotomy model. *Brain Res. Rev.* (im Druck).

Kurzbiographie

Georg W. Kreutzberg: geb. 1932 in Bad Neuenahr-Ahrweiler, Studium der Medizin in Bonn, Freiburg, Innsbruck, Wien; ärztliche Approbation und Promotion in Freiburg/Br., Facharzt und Habilitation für Neuropathologie in München. Postdoc am MIT, Cambridge, USA, Visiting Prof. an der Rockefeller University und an der Universität Zürich. Seit 1978 Wissenschaftliches Mitglied und Direktor am MPI für Psychiatrie in München und am MPI für Neurobiologie in Martinsried, davon elf Jahre als Geschäftsführender Direktor des Theoretischen Instituts. Er war Präsident der Deutschen Gesellschaft für Zellbiologie und Präsident der International Society for Neuropathology. Als Präsident der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft (1990-2000) erhielt er zusammen mit Helmut Kettenmann für die NWG den PUSH Preis des BMBF. Er ist Dr. med. h.c. der Medizinischen Universität Szeged, Ungarn, und seit 2000 Emeritus.

Korrespondenzadresse

Prof. em. Dr. Georg W. Kreutzberg
 MPI für Neurobiologie
 Am Klopferspitz 18
 D-82152 Martinsried
 Tel.: ++49 (0) 89 8578 3650
 Fax: ++49 (0) 89 8578 3939
 e-mail: gwk@neuro.mpg.de

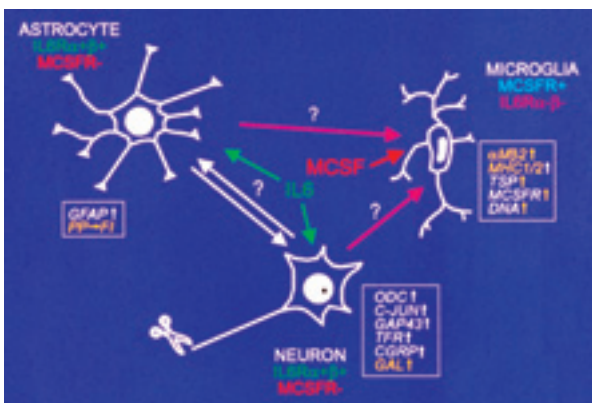


Abb. 8: Zelluläre Interaktion zwischen Glia und Neuronen im Fazialischen nach Nervenläsion. (Kreutzberg & Raivich)

ARTIKEL DES QUARTALS

Vorgestellt von Joachim W. Deitmer

FB Biologie der TU Kaiserslautern, Postfach 3049, 67653 Kaiserslautern

Truncated TrkB-T1 mediates neurotrophin-evoked calcium signalling in glia cells

Rose, C.R., Blum, R., Pichler, B., Lepler, A., Kafitz, K.W., Konnerth, A.

Erschienen in *Nature*, November 6; 426, 74-78 (2003).

Neurotrophine sind Proteine, die, ähnlich wie Nervenwachstumsfaktoren, die Entwicklung, das Überleben und Funktionieren von Neuronen gewährleisten bzw. fördern (Barde 1989). Dafür binden die Neurotrophine an Rezeptoren in der neuronalen Membran, die zu der Familie der Tyrosin-Rezeptor-Kinasen (Trk) gehören. Christine Rose und weitere Mitglieder der Arbeitsgruppe von Arthur Konnerth vom Physiologischen Institut der LM Universität München haben in ihrem Artikel jetzt eine neue Rolle dieser Proteine beschrieben, und zwar bei dem Dialog

wenig von dem vollständigen *TrkB*-Rezeptor exprimieren, dafür aber um so mehr von dem verkürzten Rezeptor *TrkB-T1*. BDNF löst in Gliazellen über diesen verkürzten Rezeptor eine Signalkaskade aus, die nicht eine Tyrosinkinase aktiviert (die fehlt ja eben bei diesen Rezeptoren), sondern, wie viele Liganden metabotroper Rezeptoren, an ein G-Protein gekoppelt ist. So konnte erstmals gezeigt werden, dass auch die unvollständigen *TrkB-T1*-Rezeptoren funktionelle Rezeptoren darstellen, die, zumindest in Gliazellen, eine Signalkaskade in Gang setzen.

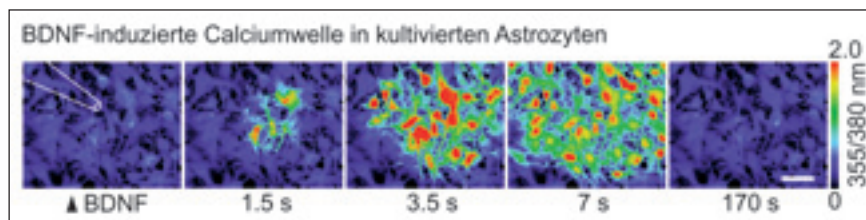


Abb. 1: Kalziumsignale in kultivierten Astrozyten der Ratte, ausgelöst durch Applikation von 20 ng/ml BDNF für 50 ms mit Hilfe einer Glaspipette (schematisch links im 1. Bild angedeutet). Blaue Farbtöne repräsentieren niedrige Kalziumkonzentrationen, rot stellt hohe Kalziumkonzentrationen dar.

zwischen Neuronen und Gliazellen. BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), das von Neuronen gebildet wird, bindet an Astrogliazellen und aktiviert dort einen ‚verkürzten‘ Rezeptor, *TrkB-T1* (*truncated TrkB*), dem die Tyrosinkinase-Aktivität fehlt.

Bisher war nur wenig über diesen *TrkB-T1*-Rezeptor bekannt – er kommt hauptsächlich im sich entwickelnden Nervensystem vor – und man schrieb ihm eher eine die Wirkung von Neurotrophinen unterdrückende Rolle zu, in dem er den Protein-Botschafter zwar bindet, aber keine Signalkaskade auslöst. Rose et al. haben nun gezeigt, dass Gliazellen im Gegensatz zu Neuronen nur

Worin besteht nun dieser durch BDNF über *TrkB-T1*-Rezeptoren vermittelte Signalweg? Er mündet, wie viele Signalkaskaden in Gliazellen, in einer Erhöhung des cytosolischen Kalziumspiegels. Ähnlich wie viele klassische Neurotransmitter, z.B. Glutamat und Noradrenalin, aber auch ‚neue‘ Transmitter wie ATP und eine Reihe von Peptiden, stimuliert BDNF über den Rezeptor ein G-Protein, das die Phospholipase C aktiviert und zur Produktion der intrazellulären Botschafter Diacylglycerin (DG) und Inositoltrisphosphat (IP_3) führt. IP_3 initiiert die Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Speichern, vor allem dem Endoplasmatischen

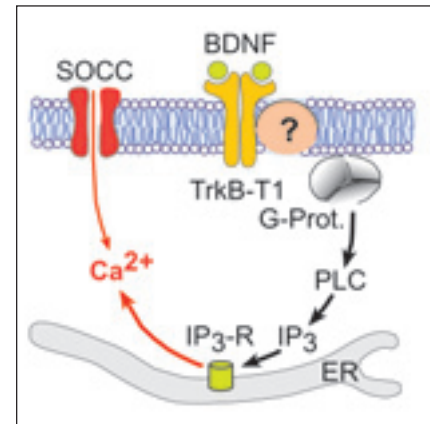


Abb. 2: Modell der zellulären Mechanismen BDNF-induzierter Kalziumtransienten in Gliazellen. Die Bindung von BDNF an truncierte TrkB-T1 Rezeptoren aktiviert ein G-Protein (G-Prot). Dies führt zur Aktivierung der Phospholipase C (PLC) und zur Bildung von IP_3 , welches die Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Speichern auslöst. Die Speicherentleerung induziert den Einstrom von Kalzium aus dem Extrazellulärraum über Speicher-gesteuerte Kalziumkanäle (SOCC).

Retikulum. Diese Kalziumfreisetzung kann in Form einzelner Transienten oder Oszillationen im Cytosol zu fortgeleiteten Kalzium-Signalen führen, sog. *Kalzium-Wellen*, die vermutlich auch über Zellgrenzen hinweg verschiedene Gebiete des Gehirns funktionell verbinden können (Schipke et al. 2002).

Was bedeuten nun Kalzium-Signale in Gliazellen, die von Neuronen ausgelöst werden? Hier fügen sich die Ergebnisse von Rose et al. nahtlos in ein in den letzten Jahren entwickeltes, ganz neues Konzept über die Rolle von Gliazellen. In diesem Konzept kommen den Gliazellen eine unmittelbare Bedeutung für die Informationsverarbeitung im Gehirn zu. Dies ist insofern neu, als Gliazellen bisher mehr als Ernährer und Stützgerüst für die Neuronen, und bei Entwicklungsprozessen allenfalls als Leitschienen für neuronale Wanderungen angesehen wurden. Seit kurzem wissen wir aber, dass Gliazellen bei dem synaptischen Dialog zwischen Neuronen ‚mitsprechen‘ und ihn zu einem Dialog machen (Haydon 2001). Dabei könnten diese Kalzium-Signale die Freisetzung des erregenden Transmitters Glutamat aus Gliazellen auslösen. Zusammen mit anderen Transmittern, die von Gliazellen entlassen werden können, wie z.B. das allgegenwärtige ATP, könnten diese ‚*Glia-transmitter*‘ neuronale Aktivität und insbesondere Funktion und Plastizität von neu-



ronalen Synapsen modulieren. Letzteres ist ein so spektakuläres Gebiet der Neurobiologie geworden, dass die Deutsche Forschungsgemeinschaft kürzlich ein neues Schwerpunktprogramm mit dieser Thematik eingerichtet hat (s. Deitmer 2003).

In aufwendigen Versuchsreihen, die molekularbiologische, immunzytochemische und pharmakologische Hinweise für die Wirkung von BDNF an Gliazellen sowohl in Kultur als auch im akuten Hirnschnitt liefern, legen die Autoren eine beeindruckende ‚Beweiskette‘ vor. Durch den Einsatz von Antisense-Nukleotiden, die transfiziert wurden, und von transgenen Mäusen, in denen die Expression des vollständigen *TrkB*-Rezeptors unterdrückt ist, konnten die Befunde erhärtet werden. Rose et al. haben damit einen weiteren, wichtigen Baustein für unser Verständnis der Neuron-Glia-Kommunikation und ihrer Bedeutung für zelluläre Informationsverarbeitung im Gehirn geliefert.

Literatur

- Barde, Y.-A. (1989): Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 2: 1525-1534.
- Deitmer, J.W. (2003): Die Rolle der Glia für die neuronale Kommunikation. *Neuroforum* 3.03: 98-99.
- Haydon, P.G. (2001): Glia: Listening and talking to the synapse. *Nat. Rev. Neurosci.* 2: 185-193.
- Schipke, C.G., Boucsein, C., Ohlemeyer, C., Kirchhoff, F. und Kettenmann, H. (2002): Astrocyte Ca^{2+} waves trigger responses in microglial cells in brain slices. *FASEB J.* 16: 245-257.

Fragen an die Autoren

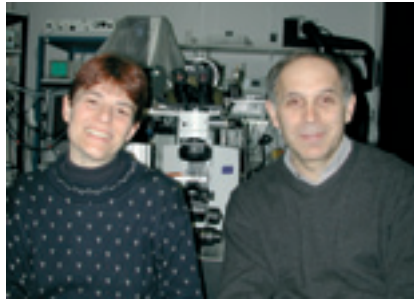
Frage: Wie sind Sie auf die im Artikel beschriebenen Befunde gestoßen? Welche Arbeiten haben Sie zu Ihrer Fragestellung inspiriert?

Christine Rose und Arthur Konnerth: Die überraschende Entdeckung unserer Arbeitsgruppe vor einigen Jahren, dass der Wachstumsfaktor BDNF ähnlich wie ein konventioneller schneller Neurotransmitter auf Nervenzellen wirkt.

Frage: Wann haben Sie begonnen, sich für die Neurowissenschaften zu interessieren?

Christine Rose: Während meines Studiums der Biologie in Konstanz, wo ich die hervorragenden Vorlesungen von Prof. Rathmayer, Florey und Markl hören durfte.

Arthur Konnerth: Während der ersten Semester des Studiums der Medizin. Bereits im 4. Semester hatte ich mit einer neurophysiologischen Promotionsarbeit begonnen.



Christine Rose und Arthur Konnerth

Frage: Warum sind Sie Wissenschaftler geworden?

Christine Rose: Weil Wissenschaft etwas sehr spannendes ist. Sie steckt voller Überraschungen. Als Wissenschaftlerin ist man natürlich in erster Linie Forscherin, aber auch Managerin, Werbefachfrau, Graphikerin, Schriftstellerin, ... Ich kenne kaum einen anderen Beruf, der so abwechslungsreich ist.

Arthur Konnerth: Wegen der Möglichkeit, selbstbestimmt und doch gemeinsam mit vielen Gleichgesinnten arbeiten zu können. Für mich ist Wissenschaft eines der letzten großen Abenteuer.

Frage: Wer oder was hat Sie wissenschaftlich besonders geprägt?

Christine Rose: Natürlich meine gesamte Ausbildung. Besonders motiviert hat mich allerdings ein 8-wöchiger Sommerkurs in Neurobiologie am Marine Biological Institute in Woods Hole, an dem ich während meiner Doktorarbeit teilgenommen habe. Dort habe ich gelernt, dass Wissenschaft Herausforderung ist und wirklich Spaß machen kann.

Arthur Konnerth: Meine akademischen Lehrer Hans Dieter Lux und Uwe Heinemann (Max-Planck-Institut für Psychiatrie), Bert Sakmann und Erwin Neher (Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie) und Clay Armstrong (University of Pennsylvania, USA).

Frage: Welche menschlichen Eigenschaften sind Ihres Erachtens für eine erfolgreiche wissenschaftliche Karriere eine wichtige Voraussetzung?

Christine Rose: Begeisterungsfähigkeit, Motivationsfähigkeit, Durchhaltevermögen und Fleiß. Nicht zu vergessen: die Fähigkeit zu Teamwork.

Arthur Konnerth: Eine hohe Begabung schadet sicherlich nicht, entscheidend sind aber Motivation und die Fähigkeit zur Selbstkritik.

Frage: Wie schätzen Sie die gegenwärtige Situation an den deutschen Universitäten ein?

Christine Rose: Eigentlich ganz positiv. Die immer stärkere Betonung der Drittmittelfinanzierung fördert den Wettbewerb und die Qualität der Forschung. Allerdings sollte mehr Geld für Lehre (sowohl für Personal als auch für Sach- und Verbrauchsmittel) bereitgestellt werden, damit diese sich am neuesten Stand der Wissenschaft orientieren kann.

Arthur Konnerth: Wenig erfreulich, weil Anspruch und Wirklichkeit zunehmend auseinander klaffen. Besonders besorgt bin ich von der Tatsache, dass die Anzahl der Dauerpositionen für den wissenschaftlichen Nachwuchs abnehmen und dass wir in der Medizin immer noch große Schwierigkeiten haben, die wissenschaftlich interessierten Studenten adäquat auszubilden.

Frage: Was raten Sie begabten Studenten, die sich für eine wissenschaftliche Laufbahn interessieren?

Christine Rose: Sich früh darüber klar zu werden, was eine wissenschaftliche Karriere für Privat- und Berufsleben bedeutet und dann unbeirrt ihren Neigungen und Interessen zu folgen.

Arthur Konnerth: Selbstbewusst zu ihrer Neigung zu stehen und sich einen herausragenden Mentor auszusuchen.

Frage: Wie würden Sie die Sonnen- und Schattenseiten Ihres Wissenschaftlerlebens beschreiben?

Christine Rose: Die Sonnenseiten sind sicher, dass man die Fortschritte in der aktuellen Forschung hautnah miterlebt und auch selbst mitgestalten kann. Auch die Interaktion mit Studenten und die Wissensvermittlung ist eine befriedigende Aufgabe. Eine Schattenseite ist, dass für das Verfolgen wissenschaftlicher Themen außerhalb des eigenen Spezialgebietes oft zu wenig Zeit bleibt.

Arthur Konnerth: Die wissenschaftliche Arbeit war und ist für mich eine sehr positive Erfahrung. Es würde mich freuen, wenn die Akzeptanz und Anerkennung unserer Arbeit in der Gesellschaft wieder zunehmen würde.

Frage: Womit beschäftigen Sie sich, wenn Sie nicht forschen oder lehren?

Christine Rose: Vor allem mit meiner Familie, mit lesen und wandern.

Arthur Konnerth: Meine Familie würde antworten: forschen und lehren.

Methoden-Kurs „Analysis and Models in Neurophysiology“

S. Grün, A. Aertsen, U. Egert, S. Rotter

Mit der zunehmenden Komplexität neurophysiologischer Experimente, z.B. im Zusammenhang mit Multielektroden-Ableitungen, nimmt auch die Komplexität der Auswertung der erhobenen Daten erheblich zu. Neuerdings werden bereits experimentelle Setups mit vergleichsweise mächtigen Datenauswerteprogrammen versehen, die auf

Der Inhalt des Kurses wurde in vier Tageseinheiten vermittelt, wobei sich jeder Tag in Vorlesungen (vormittags) und praktische Übungen am Rechner (nachmittags) gliederte. Die Übungen fanden an PCs mittels vorgefertigten, in Matlab oder Mathematica programmierten Tutorials statt und wurden von den Lehrkräften und Tutoren begleitet. PD Dr. Ste-

wigs Universität Freiburg, und PD Dr. Sonja Grün, Freie Universität Berlin, behandelt. Als weiterer Themenbereich wurde von Dr. Ulrich Egert die Analyse lokaler Feldpotentiale aus Multielektroden-Ableitungen am Beispiel synaptischer Plastizität bearbeitet.

Mit den behandelten Themenbereichen wurde ein weiter Bogen durch das Arbeitsgebiet und das zugehörige Methodenspektrum der „Computational Neuroscience“ gespannt, mit dem Schwerpunkt auf dem Teilgebiet „Neuroinformatics“. Aufgrund der Kürze der Zeit konnten natürlich nicht alle theoretischen Grundlagen im Detail erörtert werden, jedoch gelang es, das in den Vorträgen vermittelte Wissen in den praktischen Übungen zu vertiefen.

Von den zahlreichen Anmeldungen zum Kurs konnten 12 Interessenten aus mehreren europäischen Ländern und aus verschiedenen deutschen Forschungsinstitutionen nach dem ‘first come first serve’ Prinzip teilnehmen. Der Kurs fand in den neuen, ansprechenden Räumlichkeiten des Instituts für Biologie I (Zoologie), Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, statt. Die Organisation hatten die ausführenden Lehrkräfte unter Leitung von Dr. Sonja Grün übernommen.

Wir möchten an dieser Stelle Renate Czech für die organisatorische Unterstützung, den aktiven Tutoren (Michael Denker, Ute Häusler, Arvind Kumar, Martin Nawrot, Antonio Pazienti, Sven Schrader) für ihre tatkräftige Hilfe und vor allem auch der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft für die finanzielle Unterstützung danken. Aufgrund der positiven Aufnahme und der regen Nachfrage wird der Kurs auch in diesem Jahr wieder stattfinden (4. - 7. Oktober 2004). Weitere Informationen sind unter <http://www.brainworks.uni-freiburg.de/teaching/nwg-course> erhältlich.

Kontakt

Dr. Sonja Grün
Inst. Biologie, Neurobiologie
Freie Universität Berlin
Königin-Luise-Str. 28-30
D-14195 Berlin
Tel.: ++49 (0) 30 838 566 35
Fax: ++49 (0) 30 838 566 86
e-mail: nwg-course@biologie.uni-freiburg.de



Teilnehmer und Dozenten des Kurses ‘Analysis and Models in Neurophysiology’ der NWG 2003.

Knopfdruck komplizierteste Auswertungen vornehmen. Die Verantwortung der Anwendbarkeit der Methoden wird jedoch gänzlich dem Nutzer überlassen. Daraus entstand die Idee zu diesem Kurs mit dem Ziel, Neurophysiologen die mathematischen Hintergründe und die dabei explizit oder implizit angenommenen Modelle hinter der jeweiligen Auswertemethode zu vermitteln. Da oft Situationen auftreten, in denen die in Standard-Software verfügbaren Werkzeuge nicht ausreichen, war ein weiteres Ziel des Kurses, Verständnis und Selbstvertrauen zum eigenständigen Programmieren zu fördern, und somit die explorative Auseinandersetzung mit experimentellen Daten zu ermöglichen (‘the art of data analysis’).

fan Rotter, Neurobiologie und Biophysik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg und Institut für Grenzgebiete der Psychologie und Psychohygiene, Freiburg, legte die Grundlagen zu spikenden Neuronenmodellen und die Beschreibung von Spikeaktivität anhand von stochastischen Punktprozessen dar. Prof. Ad Aertsen, Neurobiologie und Biophysik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, führte in die mathematischen Grundlagen zur Beschreibung von Signaltypen und deren Modifikationen in Input-Output Systemen (Systemtheorie) ein. Die statistische Analyse von Einzelspiketrains, wie auch Korrelationsmethoden zur Analyse paralleler Spiketrains wurden durch Prof. Ad Aertsen, Dr. Ulrich Egert, beide Neurobiologie und Biophysik, Albert-Lud-



Situation von Nachwuchswissenschaftlern/innen und Karrieremöglichkeiten

Zwei Jahre sind seit dem Inkrafttreten des Fünften Gesetzes zur Änderung des Hochschulrahmengesetzes (HRG) am 23. Februar 2002 vergangen. Ein wichtiger Bestandteil dieser Dienstrechtsreform war die Neuordnung des Qualifikationsweges für Hochschullehrer. Sie war von einem Großteil der Betroffenen, insbesondere auch vom wissenschaftlichen Nachwuchs zurückhaltend aufgenommen worden (vgl. Neuroforum, Heft 2, 2002, p. 204-205: Offener Brief von Prof. Zimmermann an Frau Bundesministerin E. Bulmahn).

Im Rahmen eines „Social“ zum Thema „Neuroscience in Germany“, das Prof. Bernhard Sabel (Magdeburg) anlässlich des Annual Meeting der Society for Neuroscience in New Orleans (2003) veranstaltete, beleuchtete Prof. Herbert Zimmermann (Frankfurt) die Situation des Nachwuchses und dessen Karrieremöglichkeiten in Deutschland. Adressaten waren insbesondere deutsche Nachwuchswissenschaftler/innen, die gegenwärtig im Ausland arbeiten aber planen, in absehbarer Zeit nach Deutschland zurückzukehren.

Wichtige Punkte des neuen HRG betreffen die Professorenbesoldung, die Einführung der Juniorprofessur und die Abschaffung der Habilitation, die Schaffung eines Doktorandenstatus sowie die Neuordnung der Beschäftigung in befristeten Arbeitsverhältnissen. Allerdings muss das Rahmengesetz noch in Ländergesetze umgemünzt werden und da kann es durchaus zu Abweichungen kommen. Gegenwärtig wird z.B. an den meisten Universitäten nach wie vor habilitiert.

Das neue HRG sollte u.a. Innovationen in Forschung und Lehre durch regelmäßigen Austausch des wissenschaftlichen Personals sichern und verhindern, dass der Mittelbau im Falle des Ausscheidens nach mehrfach befristeten Beschäftigungen ohne hinreichende soziale Absicherung dasteht. Dies hat jedoch einschneidende Konsequenzen. Nunmehr werden alle Jahre (einschließlich der Promotionszeit!), die an einer deutschen Universität oder einem Forschungsinstitut verbracht wurden, zusammenaddiert und dürfen eine Gesamtdauer von 12 Jahren (Medizin 15 Jahre) nicht überschreiten. Mit gerechnet werden auch Stipendien, befristete Arbeitsverträge sowie

Drittmittel- und Privatarbeitsverträge. Offensichtlich ohne Interesse für den Gesetzgeber sind Anstellungen in der Industrie oder eine wissenschaftliche Tätigkeit im Ausland. Eine befristete Weiterbeschäftigung ist im Anschluss nicht mehr möglich. Ausnahmen bietet das ebenfalls neue Teilzeitbefristungsgesetz. Dieses ist jedoch sehr restriktiv und erlaubt keine Mehrfachbefristungen innerhalb eines vergleichbaren Forschungsprojekts. Dies treibt gegenwärtig zahlreiche wissenschaftliche Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen in der Mitte ihres Lebens in die Arbeitslosigkeit. Die als Novum eingeführte Juniorprofessur ist auf maximal sechs Jahre befristet, bietet aber im Qualifikationsfalle die Möglichkeit einer Übernahme in das Professorenverhältnis auf Dauer. Nicht zuletzt aufgrund der damit verbundenen finanziellen Anreize für die sächliche Ausstattung wurde diese Form des Qualifikationsweges in vielen Universitäten beschränkt. Langzeiterfahrungen fehlen. Der Weg zur Juniorprofessur wird aber nur wenigen Prozent der an den Universitäten tätigen Nachwuchswissenschaftlern/innen offen stehen. Der Rest steht im zweiten Glied.

Erfreulicherweise gibt es mehrere Programme, die hoch qualifizierten Nachwuchswissenschaftlern/innen zusätzliche und parallele Qualifikationswege eröffnen. Einige davon wurden erst kürzlich kreiert und sollen insbesondere die Rückkehr aus dem Ausland erleichtern. Die Fördermaßnahmen werden über unterschiedliche Förderinstitutionen vergeben (siehe Tabelle). Dazu gehören für die kommenden Jahre die DFG (Emmy-Noether-Programm, EURYI-Awards, Heisenberg-Stipendium), die Volkswagenstiftung (Lichtenberg-Professur) oder die Humboldt-Stiftung (Marie-Curie-Maßnahme, Fedor-Lynen-Forschungsstipendien). Darüber hinaus ist auf außeruniversitäre Förderprogramme mit zeitlich befristeten selbständigen Nachwuchsgruppen zu verweisen, wie sie z.B. von Instituten der Max-Planck-Gesellschaft oder der Helmholtz-Gemeinschaft Deutscher Forschungszentren eingerichtet werden. Natürlich sind auch in diesem Zusammenhang die allgemeinen Befristungsregelungen zu beachten. Dies könnte die Attraktivität dieser Zusatzprogramme schmälern.

Ganz aktuell ist der Beitrag des Wissenschaftsrats zur Diskussion um den Forscher-Dienstvertrag (www.wissenschaftsrat.de/textel/5923-04.pdf)

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Herbert Zimmermann
Universität Frankfurt
AK Neurochemie, Biozentrum
Marie-Curie-Str. 9
D-60439 Frankfurt/M.
Tel.: ++49 (0) 69 7982 9602
Fax: ++49 (0) 69 7982 9606
e-mail: h.zimmermann@zoology.uni-frankfurt.de

Projektförderung der Schram- Stiftung

Die Schram-Stiftung im Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft vergibt Mittel für ein Forschungsprojekt auf dem Gebiet der Hirnforschung.

Es sollen Vorhaben auf dem Gebiet der Zellulären Neurobiologie gefördert werden. Von besonderem Interesse sind Projekte, die sich mit der Regulation des Protein- und RNA-Transports in Nervenzellen oder mit neuronalen Genexpressionsmechanismen befassen.

Für einen Zeitraum von drei Jahren können Mittel i.H.v. bis zu 120.000,00 € p.a. für Personal, wissenschaftliche Geräte, Verbrauchsmaterial, Reisen und andere Erfordernisse des Vorhabens zur Verfügung gestellt werden.

Der Bewerbung sind beizufügen:

- Lebenslauf des Antragstellers
- Stand der Forschung
- eigene Vorarbeiten
- Beschreibung des Forschungsvorhabens
- Ziele und Arbeitsprogramm
- Antragszeitraum
- Kostenplan

Bewerbungen sind in vierfacher Ausfertigung bis zum **30. April 2004** zu richten an die

Schram-Stiftung im Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft
Postfach 16 44 60
D-45224 Essen

Die Tabelle informiert in Kurzform über einzelne Förderprogramme.

Fördereinrichtung Name des Programms/	Leistungen/Dauer	Voraussetzungen	Altersgrenze	Bewerbungs- schluss	Sonstige Info
Emmy-Noether-Auslandsstipendium der DFG	Förderung für 6 Jahre, wovon 2 im Ausland verbracht werden (Phase I) und 4 in Deutschland (Phase II). In dieser Zeit wird das Projekt weitergeführt, in einer vom Antragsteller/in selbständig geleiteten Arbeitsgruppe. Verkürztes Verfahren nach Promotion im Ausland.	Exzellentes Forschungsprojekt, herausragende Promotion und mindestens eine weitere Veröffentlichung in international hochrangiger Fachzeitschrift oder vergleichbar anspruchsvoller Form	30 Jahre bei Phase I, 32 Jahre bei Beginn der Phase II	keine Antragsfrist, aber Beachtung der Altersgrenze	Während des Auslandsaufenthaltes erhält der Antragsteller ein Stipendium, während Phase II eine BAT Ib/Ia Stelle Homepage: www.dfg.de
EURYI Awards für Deutschland, DFG	Förderung für 5 Jahre umfasst Finanzierung sowohl der Stelle des Gruppenleiters als auch die einer Nachwuchsgruppe (mit zwei bis drei Projektstellen für Doktoranden beziehungsweise Postdoktoranden) sowie Sach- und Reisemittel	Zwei- bis zehnjährige Forschungserfahrung nach der Promotion, herausragender wissenschaftlicher Werdegang. Einladung/ Zusage des gastgebenden Institutes	keine	15. Dezember	Homepage: www.eurohorcs.org
Heisenberg-Stipendium der DFG	Förderung für 5 (3 + 2) Jahre zur Vorbereitung einer Dauerprofessur, kann im In- oder Ausland in Anspruch genommen werden.	Nachweis der Berufbarkeit auf eine Professur durch eine Habilitation oder durch habilitationsäquivalente Leistungen, herausragende wissenschaftliche Leistungen	35 Jahre (bei besonderer Begründung bis 40 Jahre)	jederzeit	Beantragt werden können auch weitere Personal- und Sachmittel, Reisemittel etc. Homepage: www.dfg.de
Lichtenberg-Professur der Volkswagenstiftung	Förderung für maximal 8 Jahre, Förderung eigenständiger Forschung auf neuen und zwischen den Disziplinen angesiedelten Gebieten. Unterschiedliche Karriere-Zielgruppen (W1 bis W3)	Antragstellung zwei bis vier Jahre nach der Promotion, in einzelnen Fällen bis zu einem Alter von Mitte 40, Veröffentlichung selbstständiger wissenschaftlicher Arbeiten, Forschung auf einem innovativen und damit Risikobehafteten Forschungsgebiet, Einbettung in das fachliche Umfeld der Hochschule	35 Jahre, vorzugsweise mit Auslandserfahrung, (bei W3 bis Mitte 40)	1. Dezember	0,8 - 1,5 Mio. Euro für zunächst 5 Jahre für die eigene Stelle und Mittel für das Projekt Homepage: www.volkswagenstiftung.de
Marie-Curie-Maßnahme der Alexander von Humboldt-Stiftung	Unterstützung bei der beruflichen Wiedereingliederung von mobilen Forschern/innen durch finanzielle Unterstützung eines Forschungsprojekts, keine Personalmittel für Antragsteller/innen.	Die Maßnahme wendet sich entweder ausschließlich an Marie Curie-Stipendiaten im Anschluss an ihre Förderung oder unterstützt die Rückkehr nach Europa von europäischen Wissenschaftlern/innen, die seit mindestens fünf Jahren in Drittstaaten tätig sind.		17. Dezember 2003 bis 31. Oktober 2004	Keine Personalmittel Homepage: www.avh.de
Feodor-Lynen-Forschungsstipendien der Alexander von Humboldt-Stiftung	Förderung langfristiger Forschungsvorhaben (1-4 Jahre) an ausländischen Instituten. <i>Feodor Lynen Summer Research Fellowships</i> : Forschungsförderung innerhalb von bis zu 3 Jahren für insgesamt 9 bis 18 Monate an einem ausländischen Gastinstitut	Promotion liegt nicht länger als 6 Jahre zurück, mit dem ausländischen Gastgeber abgesprochener Forschungsplan mit Forschungsplatzzusage	38 Jahre	jederzeit	Vollstipendium Homepage: www.avh.de



Jahreskongress des Wissenschaftszentrum NRW:

Neuro-Visionen:

Hirnforschung im 21. Jahrhundert

Dr. Julia Wolf, Wissenschaftszentrum Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf

Der diesjährige Jahreskongress des Wissenschaftszentrums Nordrhein-Westfalen fand im Anschluss an die Auftaktveranstaltung des Netzwerkes Neurowissenschaften NRW am 2. Dezember 2003 in der Rheinterrasse in Düsseldorf statt.

Die über 1000 Teilnehmer des Kongresses konnten sich über die aktuellen Forschungsergebnisse in verschiedenen neurowissenschaftlichen Forschungsbereichen informieren. Darüber hinaus gingen die Referenten und Teilnehmer im Rahmen der Symposien der Frage nach, welche Auswirkungen die Hirnforschung und ihre Visionen auf das Menschenbild und Selbstverständnis haben.

Im Mittelpunkt der Veranstaltung stand zum einen die Erforschung des menschlichen Bewusstseins. Professor Karl Zilles, Forschungszentrum Jülich, zeigte, wie man menschlichen Bewusstseinsformen durch die Erforschung von normalen und veränderten Aufmerksamkeitsprozessen auf den Grund gehen kann. Der kombinierte Einsatz von bildgebenden Verfahren und neuropsychologischen Konzepten bildet die Voraussetzung seiner aktuellen Studien.

Es wurde zudem darüber diskutiert, ob es in Zukunft möglich sein wird, Menschen mit Maschinen zu verbinden oder künstliches Bewusstsein zu entwickeln. Professor Dietrich Dörner, Universität Bamberg, bewertete die Entwicklung eines künstlichen Bewusstseins als schwierige, aber durchaus realistische Zukunftsperspektive. Seine Einschätzung wurde jedoch nicht von allen Wissenschaftlern geteilt. Professor Michael Pauen gab zu Bedenken, dass Bewusstseinszuschreibungen an operationalisierbare Kriterien gebunden sind. Da uns solche Kriterien derzeit nicht vorliegen, ist die Frage nach der Möglichkeit eines künstlichen Bewusstseins nach Meinung des Magdeburger Philosophen nicht zu beantworten.

Den zweiten Schwerpunkt der Veranstaltung bildete die Erforschung von Erkrankungen des zentralen Nervensystems. Im Mittelpunkt standen vor allem Erkrankungen wie die Epilepsie, der Schlaganfall, die Alzheimerdemenz und damit verbundene Therapiemöglichkeiten.

Der Züricher Alzheimerforscher Roger Nitsch präsentierte die Ergebnisse und Wirkweise einer neuen Impfmethode für Alzhei-

merpatienten. Nitsch konnte zeigen, dass ein Impfstoff aus aggregiertem Beta-Amyloid bei den meisten Patienten das Fortschreiten der Alzheimerdemenz verlangsamt. Nach der Impfung ließen sich im Blut der Patienten Antikörper gegen die Plaques aus Beta-Amyloid nachweisen. Bei einige Patienten war als unerwünschte Nebenwirkung der Immunisie-



Prof. Dr. Karl Zilles bei seinem Vortrag über die neurowissenschaftlichen Grundlagen des menschlichen Bewusstseins.

rung jedoch eine subakute aseptische Meningoenzephalitis aufgetreten.

Auch die Stammzellforschung, so Professor Wiestler von der Universität Bonn, könnte zukünftig dazu verhelfen, degeneriertes Zellgewebe wieder aufzubauen oder zu ersetzen. Das Thema fötaler und embryonaler Ersatzzellen für das Gehirn spielte auch bei der Pannediskussion am Nachmittag eine bedeutende Rolle: Neurologen, Ethiker und Kulturwissenschaftler diskutierten die Auswirkungen neuer Therapieformen auf das menschliche Selbstverständnis.

Die Teilnehmerzahl und die angeregten Diskussionen zu den verschiedensten Aspekten der Neurowissenschaften brachten das große öffentliche Interesse an der Hirnforschung und ihren Visionen zum Ausdruck.

Weitere Informationen zu den Veranstaltungen des Wissenschaftszentrums NRW erhalten Sie unter: <http://www.wz.nrw.de>. oder unter Tel:0211-387 90-0.

Neueintritte

Folgende Kolleginnen und Kollegen dürfen wir als Mitglieder der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft begrüßen:

- Abraham, Andreas (Magdeburg)
- Alberi, Lavinia (Heidelberg)
- Atallah Gonzalez, Maria Isis (Berlin)
- Bas Orth, Carlos (Frankfurt am Main)
- Becker, Katja (Magdeburg)
- Behrens, Peter Kurt (Bremen)
- Biehlmaier, Dr. Oliver (Zürich)
- Bock, Dr. Jörg (Magdeburg)
- Copi, Andrea (Bochum)
- Coulon, Philippe (Düsseldorf)
- Dallmann, Kathrin (Offenbach)
- Diestler, Ilka (Tübingen)
- Dumitrescu, Olivia (Frankfurt/Main)
- Fester, Lars (Hamburg)
- Frank, Elisabeth (München)
- Haack, M.A. Johannes (Potsdam)
- Haupt, Corinna (Jena)
- Heck, Sebastian (Mainz)
- Henneberger, Dr. Christian (Berlin)
- Huetteroth, Wolf-Dietmar (Marburg)
- Huster, René (Münster)
- Kellendonk, Dr. Christoph (New York)
- Kempter, Dr. Richard (Berlin)
- Kohl, Zacharias (Regensburg)
- Korte, Susanne (Frankfurt)
- Kreul, Florian (Gießen)
- Krutz, Birte (Berlin)
- Kurtz, Dr. Rafael (Bielefeld)
- Loesel, Dr. Rudolf (Aachen)
- Lotze, PD Dr. Martin (Tübingen)
- Ludolph, Prof. Dr. Albert C. (Ulm)
- Mansour, Dr. Michael (Göttingen)
- Meyer, Prof. Dr. Helmut (Bochum)
- Moerth, Sascha (Magdeburg)
- Moser, Jochen (Mainz)
- Oliver, Kobler (Magdeburg)
- Paetschke, Arne (Hannover)
- Pannasch, Ulrike (Berlin)
- Philipp, Roland (Bochum)
- Schneider, Andrea (Potsdam)
- Sendtko, Dr. Andreas (Weinheim)
- Siegmund, Anja (München)
- Siffringer, Marco (Berlin)
- Storck, Dr. Peter (Jena)
- Thommen, Daniela (Basel)
- Urbach, Anja (Jena)
- Wegener, Dr. Christian (Marburg)
- Wiechmann, Frank (Düsseldorf)
- Zehle, Stefanie (Magdeburg)

Der Mitgliedsstand zum 1. Februar 2004 beträgt 1.622 Mitglieder.

Elfriede-Aulhorn-Preis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft

Der „Elfriede-Aulhorn-Preis“ ist von der *Neuro-ophthalmologischen Gesellschaft - Mehr forschen - besser sehen - e.V.* gestiftet worden, um in Erinnerung an die Namens-trägerin des Preises die Forschung im Bereich der Physiologie und Pathophysiologie des Sehens sowie der Neuro-Ophthalmologie zu fördern. Der Preis wird für besonders wertvolle Arbeiten in den genannten Wissenschaftsgebieten verliehen, insbesondere für die Entwicklung von neuen, für Klinik und augenärztliche Praxis wichtigen sinnesphysiologischen Untersuchungsmethoden oder Studien zur Verbesserung diagnostischer oder therapeutischer Verfahren bei neuro-ophthalmologischen Erkrankungen.

Der mit EURO 5000,- dotierte Preis wird im zweijährigen Turnus verliehen. Er kann bei entsprechendem Beschluss der Kommission auch unter mehreren Bewerbern aufgeteilt werden.

- Bewerber sollten im deutschen Sprachraum arbeiten.
- Die eingereichte Arbeit muss bereits in deutscher oder englischer Sprache veröffentlicht oder zur Veröffentlichung angenommen worden sein.
- Eine von der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) eingerichtete Kommission trifft die Vergabeentscheidung. Die Preisverleihung erfolgt im Rahmen der Jahrestagung der DOG.

Es wird gebeten, einem kurzen Anschreiben folgende Unterlagen in siebenfacher Ausfertigung beizufügen:

- ein Sonderdruck der preiswürdig erachteten Arbeit oder bei sehr umfangreichen Arbeiten eine Zusammenfassung von ca. 10 Seiten,
- ein Verzeichnis der publizierten Arbeiten,
- eine tabellarische Darstellung des beruflichen Werdegangs.

Bewerbungen sind **bis zum 15. Mai 2004** an den Federführenden der Kommission zu richten:

Herrn Prof. Dr. med. Eberhart Zrenner
 Univ.-Augenklinik Tübingen
 Schleichstr. 12-16
 D-72076 Tübingen
 Fax: 0 70 71/29 50 38

STELLENMARKT

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

In der **Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Campus Kiel**, ist zum **nächstmöglichen Termin die Stelle**

eines/einer Neurowissenschaftlers/in

zunächst befristet für 2 Jahre zu besetzen. Zu den Aufgaben zählt die Untersuchung von Wachstumsfaktoren/ Zytokinen und ihren Signaltransduktionssystemen im speziellen Bereich der psychiatrischen Neurowissenschaften (z.B. Schizophrenie, affektive Störungen) im Rahmen der Arbeiten in der Arbeitsgruppe Pharmakoimmunologie. Erforderlich ist ein abgeschlossenes Studium der Biologie, Humanbiologie, Neurowissenschaften, Biochemie oder jedes anderen Faches, das eine ausreichende Befähigung für die folgenden weiteren Anforderungen gibt: selbstständige Durchführung der Bearbeitung wissenschaftlicher Fragestellungen mit den gängigen Methoden der Zell- und Molekularbiologie (z.B. Kultur von nativen Zellen und Zelllinien, Zellmarkierungen und Benutzung von Fluorescence analysing cell sorter (FACS), Protein- und mRNA-Isolation und Blotting), Umsetzen und Etablieren neuer Methoden, gute Teamfähigkeit, konstruktive Beiträge zu weiteren Projekten der Arbeitsgruppe. Erwünscht, aber nicht Bedingung, sind Vorkenntnisse/Vorerfahrungen im neurowissenschaftlichen Bereich, auch Promotion. Im Rahmen der Projekte der Arbeitsgruppe ist jedoch auch eine Promotionsarbeit denkbar.

Geboten wird eine Vergütung gemäß BAT entsprechend Ihrer persönlichen Qualifikation.

Der Arbeitseinsatz erfolgt im Zentrum für Integrative Psychiatrie - ZIP gGmbH -.

Bewerbungen Schwerbehinderter werden bei entsprechender Eignung bevorzugt berücksichtigt. Das UK S-H ist bestrebt, den Anteil der Wissenschaftlerinnen zu erhöhen. Frauen werden deshalb bei gleichwertiger Eignung, Befähigung und fachlicher Leistung vorrangig berücksichtigt.

Nähere Auskünfte erhalten Sie von Frau PD Dr. Hinze-Selch, Tel. 0431/597- 2553. Für weitere Fragen steht Ihnen Frau Hoffmann, Tel. 0431/597-2752 zur Verfügung. Weitere Informationen über das UK S-H, Campus Kiel, erhalten Sie auch unter www.uk-kiel.de.

Ihre Bewerbung mit aussagefähigen Unterlagen richten Sie bitte innerhalb von **zwei Wochen** an das
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, K 120.16
Brunswiker Straße 10, 24105 Kiel



Die Volkswagenstiftung richtet eine neue Förderinitiative ein: Neue konzeptionelle Ansätze zur Modellierung und Simulation komplexer Systeme

Die VolkswagenStiftung richtet eine neue Förderinitiative ein, die zum Ziel hat, das Verhalten komplexer Systeme besser zu verstehen. Als komplex gilt ein System dann, wenn es aus einer großen Zahl von Elementen besteht und es sich durch das alleinige Studium seiner „Bausteine“ nicht verstehen lässt. Beispiel: So wäre ein Kristall nach diesem Verständnis kein komplexes System, da die Kenntnis der Elementarzelle die Vorhersage der Eigenschaften des Gesamtsystems erlaubt. Demgegenüber würde ein Gehirn als komplex gelten, da dessen Funktion nicht aus dem Verhalten eines einzelnen Neurons bestimm- und erklärbar ist.

Die neue Förderinitiative „Neue konzeptionelle Ansätze zur Modellierung und Simulation komplexer Systeme“ richtet sich an Theoretiker aus allen Wissenschaftsdisziplinen, die mit computerbasierten Ansätzen arbeiten. Insbesondere in den theoretischen Zweigen der Natur-, Bio- und Ingenieurwissenschaften stellt die Modellierung und Simulation komplexer Systeme ein aktuelles, herausforderndes Forschungsgebiet dar, das von einem stärker interdisziplinä-

ren Herangehen profitieren wird. Eben dazu will die Stiftung auffordern.

Gefördert werden nach vorheriger thematischer Ausschreibung zum einen Forschungsprojekte mit Personal- und Sachmitteln (einschließlich Reisemitteln sowie ausgewählte Vorhaben bezüglich eines theoretischen Überbaus zu komplexen Systemen. Zum anderen werden zur Theorie komplexer Systeme personenbezogene Forschungsstipendien für jüngere Wissenschaftler und Forschungsprofessuren für Hochschullehrer an deutschen Universitäten vergeben. Wissenschaftliche Veranstaltungen werden gemäß den Modalitäten der Initiative „Symposien und Sommerschulen“ unterstützt. Details der Antragstellung sind dem Merkblatt für Antragsteller zu entnehmen

Kontakt

Dr. Ulrike Bischler
 Neue Förderinitiative VolkswagenStiftung
 Tel.: ++49 (0) 5 11 83 81-350
 e-mail: bischler@volkswagenstiftung.de
<http://www.volkswagenstiftung.de>

Wissenschaftspreis der NJR Foundation

Die im Jahre 1999 am Institut de France in Paris gegründete NRJ Foundation schreibt für 2004 einen mit 100.000 Euro dotierten Wissenschaftspreis aus. Der Preis wird entweder an eine Einzelperson oder an eine Forschergruppe an einer öffentlichen oder privaten Institution verliehen.

Eine Jury unter dem Vorsitz von Professor Nicole Le Douarin, Generalsekretärin der Akademie der Wissenschaften, wird über die Auswahl des Preisträgers entscheiden.

Das Thema des Jahres 2004 ist:

Stammzellen, regenerative Medizin und Neurowissenschaften

Ein Formblatt für die Bewerbung ist unter www.institut-de-france.fr/actualites zu finden. Bewerbungsschluss ist der 19. März 2004. Bewerbungen müssen in dreifacher Ausfertigung geschickt werden an:

Secrétariat of the NRJ Foundation
 Institut de France,
 23, quai de Conti
 F-75006 Paris/France
 Fax: +33 1 44 41 44 30
 e-mail: foundation@institut-de-france.fr

Nachrichten aus der DFG

DFG ruft erneut zur Antragstellung im Programm „Klinische Forschergruppen“ auf

Zur Förderung der medizinischen Forschung an Universitätskliniken hat die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) im Jahr 2000 das Programm „Klinische Forschergruppen“ neu aufgelegt. Derzeit werden in diesem Programm 21 Forschergruppen gefördert.

In Klinischen Forschergruppen können herausragende Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler in der krankheits- oder patientenorientierten Forschung unterstützt werden, wenn zu erwarten ist, dass die Zusammenarbeit zu Ergebnissen führt, die mit den Möglichkeiten der Einzelförderung im Normal- oder Schwerpunktverfahren nicht erreicht werden können.

Die Förderung von Klinischen Forschergruppen soll unter anderem dazu beitragen, die klinische Forschung insgesamt zu stärken, die Ausbildungsstrukturen zu verbessern, den wissenschaftlichen Nachwuchs zu fördern, die wissenschaftliche Profilbildung der jeweiligen Medizinischen Fakultäten voranzubringen sowie die internationale Zusammenarbeit zu intensivieren.

Für die Antragsstellung gilt ein zweistufiges Verfahren. Der Geschäftsstelle der DFG wird zunächst ein Vorantrag („Konzeptpapier“) vorgelegt. Nach einer vergleichenden Bewertung der Voranträge durch die Senatskommission für Klinische Forschung werden die ausgewählten Gruppen aufgefordert, einen ausgearbeiteten Antrag einzureichen. Einzelheiten zur Antragstellung finden sich im Merkblatt zur Förderung von Klinischen Forschergruppen (DFG-Vordruck 1.051).



Anträge auf Einrichtung von Klinischen Forschergruppen können jederzeit bei der DFG eingereicht werden. Forschergruppen, die einen Förderbeginn im Jahr 2005 anstreben, reichen ihre Konzeptpapiere bis spätestens **1. Juli 2004** in 15-facher Ausfertigung bei der DFG-Geschäftsstelle ein.

Nähere Auskünfte erteilen die für die Medizin zuständigen Fachreferentinnen und -referenten der DFG-Geschäftsstelle:

Dr. Annette Schmidtman
annette.schmidtman@dfg.de
PD Dr. Peter Hofmann
peter.hofmann@dfg.de
Dr. Armin Krawisch
armin.krawisch@dfg.de
Dr. Theodora Hogenkamp
theodora.hogenkamp@dfg.de und
Dr. Stefan Lohwasser
stefan.lohwasser@dfg.de

Start für ein neues Programm zur Förderung Klinischer Studien

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) und das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) legen gemeinsam ein neues Programm zur Förderung klinischer Studien auf.

Das Programm zielt darauf ab, die Studienkultur in Deutschland signifikant zu verbessern, um an den deutschen Universitätskliniken das Know-how für die Planung und Durchführung klinischer Studien auf internationalem Niveau breiter zu etablieren. DFG und BMBF erwarten, dass durch die koordinierte und abgestimmte Vorgehensweise besonders nachhaltige Effekte zu er-

zielen sind. Das Förderprogramm will insbesondere die Durchführung wissenschaftlich hochrangiger multizentrischer Studien unterstützen, um eine Anhebung des Qualitätsniveaus auf den internationalen *state of the art* (Richtlinien zu „Good Clinical Practice“ der International Conference on Harmonization) zu erreichen.

Die DFG wird im Rahmen des Programms schwerpunktmäßig

- klinische Studien zur nicht-pharmakologischen Therapie sowie
- Diagnosestudien der Phasen I-III,
- Prognose-Studien und
- kontrollierte Studien zur Sekundärprävention

fördern. Komplementär beabsichtigt das BMBF, Projekte zu pharmakologischen Therapieverfahren, Metaanalysen sowie systematische Reviews von klinischen Studien zu fördern.

Antragsskizzen können erstmals bis 29. Februar 2004 eingereicht werden, später eingehende Anträge werden bei späteren Einreichungsterminen berücksichtigt.

Diesbezügliche Anfragen sind zu richten an:

DLR-Projektträger des BMBF

Südstr. 125

D-53175 Bonn

Tel: ++49 (0) 228 3821 210

www.pt.dlr.de

Geld zum Forschen aus dem Reiche der Propheten

*Ein Führer durch die Wüsten und Oasen der deutschen Wissenschaftsförderung
Besprochen von Lutz Steiner, Charité, Schumannstr. 20/21, 10117 Berlin*

In ihrem „Führer durch die Wüsten und Oasen der deutschen Wissenschaftsförderung“ beschreiben die Autoren Siegfried Bär und Ralf Schreck eine Vielzahl von Quellen, welche Wissenschaftler in Deutschland sich für ihre Forschung erschließen können. „Dies ist“, wie auf dem Buchrücken zu lesen steht, „nicht immer nett, nicht immer objektiv, aber immer ehrlich“. Und in einer sehr gut recherchierten, detaillierten Weise, die dem Leser nicht nur die Quelle nennt, sondern auch konkrete Tipps zum Wie, zum Wieviel und zum Warum gibt.

Da die Autoren selbst lange Jahre an der *bench* verbracht haben und sich das Geld hierzu erschließen mussten, ist das Buch nicht nur stark von der naturwissenschaftlichen Brille geprägt, sondern auch gespickt von persönlichen Erfahrungen und Meinungen. Provokante Aussagen in Bezug auf Wissenschaftsverwaltung, Universitäten und etablierte Professoren in Kombination mit einer bewusst salopp gehaltenen Sprache und ein paar netten Karikaturen machen das Buch zu einer kurzweiligen Lektüre.

Der lockere Schreibstil geht aber ganz gewiss nicht auf Kosten des Inhalts. Die einzelnen Förderinstrumente werden nicht bloß aufgelistet, sondern im Detail beschrieben: die Entstehungsgeschichte bzw. die Intenti-

on der Förderer, das Gesamtfördervolumen, Einzelheiten dazu, was in welcher Höhe beantragt werden kann (Stellen/Sachmittel) und Aussicht auf Bewilligung hat. Die Autoren machen ganz konkrete Angaben zum erforderlichen Format und Umfang der Anträge sowie zur Wahl der geeigneten Sprache. Auch Ablauf und Dauer der Begutachtungsprozedur werden jeweils dargestellt, ebenso wie die Bewilligungsstatistiken der letzten Jahre. Diese Fülle an Informationen wird durch Schaubilder und Tabellen ergänzt. Am Ende eines jeden Abschnitts finden sich die einschlägigen Internetlinks, unter denen Ausschreibungen, Formulare, Informationen der Förderer usw. zu finden sind. Die Autoren nennen zu jeder Fördermöglichkeit einen Ansprechpartner bei der fördernden Institution, inklusive Adresse und Telefonnummer.

Illustriert werden einige Fördermöglichkeiten durch Auszüge aus historischen Hintergründen der Förderer, was, zum Beispiel, den einzelnen Stiftungen noch schärfere Kontur verleiht. Hierzu gehört auch der Lebenslauf der Amalie Noether, nach der die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) eines der von den Autoren bestbewerteten Förderprogramme benannt hat, das Emmy Noether Stipendium.

Ein schwarz hinterlegter Kasten zu Beginn jedes Abschnitts zeigt an, für wen die Fördermaßnahme interessant ist: Diplomanden, Doktoranden, Postdocs, Gruppenleiter oder Professoren. Insgesamt ist das Buch aber eher auf den jungen Nachwuchswissenschaftler zugeschnitten. Dieser erhält nicht nur die Informationen zur Förderung, sondern auch viele gute Tipps zur Vorgehensweise beim Schreiben. Die Autoren zeigen die verschiedenen Karrierewege für den Nachwuchs auf und wie sich die einzelnen Fördermaßnahmen hierauf auswirken können. Außerdem bekommt der Leser einen Einblick in die Gesamtsystematik der deutschen Forschungsförderung, in die Kräfte und Faktoren, die dort wirken.

Das Buch beginnt mit einer kurzen Einführung in die Forschungsförderung im Allgemeinen und mit Anmerkungen zu den Neuerungen des 5. Hochschulrahmengesetzes. Hierbei gehen die Autoren auch auf die Juniorprofessur ein und die neuen Karrierewege, die diese jungen Wissenschaftlern eröffnet. In den folgenden Kapiteln beschäftigt sich das Buch mit den Finanzierungsmöglichkeiten durch die DFG, durch eine Reihe von Stiftungen, durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und die EU, durch die *European Molecular Biology Organization* (EMBO), durch die staatlichen schweizerischen und österreichischen Förderfonds und letztlich noch durch diverse andere Förderer, wie zum Beispiel dem Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD). Auf den letzten Seiten finden sich dann noch zwei tabellarische Übersichten, eine zu Stipendien und eine zu allen Fördermöglichkeiten. Auch das obli-



Ausblick

Folgende Beiträge werden für die nächsten Ausgaben von **Neuroforum** vorbereitet:

Funktionelle Magnetresonanztomografie des menschlichen Gehirns
Peter Dechent und Jens Frahm

Beobachtung von molekularphysiologischen Aktivitäten in einzelnen Zellen: Der Einsatz von FRET-Mikroskopie in der Neurobiologie
Fred S. Wouters

Regulation der Lymphozyten in der Multiplen Sklerose
Orhan Aktas und Frauke Zipp

Kortikale Verarbeitungswege der visuomotorischen Koordination
Hans-Otto Karnath und Marc Himmelbach

Impressum

Herausgeber:

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.
Bankverbindung: Berliner Bank AG,
BLZ 100 200 00, Kto.-Nr. 810 505 1800
Homepage: <http://nwg.glia.mdc-berlin.de>

Redaktion:

Helmut Kettenmann (v.i.S.d.P.)
Meino Alexandra Gibson

Redaktionsanschrift:

Max-Delbrück-Centrum für
Molekulare Medizin (MDC)
Robert-Rössle-Str. 10
13092 Berlin
Tel.: 030 9406 3133
Fax: 030 9406 3819
e-mail: gibson@mdc-berlin.de

Redaktionsgremium:

Matthias Bähr, Göttingen
Cord-Michael Becker, Erlangen
Ulf Eysel, Bochum
Karl Friedrich Fischbach, Freiburg
Michael Frotscher, Freiburg
Sigismund Huck, Wien
Georg W. Kreutzberg, Martinsried
Wolfgang H. Oertel, Marburg
Klaus Pawelzik, Bremen
Hans-Joachim Pflüger, Berlin
Werner J. Schmidt, Tübingen
Petra Störig, Düsseldorf
Herbert Zimmermann, Frankfurt/Main

Verlag:

Elsevier GmbH
Spektrum Akademischer Verlag GmbH
Slevogtstr. 3-5, 69126 Heidelberg
Tel.: 06221/9126-300
Fax: 06221/9126-370
<http://www.spektrum-verlag.com>

Geschäftsführerin:

Angelika Lex

Anzeigen:

top-ad Bernd Beutel
Hammelbacherstr. 30, 69469 Weinheim
Tel.: 06201/29092-0, Fax: 06201/29092-20
e-mail: info@top-ad-online.de

Satz:

polycom Media Service
Brunnenstr. 128, 13355 Berlin
Tel.: 030/26484087, Fax: 030/26484088

Druck, Auslieferung, Vertrieb, Abo-Service:

Druckhaus Beltz, Herr Herzog
Tilsiter Str. 17, 69502 Hemsbach
Tel.: 06201/703-134, Fax: 06201/703-100
e-mail: k.herzog@druckhaus-beltz.de

Titelgestaltung:

Eta Friedrich, Berlin

Erscheinungsweise viermal im Jahr.

Neuroforum ist das Publikationsorgan der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft.

Bezugspreise (jeweils zzgl. Versandkosten):
Einzelheft EUR 25,-; Jahresabonnement Inland Einzelperson EUR 45,-; Jahresabonnement Inland Firmen, Bibliotheken EUR 89,-; Studentenabonnement EUR 15,- bei Vorlage der Immatrikulationsbescheinigung o.ä.
Eine Abonnement-Bestellung kann innerhalb von zwei Wochen schriftlich bei Druckhaus Beltz widerrufen werden. Für das Ausland gelten besondere Tarife. Das Abonnement gilt zunächst für ein Jahr und verlängert sich jeweils um ein weiteres Jahr, falls es nicht spätestens sechs Wochen vor Ablauf gekündigt wird. Bei Nichtlieferung aus Gründen, die nicht vom Verlag zu vertreten sind, besteht kein Anspruch auf Nachlieferung o. Erstattung vorausbezahlter Bezugsgelder. Gerichtsstand, Erfüllung- u. Zahlungsort ist Heidelberg.

Beilage:

Klinik für Neurologie, Jena



gatorische Stichwortverzeichnis fehlt nicht. Insgesamt kann ich das Buch jedem angehenden Naturwissenschaftler empfehlen. Und nur diesen, denn auf andere Fachbereiche oder bereits etablierte Wissenschaftler ist das Buch nicht zugeschnitten. Es ist eine wirklich nützliche Lektüre, die eben nicht nur die Fördermöglichkeiten aufführt, sondern genau beschreibt, wie man an die Mittel herankommt. Ebenso wird klar, dass Fördermittel nicht ausschließlich der Finanzierung dienen, sondern auch ein wichtiger Teil der Forscherkarriere sind. Bei ihrer Akquirierung kann durchaus strategisch und selektiv vorgegangen werden. Siegfried Bär und Ralf Schreck haben hier einen Ratgeber geschrieben, der diesen Namen verdient. Daran ändert auch die Tatsache nichts, dass das Buch stark von der Sicht der Dinge der Autoren geprägt ist und das Motto „nicht immer nett, nicht immer objektiv“ gelegentlich ans Polemisieren grenzt.

Siegfried Bär und Ralf Schreck

Geld zum Forschen aus dem Reiche der Propheten.

Ein Führer durch die Wüsten und Oasen der deutschen Wissenschaftsförderung, 2. aktualisierte und erweiterte Auflage, August 2003 Lj-Verlag, Alte Straße 1, 79249 Merzhausen 337 S., mit Karikaturen von H. Schulze und S. Knauss

EUR 25 (inklusive Versandkosten und Mehrwertsteuer). Das Buch kann im Internet gegen Rechnung bestellt werden:

<http://www.biotech-europe.de/rubric/editorials/baer.html>

Die Bestellung per Post ist zudem direkt beim Verlag möglich.

Beitrittserklärung:

Hiermit erkläre ich meinen Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.

Eintrag in das Mitgliederverzeichnis:

Name _____

Vorname _____

Titel _____

Dienstadresse

Universität/Institut/Firma _____

Straße _____

PLZ, Ort _____

Tel./Fax/eMail _____

Privatadresse

Straße _____

PLZ, Ort _____

Tel./Fax _____

Datum/Unterschrift des neuen Mitglieds

Ich unterstütze den Antrag auf Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.:

Datum/Unterschrift

Ich unterstütze den Antrag auf Beitritt zur Neurowissenschaftlichen Gesellschaft e.V.:

Datum/Unterschrift

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.
Meino Alexandra Gibson
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin
Zelluläre Neurowissenschaften
Robert-Rössle-Straße 10

D-13092 Berlin

Ich optiere für folgende 2 Sektionen:

(bitte ankreuzen)

- Verhaltensneurobiologie
- Zelluläre Neurobiologie
- Entwicklungsneurobiologie und Neurogenetik
- Neuropharmakologie und -toxikologie
- Systemneurobiologie
- Molekulare Neurobiologie
- Klinische Neurowissenschaften
- Computational Neuroscience

Ich bin Student

ja nein

(Bescheinigung anbei)

Jahresbeitrag:

(bitte ankreuzen)

- 50,- €/Jahr ordentliches Mitglied
- 25,- €/Jahr Studenten, Mitglieder im Ruhestand, Arbeitslose

Überweisung:

Bankverbindung: Berliner Bank AG,
Blz: 100 200 00, Kto.-Nr.: 810 505 1800

Einzug über VISA-Kreditkarte:

Einzug über EUROcard:

Kartennummer _____

Exp.Date _____

Betrag _____

Name _____

Unterschrift _____

BANKEINZUGSERMÄCHTIGUNG

Ich ermächtige die Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. von meinem

Konto Nr. _____

bei der Bank _____

BLZ _____

einmal jährlich den Mitgliedsbeitrag in Höhe von € _____ einzuziehen

Ort, Datum _____

Unterschrift _____

Kontoinhaber _____

Anschrift _____

Ihr Fachlexikon jetzt zum absoluten Sparpreis!!

■ ungekürzte Sonderausgaben ■ Qualität direkt vom Original-Verlag

Das ganze Spektrum der modernen Biologie!



Das *Kompaktlexikon der Biologie* gibt in drei Bänden und auf CD-ROM einen umfassenden Überblick über das Spektrum der modernen Biologie. Dank der allgemein verständlich gehaltenen Darstellung ist das Lexikon für Studenten im Grundstudium sowie Leistungskurs-Schüler, insbesondere aber auch für biologisch interessierte Laien eine ausgezeichnete Hilfe zur Beantwortung von Fragen und ein Anreiz, tiefer in die faszinierende Welt der Biologie einzudringen: von der Systematik der verschiedenen Organismengruppen, ihren Bauplänen und ihrer Lebensweise bis hin zu brandaktuellen Entwicklungen aus den Bereichen Bio- und Gentechnologie.

Mit der preiswerten Studienausgabe sparen Sie € 287,- gegenüber der Originalausgabe (mit der sog. Kombi-Ausgabe – Buch + CD-ROM – sogar € 431,-) !!

- 2002, 3 Bde., ca. 500 S. pro Bd., geb. – insgesamt: ca. 15.000 Stichwörter, rund 1.000 Abb. und Tab., 20 Essays und Methodenseiten
- Gesamtausgabe Buch: € 99,95 ISBN 3-8274-0992-6
- Gesamtausgabe CD-ROM: € 99,95, ISBN 3-8274-1140-8
- Gesamtausgabe Buch + CD-ROM: € 149,-, ISBN 3-8274-1141-6

Webinfo

Ausführliche Infos unter:
www.elsevier-deutschland.de/artikel/674775

Weltweit einmalig: Lexikon der Neurowissenschaft



Das vierbändige *Lexikon der Neurowissenschaft* vermittelt einen umfassenden und im Bereich deutschsprachiger Nachschlagewerke einzigartigen Überblick zu allen neurowissenschaftlichen Fachgebieten. Das gesamte derzeit verfügbare Wissen wird von kompetenten und renommierten Vertretern der einzelnen Fachdisziplinen in rund 14.000 Stichwörtern und 35 ausführlichen Essaybeiträgen verständlich vermittelt und über ein weitreichendes Verweisensystem erschlossen.

Mit der preiswerten Studienausgabe sparen Sie € 496,- gegenüber der Originalausgabe (mit der sog. Kombi-Ausgabe sogar € 745,-) !!

- 2001, 4 Bde., ca. 450 S. pro Bd., geb. – insgesamt: ca. 14.000 Stichwörter, rund 1.200 Abb. und Tab., 31 Essays
- Gesamtausgabe Buch: € 99,95, ISBN 3-8274-0451-7
- Gesamtausgabe CD-ROM: € 99,95, ISBN 3-8274-0456-8
- Gesamtausgabe Buch + CD-ROM: € 149,-, ISBN 3-8274-0455-X

„Das Lexikon der Neurowissenschaft ist ein außerordentlich gelungenes Nachschlagewerk, das sowohl Neurobiologen wie auch all jene begeistert wird, die sich für dieses zukunftsweisende Fachgebiet interessieren. (...)“ *Gehirn und Geist*

Webinfo

Ausführliche Infos unter:
www.elsevier-deutschland.de/artikel/674532

Lexikon der Biochemie – kompakt und preiswert!



Früher € 298,-
 Jetzt € 59,95!!

In rund 6.000 Stichwörtern vermittelt das zweibändige *Lexikon der Biochemie* biochemisches Grundwissen ebenso wie neueste Forschungsergebnisse der Molekularbiologie. Über 130 Tabellen sorgen für einen schnellen Überblick, über 700 Formeln und rund 500 grafische Darstellungen machen Strukturen, Reaktionsabläufe und Zusammenhänge transparent. Mit der preiswerten Studienausgabe sparen Sie € 238,- gegenüber der Originalausgabe (mit der sog. Kombi-Ausgabe – Buch + CD-ROM – sogar € 347,-!!).

- 2000, 2 Bde., ca. 480 S. pro Bd., geb. – insgesamt: rund 6.000 Stichwörter, ca. 630 Abb. und Tab., sowie über 700 Formeln
- Gesamtausgabe Buch: € 59,95, ISBN 3-8274-0407-X
- Gesamtausgabe CD-ROM: € 59,95, ISBN 3-8274-0410-X
- Gesamtausgabe Buch + CD-ROM: € 99,95, ISBN 3-8274-0409-6

Webinfo

Ausführliche Infos unter:
www.elsevier-deutschland.de/artikel/674513

Bitte kopieren und faxen an: 07071-935393

Ja, ich bestelle gegen Rechnung und habe 14 Tage volles Rückgaberecht!

Ex.	Titel	Preis	ISBN
	Kompaktlexikon der Biologie (Buch)	99,95	3-8274-0992-6
	Kompaktlexikon der Biologie (CD-ROM)	99,95	3-8274-1140-8
	Kompaktlexikon der Biologie (Buch + CD-ROM)	149,-	3-8274-1141-6
	Lexikon der Neurowissenschaft (Buch)	99,95	3-8274-0451-7
	Lexikon der Neurowissenschaft (CD-ROM)	99,95	3-8274-0456-8
	Lexikon der Neurowissenschaft (Buch + CD-ROM)	149,-	3-8274-0455-X
	Lexikon der Biochemie (Buch)	59,95	3-8274-0407-X
	Lexikon der Biochemie (CD-ROM)	59,95	3-8274-0410-X
	Lexikon der Biochemie (Buch + CD-ROM)	99,95	3-8274-0409-6

Preise zzgl. Versandkostenpauschale von € 3,50 pro Lieferung (Inland).
 Buchpreise enthalten 7% MwSt., Preise für CD-ROM 16% MwSt.

Absender

Name/Vorname

Straße

PLZ/Ort

E-Mail-Adresse

Datum/Unterschrift

Ausführliche Infos unter
www.elsevier-deutschland.de

