

JUNI 2004
X. JAHRGANG

D 13882 F
ISSN 0947-0875

2.04

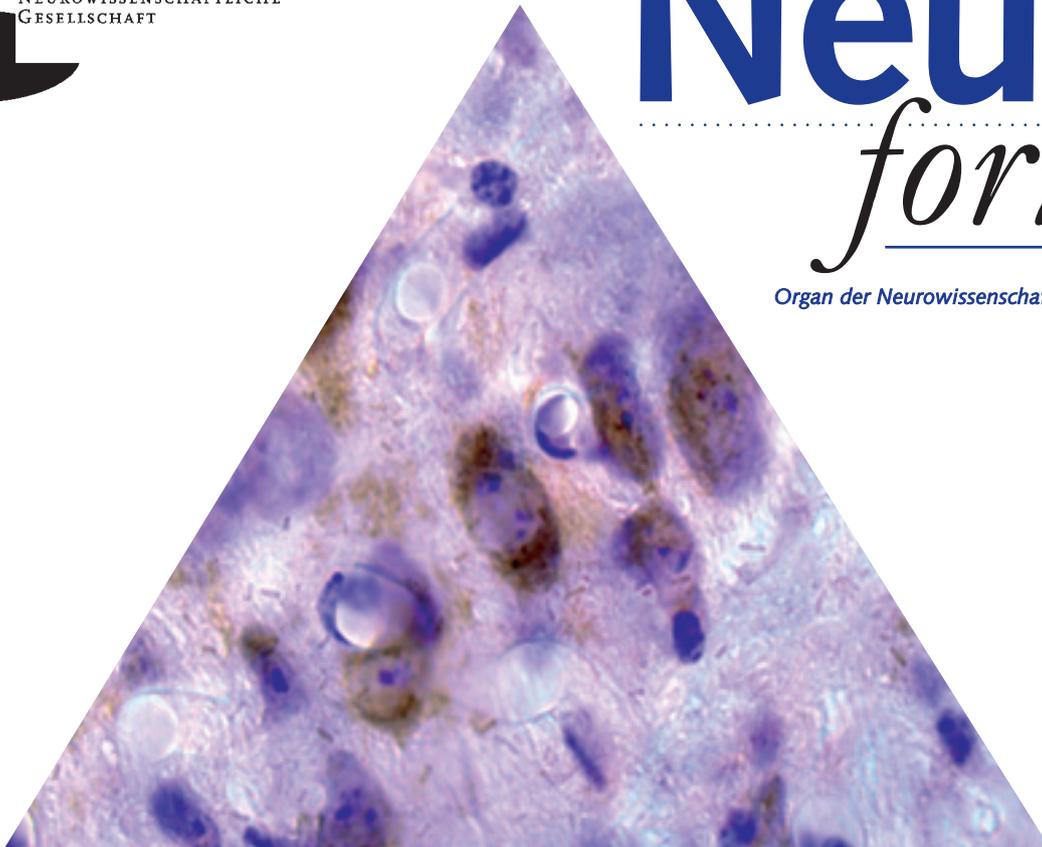
Perspektiven der Hirnforschung



NEUROWISSENSCHAFTLICHE
GESELLSCHAFT

Neuro forum

Organ der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft



FRET-Mikroskopie: Einblicke in die Wirkungsweise der zellulären Maschinerie

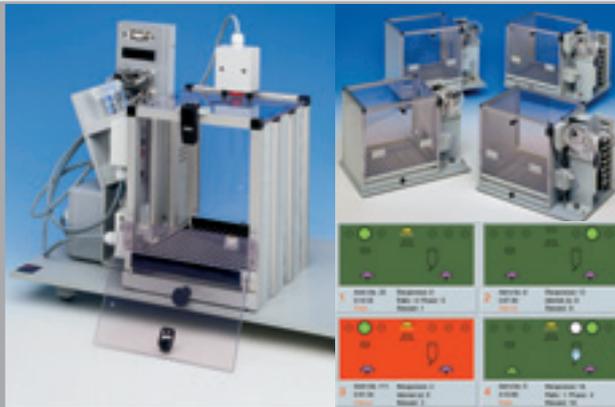
Multiple Sklerose – weit mehr als eine Entmarkungskrankheit

Psychosozialer Stress verändert das Gehirn

Kortikale Kontrolle zielgerichteter Bewegungen

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!

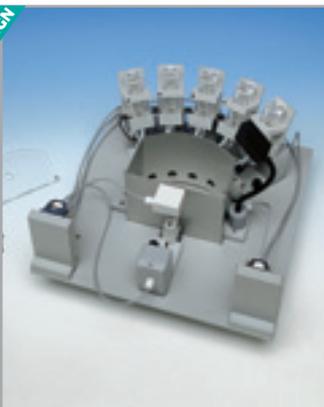
Stereotaxic Systems



- 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



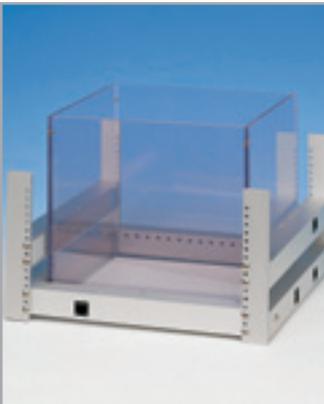
- For all arenas including open field, water maze, elevated plus maze, radial maze...
- Outputs distance travelled, time spent, latencies, entries, speed, rotation
- With key-board event recorder

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



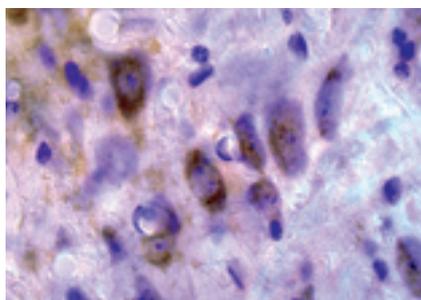
- Study open field behavior or home-cage activity
- Variable box sizes and infra-red sensor densities
- Vertical movement detection
- Detailed spatial & temporal analysis of locomotion

Contact us for other products and details.

TSE
Technical & Scientific
Equipment GmbH



Siemensstr. 21
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: Immunhistochemischer Nachweis Caspase-3-positiver Neurone (Nissl-Gegenfärbung) im Hirnstamm von Mäusen mit EAE (A-C, modifiziert nach Diestel et al. 2003), (siehe auch Beitrag Orhan Aktas und Frauke Zipp S.188).

INHALT 179

HAUPTARTIKEL

Dirk Lange und Fred S. Wouters 180
FRET - Mikroskopie: Einblicke in die Wirkungsweise der zellularen Maschinerie

Orhan Aktas und Frauke Zipp 188
 Multiple Sklerose – weit mehr als eine Entmarkungskrankheit

Eberhard Fuchs und Gabriele Flügge 195
 Psychosozialer Stress verändert das Gehirn

Marc Himmelbach und Hans-Otto Karnath 200
 Kortikale Kontrolle zielgerichteter Bewegungen

ARTIKEL DES QUARTALS

Silke Anders, Niels Birbaumer, Michael Erb, Bettina Sadowski, Irina Mader, Wolfgang Grodd und Martin Lotze 206
 Parietal somatosensory association cortex mediates affective blindsight

FIRMENPORTRAIT

Andreas Klostermann 208
*cono*Genetix biosciences – „Alte“ Naturstoffe und modernes Drug Design

NACHRICHTEN AUS DER NEUROWISSENSCHAFTLICHEN GESELLSCHAFT

Stipendien für FENS Forum 2004 211
 Neuroforum vergibt Stipendien für FENS Forum in Lissabon 212
 Einladung zur Mitgliederversammlung auf dem FENS Forum of European Neuroscience 2004 in Lissabon (10. - 14. Juli 2004) 213

MEINUNG

Eine Chance für Europa 214

Neugegründetes Zentrum für Neurowissenschaften in Freiburg 216

BÜCHER

Handbuch Biopsychologie und Neurowissenschaften 216
 Neurobiologie der Psychotherapie 217

AUSBLICK/IMPRESSUM 218



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



FRET - Mikroskopie: Einblicke in die Wirkungsweise der zellularen Maschinerie

Dirk Lange und Fred S. Wouters

Zusammenfassung

Das tiefere Verständnis für die Funktionsweise der Zelle ist ein wichtiges Ziel in der modernen Zellbiologie. Die vielen Genprodukte wurden nach der Sequenzierung kompletter Genome katalogisiert, sowie Protein-Expressionsmuster in unterschiedlichen Geweben und unter verschiedenen Bedingungen identifiziert. Die nächste bedeutende Herausforderung ist die Aufklärung der Funktion und des Zusammenhangs dieser einzelnen Bestandteile, die die zelluläre Maschinerie bilden. Im Gegensatz zu dem großen, aber direkten Aufwand ihrer Identifizierung setzt die Bestimmung derer zellulären Rolle voraus, dass die Messungen in lebendigen Zellen und unter physiologisch relevanten Konditionen und Reizen ausgeführt werden. Diese Information ist von großer Bedeutung, was Behandlungsmöglichkeiten bei Krankheiten angeht. Zum Beispiel agieren die meisten Neuropharmaka heutzutage auf der Ebene der Zellmembranen, d.h. auf Neurotransmitter-Transporter, -Metabolismen und -Rezeptoren oder auf Ionenkanälen. Die weiteren intrazellulären Signalwege blieben weitgehend unerforscht und sind deswegen unzugänglich. Die Untersuchung der physiologischen Funktion und die Wirkungsweise der Biomoleküle ist die Aufgabe der zellulären molekularen Physiologie. Wir beschreiben das Aufkommen nützlicher optischer Techniken und wie sie im zunehmenden Maße ihren Platz neben der klassischen elektrophysiologischen Anwendung zur Erforschung des Verhaltens der Biomoleküle in lebendigen Zellen finden.

Abstract

FRET-microscopy: insights in the function of the cellular machinery.

The understanding of cellular function is an important goal in modern cell biology. After the annotation of the many gene products in whole-genome sequencing efforts, and the identification of protein expression patterns in different tissues and under different conditions, the next big challenge is the elucidation of the function and connectivity of the many individual components that make up the cellular machinery. In contrast to the large, but straightforward effort of their identification, functional assessment has to be performed in living cells and under physiologically relevant conditions and stimuli. This information will have a significant impact on the treatment possibilities for disease. As an example, most neuropharmaca today act on the level of neurotransmitter transporters, metabolizing enzymes, ion channels or receptors, thus focussing on membrane-limited processes and leaving the intracellular pathways relatively unexplored and inaccessible. The investigation of the physiological function and operation of biomolecules is the task of the field of cellular molecular physiology. We will describe the recent advent of useful optical techniques and how they are being increasingly used alongside classical electrophysiological approaches to study the behavior of biomolecules in the context of the living cell.

Key words: FRET, FLIM, GFP, microscopy, Patch-clamp, cellular function

Die Zelle als Informationsträger

Eines der wichtigsten Eigenschaften einer Zelle ist, dass es eine Vielfalt an zellulären Antworten, wie z.B. Differenzierung, Zellteilung, Energiemanagement und Signalübertragung auf diverse extrazelluläre Signale und verändernde Milieukonditionen, ge-

ben kann. Diese Antworten müssen kontinuierlich angepasst und mehrere Signale müssen integriert werden, damit die Zelle eine adäquate Antwort produziert. Diese Signalverarbeitung, auch Signaltransduktion genannt, wird von einer hochkomplizierten intrazellulären Maschinerie durchgeführt. Hierbei spielt die regulierte Beteiligung

mehrerer Komponenten, über zeitlich und räumlich regulierte Assoziationen, Veränderungen und Aktivitäten eine wichtige Rolle (Jordan et al. 2000). Das Messen dieser Funktionen ist die Aufgabe der Physiologie.

Damit physiologisch relevante Prozesse gemessen werden können, setzt es voraus, dass die Funktionen in lebendigen Zellen ermittelt werden damit kausale Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Ereignissen geknüpft werden. Des weiteren kann somit eine Beteiligung von verschiedenen Funktionen untersucht werden, während die Zelle den relevanten extrazellulären Einflüssen unterworfen wird. Seit langem gaben elektrophysiologische Methoden die einzigen quantitativen Einblicke in die Funktion spezifischer Moleküle und Signalketten. Über die Schaltungscharakteristiken von Ionenkanälen konnten wichtige Rückschlüsse gemacht werden, bezüglich deren Funktion in zellulären Prozessen. Andere Techniken, wie der amperometrische Nachweis von bestimmten sekretierten Stoffen oder die Kapazitätsveränderungen bei der Sekretion und der Endozytose, geben Einblicke in diese Funktionen der Zelle. Die Elektrophysiologie stellt damit eine zentrale Säule in der Untersuchung der zellulären Funktion dar.

Anwendung physiologischer Messmethoden

Diverse mehr oder weniger invasive Messmethoden sind entwickelt worden, aber die Anwendung der elektrophysiologischen Untersuchungen ist nicht im Stande, die ganze Palette der zellulären Signaltransduktionsmaschinerie abzudecken. Sie beschränkt sich auf Komponenten, die sich auf der Schnittstelle zwischen der Zelle und ihrer Umgebung, der Plasmamembran aktiv sind. Außerdem sind die Messungen nur in einem beschränkten Zeitfenster anwendbar. Weiterhin erlauben elektrophysiologische Messungen Einzel-Zell- oder Zell-Ensemble-Observationen, ohne die Möglichkeit, direkt mehrere Zellen simultan zu vergleichen. Die Messungen beschränken sich primär auf ein Ereignis, anstatt mehrere Parameter abzutasten.

Durch innovative optische Methoden werden diese Lücken in letzter Zeit immer mehr aufgefüllt. Besonders die Entdeckung und Entwicklung von autofluoreszenten Proteinen aus der atlantischen Qualle (Prasher et al. 1992) und einer Reihe von anderen Meeresspezien, wie Korallen und Anemonen (Shagin et al. 2004; Verkhusha und Lukyanov 2004), hat zu einer Renaissance in der Fluoreszenzmikroskopie geführt. In Kombination mit standardmolekularbiologi-



schon Techniken ist es jetzt möglich, fast jedes Protein als fluoreszentes Fusionsprotein in einer Vielzahl von Zelltypen und sogar in transgenen Tieren zu exprimieren. Dieses erlaubt erstmals, das Verhalten von Proteinen in der Zelle über längere Zeit zu verfolgen, unabhängig von deren Lokalisation. Außerdem erlaubt der Einsatz mehrerer spektral-getrennter Varianten dieser Fluoreszenzproteine, mehrere Proteine gleichzeitig zu beobachten. Mittels dieser Technologie ist es z.B. gelungen nachzuweisen, was mit den verschiedenen Zellorganellen während der Zellteilung passiert (Shima et al. 1998), und die Aktivität verschiedener Signalketten anhand der stimulus-induzierten Translokation bestimmter angefarbter Proteine konnte in lebendigen Zellen nachgewiesen werden (Teruel und Meyer 2000). Die Nützlichkeit zellulärer Bildaufnahmen wurde noch erweitert durch den Einsatz von photophysikalischen Prinzipien, die es dem Experimentator erlauben, gezielte optische Biosensoren für den Nachweis von zellulären Metaboliten oder Botenstoffen zu entwickeln. Aber auch die Beteiligung verschiedener biochemischer Reaktionen in den Signalwegen und die strukturellen Veränderungen von multimolekularen Signalkomplexen (*Signalosomen*) sind jetzt mittels Biosensoren quantitativ nachzuweisen. Mit diesem Gesamtpaket an mikroskopischen Möglichkeiten wächst eine neue Säule der zellulären, molekularen Physiologie, die jetzt schon eine wichti-

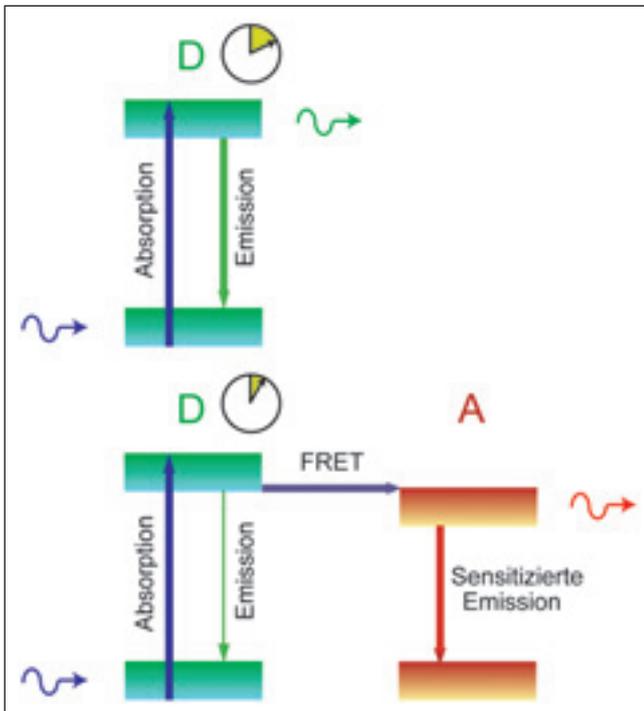


Abb. 1: Energiediagramm von Fluoreszenzfarbstoffen. Höhere Ebenen repräsentieren die angeregten Zustände, niedrigere Ebenen die Grundzustände des Donor- (D) und Akzeptor- (A) Fluoreszenzfarbstoffes. Die Energie des angestrahlten Lichtes (blauer Pfeil) wird im Donor-angeregten Zustand gespeichert. Diese Energie kann entweder in Form von Fluoreszenzemission abstrahlen (grüner Pfeil) oder durch FRET an dem Akzeptor abgegeben werden. Im Falle einer FRET-Übertragung verringert sich die Donor-Fluoreszenzlebensdauer (Uhr) und die –Fluoreszenz- ausbeute. Außerdem tritt eine sogenannte „Sensitizierte Emission“ des Akzeptors auf, da sein angeregter Zustand, durch FRET aufgefüllt, auch zur Fluoreszenzemission führt (roter Pfeil). Die verringerte Donor-Fluoreszenzemission durch FRET ist mit einem dünneren Energieübergangspfeil dargestellt.

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

www.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



ge Stelle neben der klassischen Elektrophysiologie einnimmt (Bunt und Wouters 2004). Die Kombination beider Säulen ist vielversprechend und wird hochdetaillierte Einblicke in die Wirkungsweise von Zellen verschaffen.

Förster Resonanz Energie Transfer

Eines der wichtigsten photophysikalischen Prinzipien, die in Biosensoren für die Entwicklung maßgeschneiderter Assays zu nutzen sind, ist die Förstersche Resonanz Energie Transfer (*FRET*) (Clegg 1996; Förster 1948). *FRET* beruht auf einem quantenmechanischen Prozess, der sich am einfachsten mit dem klassischen physikalischen Modell der Resonanz erklären lässt: Zwei Fluoreszenzfarbstoffe können unter bestimmten Voraussetzungen Energie zwischen deren angeregten Zuständen austauschen. Das Prinzip dieser Methode ist die energetische Anregung eines der beiden Fluorophoren, Donor genannt, durch Licht mit geeigneter Wellenlänge, die die Energiedifferenz zwischen Grund- und angeregtem Zustand überbrückt. Die Farbstoffe können aus verschiedenen exprimierten Fluoreszenzproteininfusionen oder chemisch angefärbten Proteinen bestehen. Fluoreszenz ist eine Eigenschaft von Stoffen, die die Energie von eingestrahlt Licht speichern und wieder als Licht mit niedrigerer Energie, d.h. mit längerer Wellenlänge, abgeben können. Der Fluoreszenzfarbstoff verbleibt für eine charakteristische Dauer in seinem angeregten energetischen Zustand, bevor es die aufgenommene Energie wieder als Fluoreszenzemission abstrahlen kann (Abbildung 1).

Diese Verweilzeit ist als Fluoreszenzlebensdauer definiert. In Anwesenheit eines geeigneten zweiten Farbstoffes, dem Akzeptor, kann die Energie im angeregten Zustand des Donors über Dipol-Kopplung mit dem Grundzustand des Akzeptors direkt übertragen werden. Es ist wichtig darauf hinzuweisen, dass diese Energieübertragung nicht per Licht, sondern pur über einen Energieresonanzprozess geschieht. Die Nutzbarkeit des *FRET*-Effektes als biologische Messmethode liegt darin, dass *FRET* nur dann auftritt, wenn der Abstand zwischen den Farbstoffen in der gleichen Größenordnung wie Proteine (bis 10 nm) beträgt, weil die Effizienz dieses Prozesses mit sechster Potenz vom Abstand abhängt und somit über einzelne Nanometer rapide abfällt. *FRET* liefert somit einen optischen „Schalter“, wobei ein Prozess auf molekularer Skala entweder mit messbarer Effizienz auftritt oder nicht (mehr) zu messen sein wird (Abbildung 2). Als Resultat nimmt

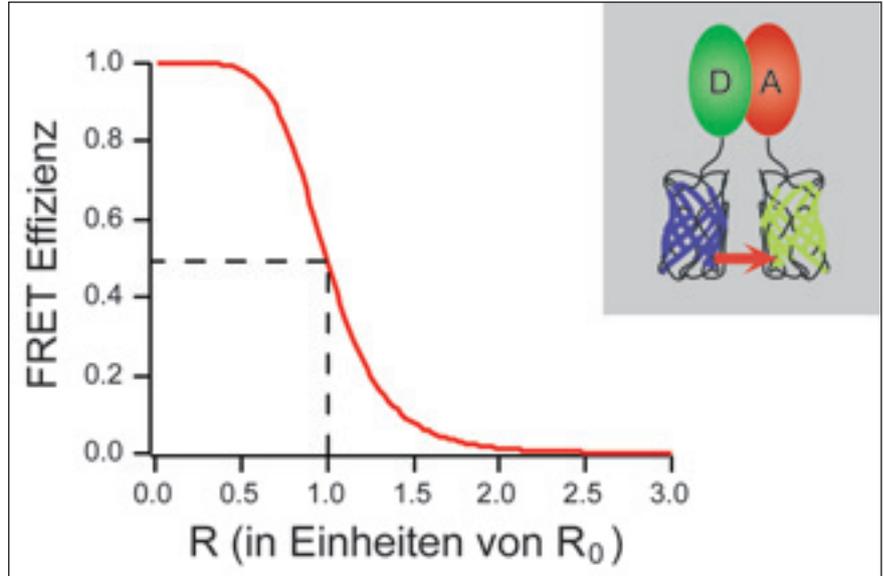


Abb. 2: Abhängigkeit der Effizienz des *FRET*-Prozesses vom Abstand zwischen den Donor- und Akzeptor-Fluoreszenzfarbstoffen. Die sechste Potenz dieser Abhängigkeit ergibt eine sehr stark abfallende Kurve, wobei über sehr geringe Entfernungen große Änderungen im *FRET*-Signal zu beobachten sind. Dieser Abstand ist in Einheiten vom Försterschen Abstand, R_0 , ausgedrückt. Dieser charakteristische Abstand ist eine Eigenschaft des Donor-Akzeptor-Paares und beschreibt die Entfernung, wobei die Hälfte der Moleküle am *FRET*-Prozess beteiligt sind, anstatt mittels Fluoreszenzemission zu ihrem Grundzustand zurückzukehren. Dieser Abstand liegt üblicherweise bei den gewöhnlich biologisch verwendeten Fluoreszenzfarbstoffen zwischen 3-5 Nanometer.

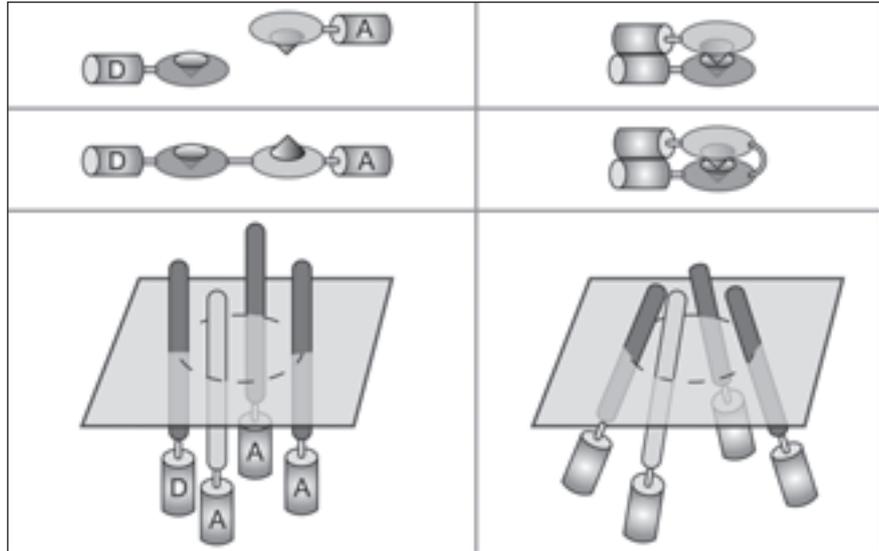
die verfügbare Menge an Energie im angeregten Zustand und damit die Emissionsintensität der Donormoleküle ab. Zugleich verringert sich die Lebensdauer des Donors. Letztlich wird über *FRET* der Akzeptor in seinem angeregten Zustand gebracht, aus dem es Fluoreszenzphotonen abgibt, obwohl er nicht direkt angestrahlt wurde (Abbildung 1). Viele Messmethoden beruhen auf der Erfassung der veränderten Emissionscharakteristiken des Donors und des Akzeptors, die aber schwierig quantifizierbar sind, wegen der unter Umständen signifikanten spektralen Kontaminationen. Für diese muss über Referenzbilder korrigiert werden, um eine korrekte Aussage bezüglich des Auftreten von *FRET* zu bekommen (Bunt und Wouters 2004) (und darin enthaltene Referenzen). Obwohl solche intensitätsbasierte Messungen konzeptuell einfach sind, sind sie deswegen in der Praxis sehr kompliziert anzuwenden. Andererseits ergibt die Lebensdauerverringering des Donors während *FRET* eine völlig quantitative Messung, die unabhängig von Farbstoffkonzentrationen oder von spektralen Kontaminationen ist. Die Messung bedarf einer etwas aufwendigeren Apparatur, da die Lebensdauer typischerweise zwischen 1-10 Nanosekunden liegt. Diese Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer des Donor-Fluoreszenzfarbstoffes mittels Fluoreszenz Lebens-

dauer Imaging Mikroskopie (*FLIM*) beruht auf der Verzögerung zwischen Emission und Anregung. Die Anregung des Farbstoffes wird mit einem gewissen Zeitintensitätsmuster moduliert, abhängig von der genauen Ausführung werden eine Reihe kurzer Lichtblitze oder ein periodisch verändertes Signal – typischerweise eine Sinuswelle oder Blockwelle – benutzt, um den Donor anzuregen. Das Emissionssignal ist verzerrt, wobei das Ausmaß der Verzerrung direkt von der Lebensdauer abhängig ist. Über eine mathematische Transformation des Emissionssignals und den Vergleich mit dem Anregungssignal wird die Lebensdauer bestimmt. Eine ausführliche Erklärung und Informationen bezüglich der Benutzung von *FLIM* ist inzwischen erschienen (Esposito und Wouters 2004). Bis vor kurzem gab es keine kommerziellen Anbieter solcher Apparaturen, was die breite Einführung der Methode in die Physiologie beschränkt hat. Heutzutage können bestehende Mikroskope mit Lebensdauer-Messfähigkeiten erweitert werden.

Zellbiologische Anwendung von *FRET* zur Bestimmung molekularer Aktivitäten

Nach der Einführung der *FRET*-Methode in die moderne Zellbiologie – etwa vor zehn

Abb. 3: Verschiedene *FRET*-basierte Biosensorenkonstrukte. Das obere Feld zeigt die Interaktion zwischen zwei fluoreszent-gefärbten Proteinen. Das mittlere Feld zeigt einen *intramolekularen* Entwurf, wobei zwei Domänen nach Modifikation oder Aktivierung von einer der Domänen interagieren, z.B. bei einem Phosphorylierungssequenz-enthaltenden Peptid und einer Phospho-epitop-Erkennungsdomäne. Die dadurch hervorgerufene Konformationsänderung der ganzen Sensorenkette ergibt ein erhöhtes *FRET*-Signal. Das untere Feld zeigt ein Ionenkanal, aufgebaut aus Fluoreszenzproteininfusionen mit seinen Untereinheiten. Die Veränderung der Lage der einzelnen Untereinheiten, z.B. nach Aktivierung des Kanals, wird an Hand der veränderten Abstände zwischen den Fluoreszenzproteinen gemessen.



Jahren, fast zeitgleich mit der Entdeckung der Fluoreszenzproteine – hat es drei „Anwendungswellen“ gegeben (Tsien 1998; Wouters et al. 2001). Die erste Anwendung von *FRET* war hauptsächlich zwischen einzelnen fluoreszenzmarkierten Proteinen (Abbildung 3). Die Probleme mit spektraler Kontamination bei Intensitätsmessungen stellte

sich als lästiges Problem dar, weil es bei den Messungen zu erheblichem Hintergrund führte. Andererseits gibt es verschiedene Beispiele in der Literatur, wo *FRET* zwischen Proteinen problemlos mittels FLIM gemessen wurde (Ng et al. 1999; Vermeer et al. 2000; Wouters und Bastiaens 1999). Aber für die meisten Anwendungen wurden die

zu untersuchenden Proteine oder Proteinfragmente zu einem einzigen Konstrukt mit den beiden jeweiligen Fluoreszenzfarbstoffen vereinigt. Diese *intramolekularen* Konstrukte zeigen zwar auch spektrale Probleme, die doch innerhalb eines Konstruktes immer die gleiche Größe haben und somit Emissionsveränderungen in solchen Kon-

WORLD PRECISION INSTRUMENTS

STIMULATORS, ISOLATORS

BIOSENSING
 MICROINJECTION
 MICRODISSECTION
 PUMPS, SYRINGES
 DATA ACQUISITION
 ANIMAL PHYSIOLOGY
 MICROMANIPULATORS
 LABORATORY SUPPLIES
 MICROSCOPES, CAMERAS
 BEVELERS, MICROFORGES
 CELL & TISSUE RESEARCH
 MICROELECTRODE PULLERS
 AMPLIFIERS, ELECTROMETERS
 SPECTROSCOPY, FLUORIMETRY
 GLASS, HOLDERS, ELECTRODES

WWW.WPI-EUROPE.COM

MEET US AT THE FENS, LISBON JULY 10-14 2004, BOOTH 56



strukturen direkt *FRET* zuzuweisen sind (Abbildung 3). Dies vereinfacht die Messungen und hat zur großen Popularität der Einzelketten-Biosensoren geführt. Bekannte Vorbilder sind die *Cameleon* Kalziumsensoren, die aus einer Kette von zwei Fluoreszenzproteinen bestehen, *Calmodulin* und das *M13*-Peptid, wobei unter Einfluss der Kalziumbindung an *Calmodulin* die Affinität für das *M13*-Peptid steigt (Miyawaki et al. 1999; Mizuno et al. 2001). Kalzium bewirkt damit eine große Konformationsänderung in der Sensorenkette, die als verändertes *FRET*-Signal zu messen ist. Andere Vorbilder gibt es für gleichartige Aktivitätssensoren, wie die der *Rho*-Familie GTPasen (Aoki et al. 2004; Itoh et al. 2002; Kurokawa et al. 2003; Mochizuki et al. 2001; Yoshizaki et al. 2003). Diese beruhen auf der Erkennung von *GTP*-enthaltenen (aktivierten) *Rho-GTPasen* durch die spezifische Bindung von Proteindomänen, die abgeleitet wurden von Proteinen, die in der Zelle normalerweise zu aktivierten *GTPasen* rekrutiert werden. Auch Proteinkinase-Sensoren sind mit dem gleichen Prinzip konzipiert; ein Kinasesubstrat wird nach der Phosphorylierung von einem phosphospezifischen Bindungsmodul erkannt (Kurokawa et al. 2001; Ting et al. 2001). Diese Art von Sensoren sind sehr präzise, weil sie zelleigene Komponenten für die Bestimmung von Aktivitäten von Signalwegen benutzen. Allerdings sind sie nur beschränkt einsetzbar, weil es oft zu einer unvollständigen Antwort bei der Benutzung von Proteindomänen führt. Das Fehlen von anderen Domänen des gleichen Proteins kann z.B. zur Abwesenheit von Regulationschritten führen, die normalerweise über diese anderen Domänen reguliert werden. Die Benutzung dieser Domänen kann jedoch – anstatt der ganzen Proteine – zu einer Falsch-Sortierung der Sensoren im Vergleich mit dem intakten Protein führen. Des Weiteren können diese Domänen auch eine andere tertiäre/quarternäre Struktur zeigen, wodurch Sensoren sterisch gehindert werden können. Es gibt Beispiele von Phosphorylierungssensoren, die ihre Empfindlichkeit für eine Inaktivierung durch Phosphatase-bedingten Dephosphorylierung verloren haben und unnatürlich lange im phosphorylierten Zustand bleiben (Sato et al. 2002). Die Lösung für ein solches Problem ist, so viel wie möglich intakte Proteine als Biosensor einzusetzen, um die natürliche physiologische Regulation des zu messenden Prozesses zu gewährleisten. Dieses setzt voraus, dass die Biosensoren wiederum als einzelne, getrennte Elemente vorliegen müssen. Eine ausführliche Beschreibung von

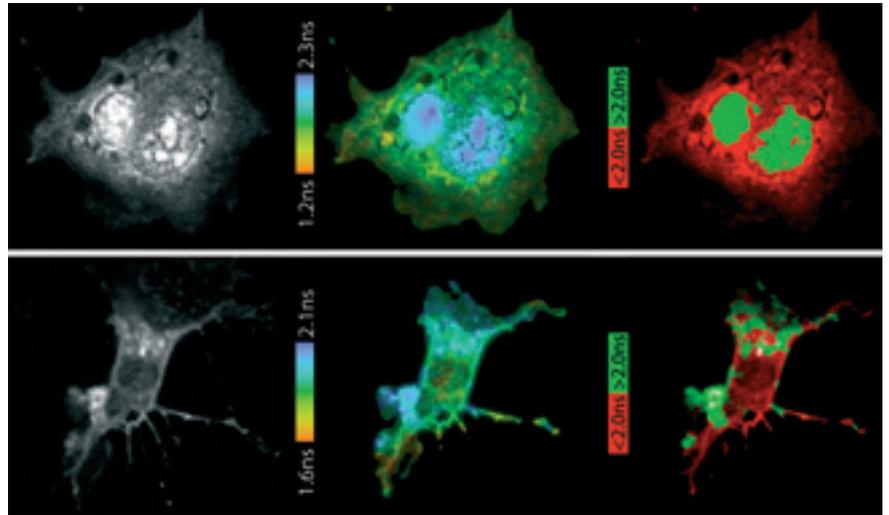


Abb. 4: Oberes Feld: *FLIM*-Messung an einem einfachen zellulären Testsystem. *HeLa*-Zellen wurden mit einem nuklear lokalisierenden Cyan-Fluoreszenzprotein und einem Cyan-Gelb-Fusionsprotein transfiziert. Das letzte Konstrukt zeigt effizientes *FRET* zwischen dem Cyan-Donor und dem gelben Akzeptor. Im gemessenen Cyan-optimierten Wellenlängengebiet sind beide Konstrukte spektral identisch (siehe Cyan-Emission, linkes Bild), weisen aber klare Lebensdauerunterschiede auf (mittleres Bild). Die Lebensdauern sind in Falschfarben kodiert (siehe Farbstreifen), wobei wärmere Farben kürzere Lebensdauer (mehr *FRET*), und kältere Farben längere Lebensdauer (weniger *FRET*) wiedergeben. Das nuklear lokalisierte Einzel-Cyan-Fluoreszenzprotein zeichnet sich durch eine höhere Lebensdauer als das umringende Zytoplasma aus. Dieses deutet auf die Anwesenheit von *FRET* hin, d.h. auf das *FRET*tende Cyan-Gelb-Fusionsfluoreszenzprotein im letzteren Kompartiment. Beide Konstrukte können anhand ihrer Lebensdauer getrennt werden, wenn ein Lebensdauerschwel­lenwert von 2 Nanosekunden gewählt wird (rechtes Bild). Die Gebiete mit einer Lebensdauer über 2 Nanosekunden sind grün dargestellt und zeigen die Nuklei. Die Gebiete mit einer Lebensdauer unter 2 Nanosekunden sind rot dargestellt und zeigen den Rest der Zelle. Unteres Feld: *FLIM*-Messung an humanen *SH-SY5Y* Neuroblastoma-Zellen, die mit einem GPI-modifizierten grünen Fluoreszenzprotein transfiziert wurden. Diese Modifikation mediert die Proteinlokalisierung in Membrangebieten, die bekannt sind als „lipid rafts“. Das Fluoreszenzprotein ist in der äußeren Membranschicht lokalisiert, wo es mit anderen „lipid rafts“ sich mischen kann. Als zweite Komponente der „lipid rafts“ wurde das Gangliosid *G1-Lipid* ausgewählt, das sich detektieren lässt per Inkubation mit einem gelabelten (*Alexa 549*) bakteriellen Toxin, dem *Cholera-Toxin* beta-Untereinheit. Gezeigt wird die Donor-Fluoreszenz des GPI-Fluoreszenzproteins (linkes Bild), deren Lebensdauern in der Zelle (mittleres Bild), und die Segmentierung in *FRET*tenden und nicht-*FRET*tenden Zellgebieten. Die Mischung der „lipid rafts“ kann anhand von *FRET* zwischen dem GPI-Fluoreszenzprotein und dem *Alexa*-Farbstoff in bestimmten Regionen der Plasmamembran nachgewiesen werden. Das *Cholera-Toxin* zeigt eine gleichmäßige Verteilung auf der Zelle (nicht angezeigt). Dieses demonstriert, dass *FRET* eine Auflösung hat, die über die optische Auflösung (weit) hinaus geht. Die *FLIM*-Messungen wurden ausgeführt auf einem Leica SP2-Konfokalem Mikroskop mit Zwei-Photonen-Anregung im Femtosekunden-Puls-Modus (Coherent Mira 900) bei einer Zwei-Photonen-Wellenlänge von 820 Nanometer für die Anregung des Cyan-Fluoreszenzproteins und 900 Nanometer für das Grün-Fluoreszenzprotein.

verwendeten Biosensoren und deren Eigenschaften ist gegeben in Bunt und Wouters (2004).

Strukturelle Untersuchungen mit *FRET*

Aus diesem Grund gibt es in der letzten „Inkarnation“ der *FRET*-Sensoren zum einen einen klaren Trend zurück zu intermolekularen *FRET*-Messungen und zum anderen den Trend, strukturelle Richtungen aufzuzeigen, d.h. dynamische, molekulararchitektonische Untersuchungen anstatt isolierter

Aktivitätsbestimmungen. Die verbesserte Technik, insbesondere die *FLIM*-Technologie, ermöglicht immer mehr quantitative und zuverlässige Messungen, unabhängig von Bildgebungsartefakten, wie spektrale Kontaminationen. Die Neurobiologie ist momentan das Feld, wo die meisten Fortschritte gemacht werden. Ein Grund dafür ist, dass die Aktivität von Fluoreszenzproteinfusionen mit Ionenkanälen oder *G-Proteinen* direkt über elektrophysiologische Messungen validiert werden können. Außerdem sind multimolekulare Strukturen, deren dynami-

sche Umwandlungen jetzt im Vordergrund der Untersuchungen treten, für neurobiologische Fragestellungen definiert und weitestgehend konstant. Die Anzahl von Untereinheiten in einem Kanal wird sich nicht verändern und die Zusammenstellung aus verschiedenen Arten von Untereinheiten ist aus jahrelangen elektrophysiologischen Studien schon meist gut bekannt. Ionenkanäle und deren Kombination mit trimeren *G-Protein*-Komplexen sind deshalb ideal geeignete Probanden für die komplexeren *FRET*-Studien. Solche gut definierten Strukturen sind im Feld der Zellbiologie eher eine Ausnahme. *FRET* wurde vor kurzem für die Bestimmung der stöchiometrischen Zusammensetzung eines zyklisch-nukleotid gesteuerten Kanals (*CNG*) des retinalen Stäbchen-Photodetektors benutzt (Zheng et al. 2002). Eine Kombination von Fluoreszenzproteininfusionen mit zwei Klassen von Untereinheiten dieses Kanals ergab eine Stöchiometrie von drei *CNGA1*-Untereinheiten pro *CNGB1*-Untereinheit. Eine zweite *FRET*-Studie untersuchte die aktivitätsbedingte Konformationsveränderungen des ausführlich beschriebenen *GIRK*-Kanals (Riven et al. 2003).

Die aktivitätsbedingten strukturellen Änderungen wurden über *FRET* zwischen verschiedenen Fluoreszenzproteininfusionen der unterschiedlichen Untereinheiten gemessen. Man fand eine Rotation und eine Expansion der Proteintermini, die zu einer Öffnung des Kanals führen. In einem ähnlichen Ansatz wurde herausgefunden, dass der trimere *G-Protein*-Komplex der *Gi*-Klasse nicht, wie gedacht, dissoziiert nach der Aktivierung, sondern zu einer Änderung der Orientierung der *alpha*- und *beta*-Untereinheiten führt (Bunemann et al. 2003). Bis vor kurzem wären diese Untersuchungen nicht zu realisieren gewesen, weil die Elektrophysiologie nur einen Teil an Informationen liefert, da sie nur auf das ausgewählte Messprotokoll fokussiert ist und dadurch die räumliche Auflösung verloren geht. Die Fluoreszenzmikroskopie andererseits erlaubt die Observation von gefärbten Molekülen in der Zeit und mit hoher räumlicher Auflösung, erkennt aber in der klassischen Ausführung nicht die Wechselwirkung zwischen Proteinen. Diese genannten Vorbilder spiegeln die Möglichkeiten der *FRET*-Mikroskopiemethode wider, deuten aber auch auf Lücken. Die simultane Erfassung der biochemischen und

elektrophysiologischen Ereignisse fehlt. Es gibt zwar eine hohe „Ereignisresolution“ an beiden Seiten, aber die sind immer noch voneinander getrennt. Mögliche heterogene Antworten sind deswegen nicht zu erfassen.

Doch für Rückschlüsse bezüglich des kausalen Verbandes zwischen z.B. Kanalöffnungscharakteristiken und Konformationsänderungen in multimeren Komplexen oder *G-Protein*-Aktivierungsmustern ist die simultane Erfassung von *FRET*-Ereignissen und elektrophysiologisch definierten Funktionen die Voraussetzung. Wir arbeiten deswegen an solch einer Kombination, indem wir in Zusammenarbeit mit CytoCentrics CCS aus Reutlingen eine automatisierte *Patch-clamp*-Plattform entwickeln. Dies erlaubt minimal-invasive und stabile, elektrophysiologische Ableitungen und gleichzeitige Einzel-Zell- *FRET* Observationen. In dieser Chip-basierten Anwendung werden die einzelnen Zellen reproduzierbar an die gleiche Stelle durch leichten Unterdruck in einer integrierten Pipettenspitze positioniert (zentriert). Der optische Zugang ist unabhängig in der Messkammer angebracht und versorgt sowohl die Anregung als auch die effiziente Detektion der emittierten Fluoreszenz.

Leadership

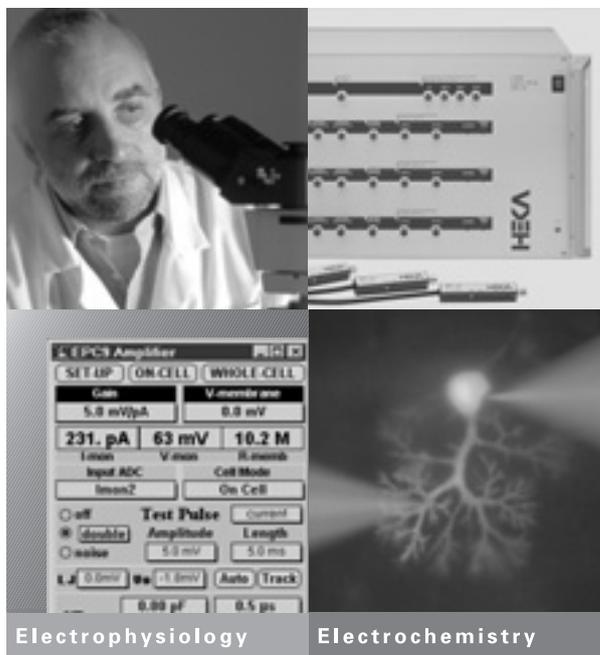
International research and engineering teams guarantee creativity and precision for HEKA instruments and software.

www.heka.com

HEKA Elektronik
Dr. Schulze GmbH
Wiesenstraße 71
D-67466 Lambrecht/Pfalz
Germany
phone +49 (0) 63 25 / 95 53-0
fax +49 (0) 63 25 / 95 53-50
eMail sales@heka.com

HEKA Electronics Inc.
47 Keddy Bridge Road
R.R. #2
Mahone Bay, NS B0J 2E0
Canada
phone +1 902 624 0606
fax +1 902 624 0310
eMail nasales@heka.com

HEKA Instruments Inc.
33 Valley Road
Southboro, MA 01772
USA
phone +1 866 742 0606
fax +1 508 481 8945
eMail nasales@heka.com



HEKA provides the finest instruments today to achieve the needed progress of tomorrow...

- patch clamp amplifiers
- multi-channel stimulation/acquisition patch clamp systems
- potentiostats/galvanostats
- acquisition interfaces
- software for acquisition and analysis
- pipette pullers
- micromanipulators
- complete patch clamp set-ups
- scanning electrochemical microscopes

HEKA

Electrophysiology

Electrochemistry

Ihr Fachlexikon jetzt zum absoluten Sparpreis!!

■ ungekürzte Sonderausgaben ■ Qualität direkt vom Original-Verlag

Das ganze Spektrum der modernen Biologie!



Früher € 387,-
Jetzt € 99,95!!

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: <http://www.elsevier-deutschland.de/artikel/674775>

Weltweit einmalig: Lexikon der Neurowissenschaft



Früher € 596,-
Jetzt € 99,95!!

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 Verweissystem erschlossen.

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

„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*

- 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

Webinfo

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

Lexikon der Biochemie – kompakt und preiswert!



Früher € 298,-
Jetzt € 59,95!!

In rund 7.000 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., kart. – insgesamt: rund 7.000 Stichwörter, ca. 630 Abb. und Tab., sowie über 700 Formeln
- Gesamtausgabe Buch: € 59,95, ISBN 3-8274-1569-1
- 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: <http://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 Neurowissen. (Buch + CD-ROM)	149,-	3-8274-0455-X
	Lexikon der Biochemie (Buch)	59,95	3-8274-1569-1
	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

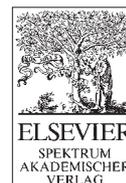
Straße

PLZ/Ort

E-Mail-Adresse

Datum/Unterschrift

Ausführliche Infos unter
www.elsevier-deutschland.de



Ausblick

Die *FRET*- und *FLIM*- Technologie findet wegen der molekularen Aussagemöglichkeiten im vor kurzem gegründeten DFG-Forschungszentrum für Molekulare Physiologie des Gehirns (Center for Molecular Physiology of the Brain, CMPB) in Göttingen (<http://www.cmpb.org>) auch ihren Einsatz in verschiedenen neurophysiologischen und -pathologischen Forschungsfragestellungen. Unsere neuesten Verbesserungen in dieser Technologie, die *real-time*-Erfassung von *FLIM*-Abbildungen, die weitgehende Automatisierung der mikroskopischen Apparatur und die Optimierung von GFP-Fluorophoren für den Einsatz in *FLIM*-basierten *FRET*-Messungen sind Voraussetzungen für die Entwicklung sensitiver, optischer Biosensoren und für Screening-Verfahren in der Identifikation von physiologisch relevanten Protein-Protein-Interaktionen.

Die Vermessung molekularer Reaktionen in lebendigen Zellen wird durch die Kombination modernster Bildgebungsapparatur, insbesondere im Bereich der *FLIM*-Detektion, und dank einer Fülle von chemischen und genetisch-kodierbaren Fluoreszenz-farbstoffen ermöglicht. Die somit erlangte Visualisierung von spezifischen Protein-Protein-Interaktionen, Protein-Modifikationen und Protein-Konformationsänderungen erlauben detaillierte Einblicke in die Wirkungsweise der zellularen Maschinerie. Die diversen Entwurfstrategien für maßgeschneiderte *FRET*-basierte, optische Biosensoren haben in der Vergangenheit schon einige Prinzipien und „Verhaltensregeln“ der einzelnen Biomoleküle in deren Zusammenspiel in verschiedenen zellularen Signalverarbeitungsprozessen aufgeklärt. Wir erwarten, dass die Technologie jetzt ausreichend ausgereift ist, um breitgefächert als analytisches Werkzeug eingesetzt zu werden, zum Beispiel für die Erforschung neuer Interaktionen in Screeningverfahren. Die Entwicklung immer sensitiverer und neuartiger Biosensoren, die die Interaktion von mehr als zwei Fluoreszenzfarbstoffen vermessen können und der Einsatz synthetischer Farbstoffe über neuentwickelte gezielte Biokonjugationen in Kombination mit lebendigen Zellen wird noch detailliertere Messungen ermöglichen. Sicherlich wird in nächster Zukunft die Zelle noch „transparenter“ erscheinen.

Literatur

- Bunt, G. und Wouters, F.S. (2004): Visualization of molecular activities inside living cells with fluorescent labels. *Int Rev Cytology*
- Esposito, A. und Wouters, F.S. (2004): Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM) (Unit 14.3). In: *Current Protocols in Cell Biology* (NY, USA, John Wiley & Sons)
- Jordan, J.D., Landau, E.M. und Iyengar, R. (2000): Signaling networks: the origins of cellular multitasking. *Cell* 103: 193-200.
- Verkhusha, V.V. und Lukyanov, K.A. (2004): The molecular properties and applications of Anthozoa fluorescent proteins and chromoproteins. *Nat Biotechnol* 22: 289-296.
- Wouters, F.S., Verveer, P.J. und Bastiaens, P.I. (2001): Imaging biochemistry inside cells. *Trends Cell Biol* 11: 203-211.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagungen

Die Nachwuchsgruppe Zelluläre Biophysik im European Neuroscience Institute-Göttingen (ENI-G) wird von der Universität Göttingen, dem Graduiertenkolleg „Neuronale Signalverarbeitung und Biophysik“ und dem Zentrum für Molekulare Physiologie des Ge-

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: europa@finescience.com
Web: www.finescience.com



hirns (CMPB) finanziert. Das ENI-G ist eine Initiative der Universität Göttingen und der Max-Planck Gesellschaft.

Kurzbiographien

Fred S. Wouters: geboren 1968 in Apeldoorn, Niederlande, studierte Medizinbiologie an der Universität Utrecht (NL). Promovierte 1997 in Biochemie und Molekulare Biologie, Universität Utrecht (NL). Postdok. am Imperial Cancer Research Fund, London, UK (1997-2000) und am Europäischen Molekularbiologie Laboratorium (EMBL), Heidelberg (2000-2001). Seit 2001 Nachwuchsgruppenleiter am ENI-G in Göttingen.

Dirk Lange: geboren 1972 in Göttingen, Lehre zum Chemielaborant in der Anorganischen Chemie 1994, Isolierung von Sekundärmetaboliten aus marinen Bakterien und marinen Pilzen in der Organischen Chemie, seit 2001 als Technischer Assistent in der Arbeitsgruppe „Zelluläre Biophysik“ im European Neuroscience Institute-Göttingen (ENI-G).

Korrespondenzadresse

Dr. Fred S. Wouters
Cell Biophysics Group
European Neuroscience Institute-Göttingen
Waldweg 33, D-37073 Göttingen
Tel.: ++49 (0) 551 391 2368, Fax: ++49 (0) 551 391 2346
e-mail: fred.wouters@gwdg.de, www.eni.gwdg.de/celloverview.htm



Multiple Sklerose – weit mehr als eine Entmarkungskrankheit

Orhan Aktas und Frauke Zipp

Zusammenfassung

Die Multiple Sklerose (MS) stellt in unseren Breitengraden eine der wichtigsten Ursachen für persistierende neurologische Behinderungen junger Erwachsener dar. Nach gegenwärtigem Kenntnisstand ist die MS eine Autoimmunerkrankung, bei der autoreaktive T-Zellen in das Zentralnervensystem (ZNS) einwandern und dort eine gegen Bestandteile der Markscheide gerichtete Entzündungsreaktion initiieren. Die pharmakologische Regulation der T-Zell-vermittelten Immunantwort stellt eine wesentliche Therapiestrategie dar. Die Bedeutung konnten wir kürzlich noch einmal belegen durch unsere Arbeit zur Wirksamkeit von Statinen, die in humanen T-Zellen den Zellzyklus blockieren und im Tiermodell der MS die Entzündung im ZNS vermindern. Neuere Untersuchungen belegen, dass in der MS jedoch auch neuronale Strukturen irreversibel geschädigt werden, und dass diese Schädigung für die körperlichen Behinderungen der Patienten verantwortlich ist. Die entzündlichen Schädigungsmechanismen, die vorwiegend zum apoptotischen Zelltod im ZNS führen, sind nach wie vor nicht aufgeschlüsselt. Wir konnten zeigen, dass ein oxidatives Abbauprodukt der Myelinscheide im Liquor und ZNS von Patienten akkumuliert und eine endogene Schadenskaskade initiiert, die schließlich zum neuronalen Untergang führt. Dieser neu entdeckte Mechanismus verknüpft die beiden pathologischen Pfeiler der MS, die Entmarkung und die Schädigung neuronaler Strukturen, unmittelbar und kausal. Zudem stellte sich heraus, dass T-Zellen, deren Wanderung durch das ZNS wir mit der Zwei-Photonen-Mikroskopie visualisieren können, direkt mit Neuronen interagieren und diese über Zell-Zell-Kontakte schließlich schädigen können.

Die Kenntnisse dieser Prozesse sind Voraussetzung für die Entwicklung von effektiven und nebenwirkungsarmen Therapien in der MS, die trotz der Fortschritte in den letzten Jahren nach wie vor nicht zufriedenstellend behandelt werden kann.

Abstract

Multiple Sclerosis – much more than a demyelinating disease.

Multiple Sclerosis (MS) is thought to be an autoimmune disease that affects the central nervous system (CNS). According to our current understanding, autoreactive T cells invade the CNS and initiate a local immune attack directed against the myelin sheath surrounding and protecting the nerve fibers of the CNS. Thus, pharmacological regulation of the T cell-mediated immune response represents a major goal in MS therapy. The relevance of this concept was again supported by our recent work on statins, which showed efficacy in the treatment of the MS animal model disease and efficiently blocked antigen-mediated proliferation of human T cells by interference with the cell cycle.

In MS, not only is myelin lost in multiple areas, but – as we have only recently acknowledged – the neuronal structures are also damaged, and this is considered to account for the persisting neurological deficits of MS patients. The inflammatory damage mechanisms in the CNS are still not yet fully elucidated. Recently we found the accumulation of a myelin breakdown product in the brain and cerebrospinal fluid (CSF) of patients, where it initiates a damage-inducing cascade. These findings unravel a novel mechanism linking demyelination and progressive neuronal damage, which might represent an underlying insidious process driving the disease beyond a primary white matter phenomenon. Moreover, we were able to demonstrate via two-photon-microscopy that encephalitogenic T cells migrate through the brain and directly contact neurons, leading to a lethal increase in neuronal calcium levels.

Understanding these mechanisms is a prerequisite for the development of new therapies for MS, a disease which cannot be treated sufficiently so far.

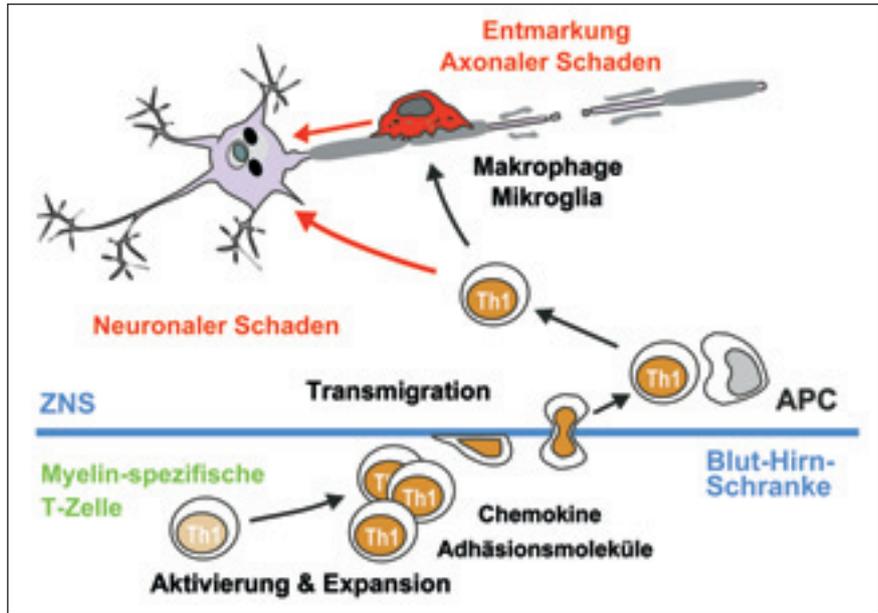
Key words: Multiple Sclerosis; Neuronal Damage; Demyelination; 7-Ketocholesterol; Atorvastatin

Einleitung

Die Multiple Sklerose (MS) ist die in unseren Breitengraden häufigste chronisch entzündliche Erkrankung des Zentralnervensystems (ZNS), die bereits im jungen Erwachsenenalter zu deutlichen neurologischen Behinderungen führen kann. Als Ursache wird eine fehlgeleitete Reaktion des Immunsystems angenommen, die sich in genetisch suszeptiblen Individuen gegen Bestandteile der Myelinscheide richtet. Im Mittelpunkt der Initiierung von Krankheitsausbrüchen (Schüben) stehen dabei entzündliche (proinflammatorische) T-Lymphozyten (T-Zellen) vom sog. T-Helfer-1 (Th1)-Typ. Daten aus dem Tiermodell der MS, der experimentell autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), belegen diese Hypothese: So lässt sich die MS-Modellerkrankung in bestimmten Nagerstämmen sowohl durch die Immunisierung mit Bestandteilen der Myelinscheide (aktive EAE) als auch durch den Transfer von Myelin-reaktiven T-Zellen (passive EAE) auslösen. Parallel belegen aktuelle molekularbiologische Untersuchungen, dass auch bei MS-Patienten vor dem Auftreten eines Krankheitsschubes eine Expansion solcher Myelin-reaktiver T-Zellen außerhalb des ZNS stattfindet (Muraro et al. 2003).

Wie findet die Bildung der für die MS charakteristischen entzündlichen Läsionen im ZNS statt? An erster Stelle steht die Transmigration. Darunter versteht man den Durchtritt von aktivierten T-Lymphozyten durch die intakte Blut-Hirn-Schranke, die für ruhende T-Zellen nicht permeabel ist. Die T-Zellen werden entlang eines Gradienten von chemotaktischen Substanzen („Chemokinen“) an die Blut-Hirn-Schranke herangelockt, interagieren mit Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche der Endothelzellen und sind dann in der Lage, in das ZNS-Kompartiment zu gelangen. Im ZNS erkennen sie ihre spezifische Zielstruktur, Myelinscheiden-Antigene, wieder und werden erneut aktiviert. Durch diese Reaktivierung initiieren die T-Zellen eine gegen die Myelinmembran gerichtete Immunreaktion, bei der sie weitere Immunzellen aus dem peripheren Blut bzw. aus dem ZNS rekrutieren. An den Schädigungsprozessen sind vermutlich auch aktivierte B-Lymphozyten beteiligt, die gegen die Myelinscheide gerichtete Antikörper sezernieren und damit die immunologische Attacke unterstützen, in deren Folge es zum Verlust der Myelinscheide (Entmarkung) kommt. Eine besondere Rolle kommt ebenso den aktivierten Fresszellen (Makrophagen) aus dem peripheren Blut sowie Mikrogliazellen zu, d.h. aus dem ZNS-stammenden und wahrscheinlich

Abb. 1: Ätiopathogenetisches Modell der Multiplen Sklerose. Nach aktuellem Kenntnisstand überwinden zu Beginn der Erkrankung peripher aktivierte Myelin-spezifische T-Zellen die Blut-Hirn-Schranke unter Vermittlung von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen. Die Wiedererkennung des spezifischen Autoantigens (präsentiert durch lokale Antigen-präsentierende Zellen, APC) aktiviert diese selbstreaktiven Zellen und veranlasst sie zu einer Immunreaktion vom Th1-Typ. Die vornehmlich gegen die Myelinscheide gerichtete Entzündungsreaktion verursacht die Entmarkung (Demyelinisierung), den Axonverlust, den Untergang von Neuronen und die Plauebildung. Autoantikörper haben vermutlich einen verstärkenden Effekt. Durch die Gewebeschädigung werden gleichzeitig zahlreiche Antigene freigesetzt, die wiederum zur Etablierung von neuen, autoreaktiven T-Zellen führen können.



den Makrophagen funktionell nahestehenden immunkompetenten Zellen (Abb. 1).

Da proinflammatorische T-Zellen in der MS-Pathologie eine entscheidende Rolle spielen, sind aktuelle therapeutische Strategien in der Behandlung dieser Erkrankung

darauf ausgerichtet, die Aktivierung, Proliferation, Zytokinproduktion und Migration der T-Zellen zu hemmen. Ebenso wie andere immunmodulatorische Therapien, z.B. polyclonale Immunglobuline (IVIg) (Aktas et al. 2001) und die in erster Linie etablierte Be-

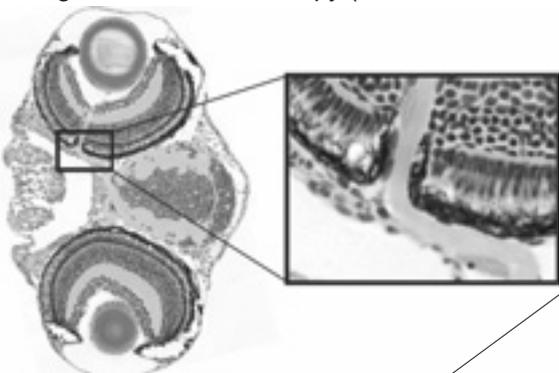
handlung mit Interferon (IFN)- β (Pette et al. 1997), greifen Statine, Lipidsenker vom Typ der β -HMG-CoA-Reduktase-Hemmer, in die Aktivierung und Proliferation von T-Zellen ein. Ihr immunmodulatorisches Potential wurde erst kürzlich erkannt. Schon seit län-

NEUROLUCIDA

The brain mapping and neuron tracing system providing the greatest accuracy, versatility, value and results!

Additional software modules are available for:

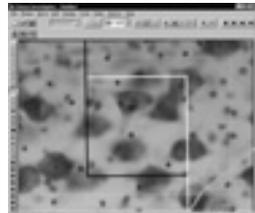
- high-res video microscopy (Virtual Slice and - **NEW!** - Virtual Slide Database)



- the analysis of confocal or MRI image stacks
- Solid Modelling

Obtain efficient, precise, unbiased and reliable estimates of the morphometric properties of biological structures. Create comprehensive maps of cells and anatomical regions - And much more...

for design based Stereology:

... with a continously growing number of probes!



MicroBrightField Europe e.K.

Matthissonstrasse 6 • D-39108 Magdeburg • Tel. / Fax: +49 (0)391 732 6989
E-mail: rbraul@microbrightfield.com • <http://www.microbrightfield.com>

Please visit us at the
4th FENS meeting, July 10-14,
2004, Lisbon, Booth 53

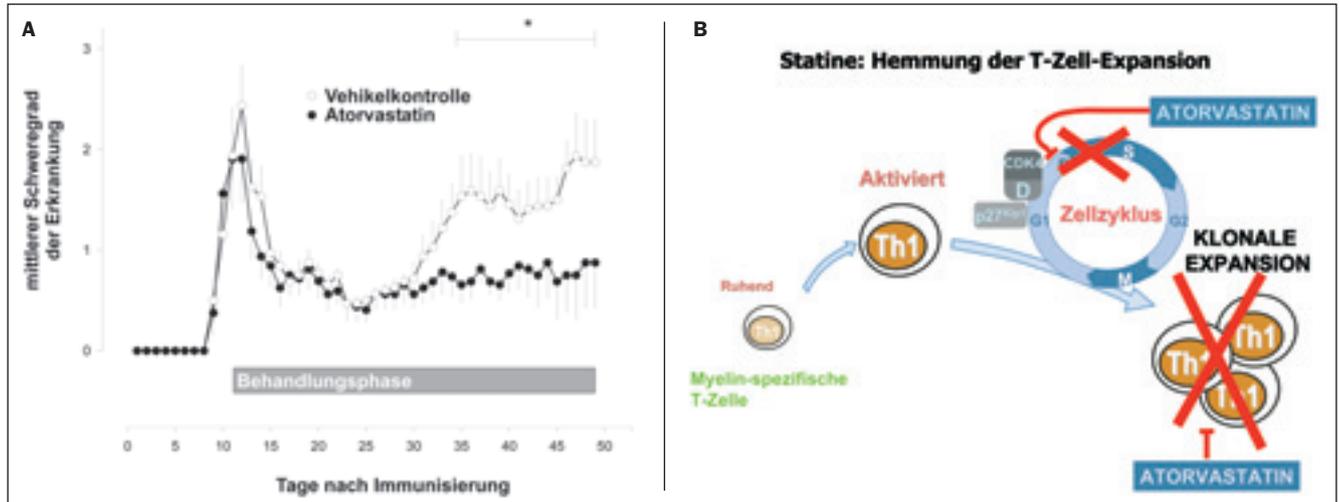


Abb. 2: Atorvastatin-vermittelte Immunmodulation. (A) Die therapeutische Behandlung von EAE-erkrankten Mäusen, d.h. Beginn der Therapie nach Krankheitsausbruch, führt zu einer Prävention des nächsten Krankheitschubes. (A, modifiziert nach Aktas et al. 2003). (B) Durch die Regulation von Faktoren, die das Wachstum von T-Zellen steuern, kann Atorvastatin die Expansion von autoreaktiven T-Zellen und somit die entzündliche Krankheitsaktivität hemmen.

gerem weiß man, dass Statine einen günstigen prophylaktischen Effekt auf das Herzinfarkt- und Schlaganfallrisiko haben (Maron et al. 2000). Diese Risikoreduktion wurde bislang durch ihren Lipid-senkenden Einfluss erklärt, eines für die Cholesterolsynthese essentiellen Enzyms. Neuere experimentelle Daten belegen jedoch, dass Statine über zusätzliche antiinflammatorische Eigenschaften verfügen. So senken Pravastatin und Lovastatin den Serumspiegel von CRP, eines Entzündungsmarkers, bei Patienten mit koronarer Herzkrankung (Albert et al. 2001; Ridker et al. 2001). In einer klinischen Studie zeigte sich, dass Pravastatin die Abstoßungsrate nach Herztransplantationen reduziert (Kobashigawa et al. 1995). Als eine mögliche molekulare Grundlage berichteten Kwak et al. (2000) über einen hemmenden Effekt von Statinen auf die für die professionelle Antigenerkennung wichtige, induzierbare Expression von *major histocompatibility complex* (MHC) Klasse II Molekülen auf Antigen-präsentierenden Zellen (Makrophagen, B-Zellen). Dies könnte im Fall von Autoimmunkrankheiten bedeuten, dass der für die Aktivierung von autoreaktiven T-Zellen essentielle Prozess der Antigenerkennung nicht stattfindet. Parallel zu einer amerikanischen Gruppe konnten wir in Kooperation mit Stefan Brocke, Hadassah Medical School, Hebrew-University, Jerusalem (Israel), einen protektiven Effekt von Atorvastatin in chronisch-relapsierender EAE zeigen, die immunologisch und neuropathologisch der MS ähnelt (Abb. 2A). Weiterhin gelang uns der Nachweis, dass Atorvastatin auch bei

therapeutischer Applikation, also nach Krankheitsmanifestation verabreicht, ein Krankheitsrezidiv („Schub“) verhindern kann (Youssef et al. 2002; Aktas et al. 2003). Nicht nur in murinen, sondern vor allem in humanen Antigen-spezifischen T-Zellen fanden wir einen MHC-unabhängigen antiproliferativen Effekt von Atorvastatin. Dieses Statin greift in den Zellzyklus ein und hemmt die Expression von Zyklin-abhängiger Kinase 4 (CDK4), indem es p27^{kip1} heraufreguliert, einen für Anergie wichtigen Faktor. Dieser Effekt ist HMG-CoA-Reduktase-abhängig, was an der Reversibilität nach L-Mevalonat-Zusatz deutlich wird, und hängt möglicherweise mit der posttranslationalen Modifikation (Isoprenylierung) kleiner GTP-bindender Moleküle durch Statine zusammen (Abb.2B). Die von uns und anderen Gruppen gewonnenen *in vivo* und *in vitro* Ergebnisse (Neuhaus et al. 2002; Youssef et al. 2002; Aktas et al. 2003) legen den Einsatz von Statinen in der Therapie der schubförmigen MS nahe, zumal diese im Gegensatz zu den etablierten Therapien oral verabreicht werden können. Da die Verträglichkeit der meisten Statinderivate durch den breiten langjährigen Einsatz als Lipidsenker bei der Behandlung der koronaren Herzkrankheit gut gesichert ist, sind bereits klinische Phase II Studien initiiert. Diese werden zeigen müssen, ob, in welcher Dosis, und in welcher Kombination eine orale Statin-Behandlung bei Patienten mit schubförmiger MS wirksam ist. Das vorgestellte pathogenetische Konzept der MS wurde in der jüngsten Vergangenheit an entscheidenden Stellen erweitert. In

den Mittelpunkt rückte dabei die Erkenntnis, dass es in der MS und in der EAE früh im Krankheitsverlauf neben der Entmarkung auch zu einer Schädigung der Axone („axonale Transektion“) kommt (Ferguson et al. 1997; Trapp et al. 1998; Kornek et al. 2000). Die Renaissance der axonalen Pathologie ist insoweit bemerkenswert, als dass sie bereits vom Erstbeschreiber der MS, Jean-Marie Charcot, Ende des 19. Jahrhunderts dokumentiert wurde und Anfang des 20. Jahrhunderts ein anerkanntes Merkmal der MS-Pathologie war (Doinikov, 1915). Diese Kenntnisse, die eine plausible Erklärung für die irreversiblen Behinderungen von MS-Patienten liefern, gerieten allerdings in Vergessenheit, um vor wenigen Jahren von Trapp et al. mit Hilfe moderner Nachweismethoden wieder in Erinnerung gerufen zu werden (Trapp et al. 1998). Mittlerweile ist bekannt, dass neben der axonalen Schädigung auch Neurone selbst untergehen können: So fand man im Kortex von MS-Patienten Neurone, die apoptotisch untergegangen waren (Peterson et al. 2001). Jedenfalls lassen sich beide Phänomene neuronaler Schädigung, d.h. axonale Transektion und neuronale Apoptose, auch bei EAE-erkrankten Nagern nachweisen (Meyer et al. 2001; Diestel et al. 2003). Das Ausmaß der axonalen Schädigung wird als ein wesentlicher Faktor für die Behinderung angesehen (Coles et al. 1999; Bjartmar et al. 2000). Allerdings werden die verantwortlichen Pathomechanismen bislang wenig verstanden. Für den früh im Krankheitsverlauf auftretenden axonalen Schaden wird

angenommen, dass ein ursächlicher Zusammenhang mit der ko-lokalisierten, entzündlichen Infiltration besteht. Die vermuteten Mechanismen reichen von der akuten Schwellung und Störung der ionalen Homöostase im Rahmen der Inflammation (Bjartmar et al. 2003) über von Makrophagen und T-Zellen sezernierte reaktive oxidative Substanzen (MacMicking et al. 1992) bis hin zur Zytotoxizität von CD8+ T-Zellen, die mit geschädigten Axonen assoziiert gefunden wurden (Bitsch et al. 2000). Dementsprechend konnte in einem Zellkultur-Modell beobachtet werden, dass CD8+ T-Zellen prinzipiell in der Lage sind, neuronalen Zelltod hervorzurufen (Medana et al. 2000). Für Stickstoffmonoxid konnte gezeigt werden, dass es insbesondere auf elektrisch aktive Axone einen schädigenden Einfluss hat (Smith et al. 2001). Weiterhin legt die erfolgreiche Behandlung von EAE-erkrankten Nagern mit dem AMPA/Kainat Glutamat-Rezeptor-Antagonisten NBQX nahe, dass der endogene, exzitatorische Neurotransmitter Glutamat an den Schadensmechanismen beteiligt ist. Interessanterweise führte diese Therapie nicht nur zu einer axonalen, sondern auch neuronalen Protektion: So war die Zahl untergegangener Neurone im Vorderhorn des Rückenmark signifikant verringert (Smith et al. 2000).

Zwangsläufig stellt sich die Frage, weshalb eine primär gegen die Myelinscheide gerichtete Immunantwort zum neuronalen Schaden führt. Es wird diskutiert, ob der axonale Schaden direkt durch die Entzündung bedingt oder Folge der Entmarkung ist, wie ausgeprägt der Schaden der Neurone selbst ist, und ob dieser direkt oder sekundär zum axonalen Schaden entstehen

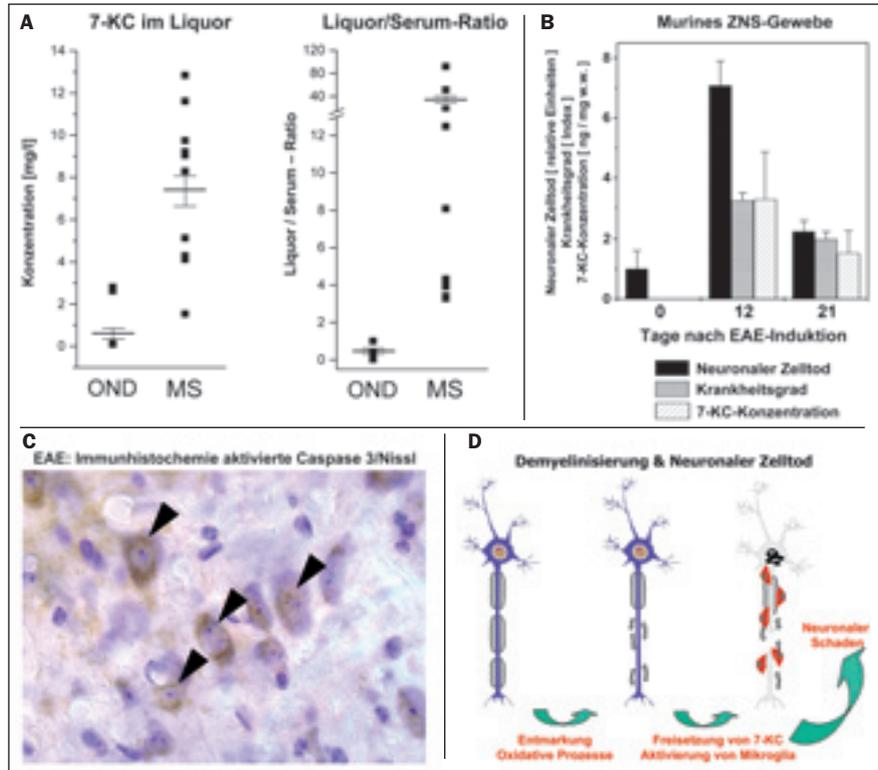


Abb. 3: 7-Ketocholesterol (7-KC) in der Neuroinflammation. Dargestellt ist die Konzentration von 7-KC (A) im Liquor von Patienten mit MS bzw. mit anderen neurologischen Erkrankungen (OND) sowie (B) im ZNS-Gewebe von Mäusen mit EAE im Krankheitsverlauf. (C) Immunhistochemischer Nachweis Caspase-3-positiver Neurone (Nissl-Gegenfärbung) im Hirnstamm von Mäusen mit EAE. (A-C, modifiziert nach Diestel et al. 2003). (D) Modell der 7-KC-vermittelten Schädigung: Die entzündliche Entmarkung führt zur Entstehung von 7-KC durch die Oxidation von Myelinbestandteilen. 7-KC ist selbst nicht neurotoxisch, aktiviert aber lokale Mikroglia, die neuronalen Schaden verursacht.

kann. Wir haben daher in Kooperation mit Oliver Ullrich, Institut für Immunologie, Universität Magdeburg, untersucht, ob durch den Untergang der Markscheiden Substanzen freigesetzt werden, die ein mög-

liches fehlendes Glied in der Kette zwischen Entmarkung und neuronalem Schaden darstellen. Hierbei identifizierten wir das 7-Ketocholesterol (7-KC) als entscheidenden Faktor. 7-KC entsteht als oxidatives Ab-

SCIENCE PRODUCTS offers MDC-200 & ROE-200



Neurobiological experiments are becoming more complex. Many require multiple manipulators with control units that quickly become space and/or cost prohibitive. The MPC-200 is the solution you have been asking for. A single controller capable of running 2 manipulators.

Sutter Instruments has taken the simplicity of the MP-225 and expanded it two manipulators from a single controller/ROE. The MPC-200 works with one or two MP-285 or MP-225.

If two manipulators aren't enough, a second controller can be daisy chained to allow the single ROE-200 to move up to four manipulators. Thus the system can be easily expanded to control highly sophisticated experiments.

SCIENCE PRODUCTS
Over 20 years competent service for Sutter products

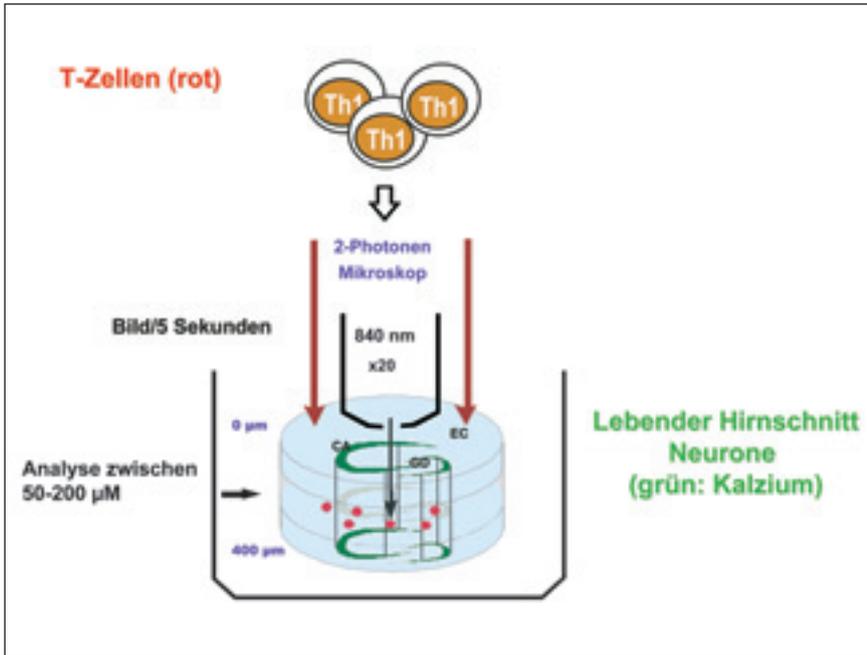


Abb. 4: Kokultursystem aus T-Zellen und Hirngewebe. Enzephalitogene T-Zellen werden mit einem intravitalem Farbstoff markiert und auf lebende Hirnschnitte appliziert. Das Verhalten der T-Zellen wird durch ein 2-Photonenmikroskop im Gewebeverband beobachtet. Durch die Färbung des Hirnschnittes mit einem Kalziumfarbstoff kann die Aktivität von Neuronen beurteilt werden.

bauprodukt im Rahmen der entzündlichen Entmarkungsreaktion. Entsprechend konnten wir eine deutlich erhöhte Konzentration an 7-KC sowohl im Liquor cerebrospinalis als auch im ZNS-Gewebe von Patienten mit MS nachweisen, verglichen mit gesunden Kontrollpersonen oder mit Patienten, die an nicht entzündlichen neurologischen Erkrankungen (wie z.B. einer Alzheimer-Demenz oder Migräne) litten (Abb. 3A). Wir fanden weiter heraus, dass das Krankheitsbild und der neuronale Untergang im Tiermodell der Multiplen Sklerose um so ausgeprägter ist, je mehr 7-KC nachgewiesen werden kann (Abb. 3B). 7-KC allein ist allerdings nicht in der Lage, neuronalen Schaden zu induzieren. Mechanistisch stellte sich heraus, dass die Substanz indirekt am neuronalen Untergang beteiligt ist. Im Rahmen der entzündlichen Entmarkungsvorgänge werden Mikrogliazellen aktiviert. Dies geschieht in einer Art Kettenreaktion, deren Anstoß das 7-Ketocholesterol gibt. Es dringt nämlich in den Kern der ruhenden Mikrogliazellen vor und aktiviert dort das Molekül Poly(ADP-ribose)-polymerase-1 (PARP-1). Dies führt nicht nur zur Aktivierung der Fresszellen im ZNS (Mikroglia), sondern auch dazu, dass diese in bereits entzündete Zonen wandern, um dort Nervenzellen zu zerstören (Diestel et al. 2003) (Abb. 3C, D). Möglicherweise lässt

sich die Konzentration des 7-Ketocholesteroles im Nervenwasser als Marker für die Schwere der Multiplen Sklerose nutzen. Durch Hemmung oder Blockierung von PARP-1 - etwa durch neuartige Medikamente - könnte der Untergang der Nervenzellen vermindert oder gar verhindert werden.

Neben indirekten Schadensmechanismen könnten enzephalitogene, d.h. die MS bzw. EAE verursachende T-Zellen, direkten Kontakt mit Neuronen aufnehmen und hierdurch Schaden anrichten. Daher haben wir in Zusammenarbeit mit der Gruppe von Robert Nitsch, Charité, Berlin, ein Kokultur-System etabliert, bei dem murine Antigen-spezifische T-Zellen auf lebende Hirnschnitte („slices“) appliziert werden (Nitsch et al. 2004). Die T-Zellen werden vor der Kokultur mit einem intravitalem Farbstoff markiert, der für die Dauer der Beobachtung in den T-Zellen verbleibt. Für die Analyse der neuronalen Aktivität werden die Hirnschnitte (ebenfalls vor der Kokultur) mit einem intravitalem Farbstoff markiert, der die intrazelluläre Kalzium-Konzentration anzeigt. Mit Hilfe der 2-Photon-Mikroskopie konnten wir in der Tiefe des Hirnschnittes, in der die Neurone intakt sind, Interaktionen von T-Zellen und Neuronen in ihrem organotypischen Gewebeverband über einige Stunden in Echtzeit beobachten (Abb. 4). Wir fanden heraus, dass sich CD4-positive Lym-

phozyten, die spezifisch für das Proteolipid-Protein (PLP) sind und für die Induktion der passiven EAE genutzt werden, aktiv im Hirngewebe fortbewegen und sowohl mit anderen T-Zellen als auch mit Zellen des ZNS in Kontakt treten. Insbesondere konnten wir zeigen, dass diese T-Zellen direkt mit dem Zellkörper und -fortsätzen von Neuronen interagieren (Abb. 5) und in diesen zu einem zunächst oszillierenden Kalzium-Anstieg führen. In der Mehrzahl der Beobachtungen führte diese Aktivierung zu einer schließlich anhaltenden, letalen Erhöhung des Kalzium-Spiegels in den Neuronen. Die beobachteten Effekte traten nach Blockade des T-zellulären Perforin-Systems nicht mehr auf. Perforin wird von zahlreichen Immunzellen zur Abtötung anderer Zellen benutzt. Aber auch die Hemmung der glutamatergen, NMDA- oder AMPA/Kainat-Rezeptor-vermittelten Aktivität im Hirnschnitt war in der Lage, die schädlichen Interaktionen zu hemmen: Dies zeigt die Beteiligung des exzitatorischen Transmitters Glutamat in der entzündlichen Schadenskaskade. Überraschenderweise waren die Interaktionen zwischen T-Zellen und Neuronen auch dann nachweisbar, wenn T-Zellen verwendet wurden, die ein irrelevantes Fremdprotein erkennen. So konnten wir neuronale Kalzium-Oszillationen beobachten, wenn für das Fremdantigen Ovalbumin (OVA) spezifische T-Zellen verwendet wurden. Daraus folgt, dass T-Zellen in aktiviertem Zustand wahrscheinlich generell in der Lage sind, unabhängig von ihrer Antigen-Spezifität, direkt mit Neuronen zu interagieren und neuronalen Schaden zu verursachen. Ein weiterer möglicher Mechanismus, über den T-Zellen neuronalen Schaden verursachen könnten, ist die durch Todesliganden vermittelte Induktion von Apoptose. Im Gegensatz zur Nekrose stellt die Apoptose eine programmierte, nach festen Regeln ablaufende Form des Zelltodes dar. Um Apoptose spezifisch auszulösen, bedient sich der Organismus bestimmter Todesrezeptor/-liganden-Systeme, die nach entsprechender Interaktion ein apoptotisches Signal vermitteln. Zu den spezifischen Liganden zählen Mitglieder der Tumornekrosefaktor (TNF)-Familie, vor allem TNF- α , der CD95(APO-1/Fas)-Ligand sowie der jüngst näher charakterisierte TNF-verwandte Apoptose-induzierende Ligand TRAIL. Daneben ist eine Apoptoseinduktion durch physikalische Einwirkungen (UV-/radioaktive Strahlen) oder durch den Entzug essentieller Wachstumsfaktoren möglich, wahrscheinlich über die Freisetzung von mitochondrialem Zytosol. Wichtiges intrazel-

lüres Ereignis ist die sequentielle Aktivierung von Caspasen. Diese Schlüsselenzyme der Apoptose bilden eine proteolytische Kaskade, die schließlich zur Degradation lebenswichtiger Proteine führt. Für das TRAIL-System gelang uns zu belegen, dass Apoptose-vermittelnde TRAIL-Rezeptoren im humanen ZNS auf Neuronen exprimiert werden (Dörr et al. 2002). Dementsprechend konnten wir in humanem Hirngewebe durch lösliches TRAIL insbesondere neuronalen Zelltod induzieren (Nitsch et al. 2000).

Andererseits ist bekannt, dass Mitglieder der TNF-Familie auch über regulatorische Funktionen verfügen, die der Eingrenzung von überschießenden immunologischen Reaktionen dienen: So wird über das CD95-System das apoptotische „Abschalten“ von T-Zellen vermittelt (vgl. Aktas et al. 2000). Für TRAIL gilt, dass es zwar keine Apoptose in T-Zellen induziert (Wendling et al. 2000), aber trotzdem über immunregulatorische Funktionen verfügt. Lösliches TRAIL, welches löslich offensichtlich insbesondere von Monozyten produziert wird (Ehrlich et al. 2003), hemmt die Proliferation von T-Zellen und hat demzufolge immunregulatorische Effekte (Lünemann et al. 2002; Wandinger et al. 2003). Unsere Arbeiten entsprechen den bislang in der EAE gewonnenen Beobachtungen, dass die intraperitoneale, also systemische Gabe eines TRAIL-Rezeptors, mit dem der TRAIL-Signalweg blockiert werden sollte, zur Verstärkung der Erkrankung führt (Hilliard et al. 2001). Daher bleibt zu klären, ob der immunregulatorische Mechanismus oder/und der Schädigungsmechanismus durch TRAIL die Pathogenese der Neuroinflammation bestimmen und ob man trotz einer möglichen dualen Rolle des TRAIL-Signalwegs in diese Mechanismen gezielt therapeutisch eingreifen kann.

Literatur

- Aktas, O., Waiczies, S., Smorodchenko, A., Dorr, J., Seeger, B., Prozorovski, T., Sallach, S., Endres, M., Brocke, S., Nitsch, R. und Zipp, F. (2003): Treatment of relapsing paralysis in experimental encephalomyelitis by targeting Th1 cells through atorvastatin. *J. Exp. Med.* 197: 725-733.
- Diestel, A., Aktas, O., Hackel, D., Hake, I., Meier, S., Raine, C. S., Nitsch, R., Zipp, F. und Ullrich, O. (2003): Activation of microglial poly(ADP-ribose)-polymerase-1 by cholesterol breakdown products during neuroinflammation: a link between demyelination and neuronal damage. *J. Exp. Med.* 198: 1729-1740.
- Nitsch, R., Pohl, E. E., Smorodchenko, A., Infante-Duarte, C., Aktas, O. und Zipp, F. (2004): Direct impact of T cells on neurons revealed

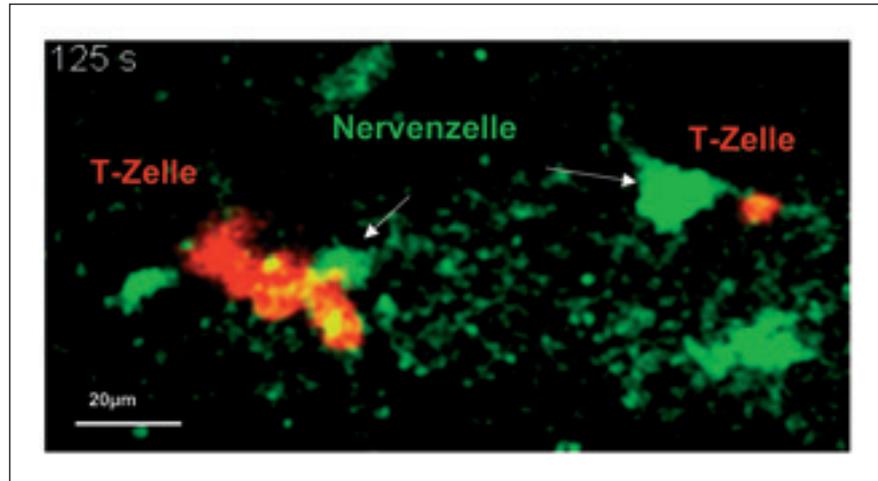


Abb. 5: Interaktion von T-Zellen und Neuronen. Abgebildet sind T-Zellen (rot), die sich in unmittelbarer Nähe von Nervenzellen, in denen erhöhte Kalziumspiegel detektierbar sind (grün), befinden bzw. in direktem Kontakt zum Nervenzellkörper oder -fortsätzen sind.

by two-photon microscopy in living brain tissue. *J. Neurosci.* 24: 2458-2464.

Lünemann, J. D., Waiczies, S., Ehrlich, S., Wendling, U., Seeger, B., Kamradt, T. und Zipp, F. (2002): Death ligand TRAIL induces no apoptosis but inhibits activation of human (auto)antigen-specific T cells. *J. Immunol.* 168: 4881-4888.

Wandinger, K. P., Lunemann, J. D., Wengert, O., Bellmann-Strobl, J., Aktas, O., Weber, A., Grundstrom, E., Ehrlich, S., Wernecke, K. D., Volk, H. D. und Zipp, F. (2003): TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a potential response marker for interferon-beta treatment in multiple sclerosis. *Lancet* 361: 2036-2043.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagungen

Die Originalarbeiten wurden unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, das BMBF, die Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft und die Gemeinnützige Hertie-Stiftung. Sonia Waiczies war wesentlich an den hier genannten Arbeiten beteiligt.

Kurzbiographien

Orhan Aktas: 1992-1999 Studium der Medizin an der Ruhr-Universität Bochum sowie an der Université Louis Pasteur in Straßburg (Frankreich). 1999/2000 Promotion am St. Josef-Hospital Bochum (Prof. H. Prznutek). 2001 Forschungsaufenthalt an der Hadassah Medical School, Hebrew-University, Jerusalem (Israel) bei Prof. S. Brocke. Seither wissenschaftlicher Assistent in der

Arbeitsgruppe von Prof. F. Zipp, seit 2002 am Institut für Neuroimmunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Frauke Zipp: 1982-1989 Studium der Medizin an der J.W.Goethe-Universität Frankfurt/Main sowie an der Duke University North Carolina, USA, Stipendiatin der Studienstiftung des Deutschen Volkes. 1990 Promotion in der Neuroanatomie in Frankfurt/Main (Prof. M. Frotscher). 1993-1995 Stipendiatin in der Neuroimmunologie am Max-Planck-Institut für Psychiatrie (Prof. H. Wekerle/R. Hohlfeld). Forschungsaufenthalte in der Neuroimmunology Branch, NIH, Bethesda, USA (Prof. H. McFarland/R. Martin). 1998 Habilitation und Fachärztin für Neurologie, Eberhard-Karls-Universität Tübingen (Klinik für Neurologie, Prof. J. Dichgans). Seit 2002 Direktorin des Instituts für Neuroimmunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Korrespondenzadresse

Dr. med. Orhan Aktas
Prof. Dr. med. Frauke Zipp
 Institut für Neuroimmunologie
 NWFZ 2680, Charité Campus Mitte
 D-10098Berlin
 Tel.: ++ 49 (0) 30 450 539 028
 Fax: ++ 49 (0) 30 450 539 906
 e-mail: orhan.aktas@charite.de
 frauke.zipp@charite.de

Bildungsfutter und Lesespaß in einem!

Spektrum-Sachbücher

Bestimmen Sie Ihr Leben selbst?!!



10.000 verkaufte Ex. in 4 Monaten!

Manfred Spitzer

Selbstbestimmen

Selbstbestimmen handelt von der Frage: Wie entscheiden wir uns? Was treibt uns beim Handeln an? Gibt es einen freien Willen, der es uns ermöglicht, „selbstbestimmt“ Entscheidungen zu treffen oder ist „der freie Wille eine Illusion“ (Gehirnexperte Gerhard Roth)? Spitzer zeigt, dass der Wunsch nach einem selbstbestimmten Leben keineswegs im Widerspruch zu den (oft deterministisch erscheinenden) Ergebnissen der modernen Hirnforschung steht. Denn, wenn wir wissen, wie Entscheidungen in unserem Gehirn zustande kommen und wie diese sich letztendlich in konkretes Handeln niederschlagen, haben wir nicht nur einen großen Schritt Richtung Selbsterkenntnis getan, sondern auch die große Chance, unsere Zukunft selbst in die Hand zu nehmen, ja selbst zu bestimmen!

2003, 426 S., geb.
€ 29,95, ISBN 3-8274-1489-X



NEU!

William H. Calvin

Wie das Gehirn denkt?

Denken, Intelligenz, Sprache, Bewußtsein – sind sie alle das Ergebnis von neuronalen Selektionsprozessen? Werden Gedankeninhalte, Wörter, Handlungsmuster vorsortiert, ehe sie uns überhaupt bewusst werden? Der Autor vermittelt in diesem Buch eine neue Sicht auf die Arbeitsweise des menschlichen Gehirns.

2004, 261 S., kart.
€ 9,95, ISBN 3-8274-1535-7

Emotionen erkennen und richtig interpretieren



NEU!

Paul Ekman

Gefühle lesen

» Niemand in der Welt hat Gesichtsausdrücke so intensiv untersucht wie Paul Ekman. In *Gefühle lesen* präsentiert er – klar, lebhaft und leicht zugänglich – seine faszinierenden Beobachtungen über die offenen und versteckten Ausdrücke von Gefühlen, denen wir Tag für Tag Hunderte von Malen begegnen, die wir aber so oft falsch verstehen oder gar nicht wahrnehmen. Seit Darwins *Der Ausdruck der Gemütsbewegungen bei den Menschen und den Tieren* hat es kein derart breit angelegtes und einsichtsreiches Buch mehr zu diesem Thema gegeben. « Oliver Sacks

2004, ca. 340 S., 100 Abb., geb.
€ 24,95; ISBN 3-8274-1494-6

» Der *Gehirn-Knigge* für Lebenskünstler und Unangepasste



NEU!

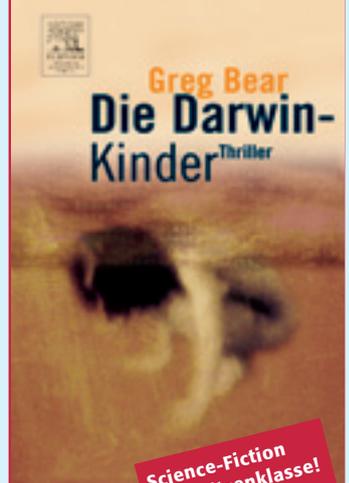
Wolfgang Seidel

Emotionale Kompetenz

Emotionale Intelligenz und die Lebenskunst im Umgang mit sich selbst und anderen sind das Thema dieses Buches. Es bietet – mehr als 200 Jahre nach Adolph Knigges Lebensregeln „Über den Umgang mit Menschen“ – überraschende wissenschaftliche Einsichten in zwischenmenschliches Verhalten in unserer modernen Welt. Bei der Lektüre überprüft man unweigerlich das eigene Verhalten, und findet überragend praktische Lebensregeln, um die eigene Lebensqualität und die der Mitmenschen nachhaltig zu verbessern.

2004, 352 S., geb.
€ 29,95, ISBN 3-8274-1541-1

Die beklemmende Fortsetzung von „Das Darwin-Virus“



Science-Fiction der Spitzenklasse!

Greg Bear

Die Darwin-Kinder

In *Das Darwin-Virus* zeichnete Greg Bear das erschreckende Bild einer Menschheit, die vor einem radikalen Evolutionssprung steht, welcher die Spezies Mensch für immer verändert. In *Die Darwin-Kinder* spinnt Bear seine provokante Geschichte der menschlichen Rasse weiter. Diese geht einer ungewissen Zukunft entgegen, in der das „Survival of the Fittest“ eine neue Dimension annimmt.

2004, 522 S., geb.
€ 24,95, ISBN 3-8274-1484-9

» In *Die Darwin-Kinder* wagt sich Bear tief in Gefilde vor, vor denen die meisten Wissenschaftler zurückschrecken würden. In diesem sorgfältig recherchierten Roman markiert die Grenzlinie der empirischen Wissenschaft zugleich die Schwelle der Fantasie und den Beginn unserer evolutionären Zukunft ... Bear hat einen fesselnden Evolutionsthiller geschrieben ..., der die Grenzen der Wissenschaft ausreizt – genau das, was Science-Fiction tun sollte. « The Guardian zur englischen Originalausgabe.

Dazu: Greg Bear,
Das Darwin-Virus
2001, 568 S., geb.
€ 24,95, ISBN 3-8274-1089-4

Bitte kopieren und faxen an: 07071/935393

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

<input type="checkbox"/> Die Darwin-Kinder	3-8274-1484-9	24,95
<input type="checkbox"/> Das Darwin-Virus	3-8274-1089-4	24,95
<input type="checkbox"/> Gefühle lesen	3-8274-1494-6	24,95
<input type="checkbox"/> Emotionale Kompetenz	3-8274-1541-1	29,95
<input type="checkbox"/> Selbstbestimmen	3-8274-1489-X	29,95
<input type="checkbox"/> Wie das Gehirn denkt	3-8274-1535-7	9,95

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

g&g3/04

Absender:

Name / Vorname

Straße

PLZ / Ort

E-Mail-Adresse

Datum / Unterschrift

» Ausführliche Infos unter www.elsevier-deutschland.de «



ELSEVIER
SPEKTRUM
AKADEMISCHER
VERLAG

Bestellen können Sie » telefonisch 07071/935369 » per Fax: 07071/935393 » per Mail bestellung@elsevier-deutschland.de

Sämtliche Preise enthalten 7 % MwSt. und verstehen sich zzgl. Versandkosten (im Inland: € 3,50 pro Lieferung)

Psychosozialer Stress verändert das Gehirn

Eberhard Fuchs und Gabriele Flügge

Zusammenfassung

Psychosozialer Stress kann zu zentralnervösen Erkrankungen wie Depressionen führen. Zum Verständnis von Prozessen, die während der Entwicklung einer depressiven Erkrankung im Gehirn ablaufen, können tierexperimentelle Untersuchungen beitragen, da sie detaillierte neurostrukturelle und molekulare Analysen erlauben. Unsere Untersuchungen zeigen, dass man an Tupaia neurobiologische Mechanismen untersuchen kann, die möglicherweise bei depressiven Erkrankungen auftreten. Während mehrwöchiger Perioden mit täglichem psychosozialen Stress entwickeln männliche Tupaia ein depressives Syndrom mit Hyperaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren Achse, Gewichtsverlust, Schlafstörungen und reduzierter motorischer Aktivität. In den Gehirnen der psychosozial belasteten Tiere haben wir verschiedene molekulare und strukturelle Veränderungen beobachtet, beispielsweise eine Hochregulation von α_2 -Adrenozeptoren, einen Rückgang der Zahl der Verzweigungen von Dendriten der Pyramidenneurone im Hippocampus, eine verminderte Neurogenese rate und eine Reduktion des Volumens der Hippocampusformation. Es wird vermutet, dass diese Veränderungen zum Krankheitsbild von Depressionen beitragen und dass Antidepressiva ihnen entgegen wirken. Um diese Annahmen zu überprüfen, haben wir psychosozial belastete Tupaia mit verschiedenen Antidepressiva behandelt. Es zeigte sich, dass Antidepressiva die Konzentrationen bestimmter Metaboliten im Gehirn, die Neubildung von Nervenzellen im Gyrus dentatus und das Volumen der Hippocampusformation normalisieren. Unsere Befunde unterstützen neuere Theorien, nach denen affektive Störungen mit eingeschränkter neuronaler Plastizität zusammenhängen. Der Nachweis der Wiederherstellung plastischer Eigenschaften durch Antidepressiva ist ein wichtiger Schritt zum Verständnis der Erkrankung.

Abstract

Psychosocial stress leaves traces in the brain.

Psychosocial stress is known to be involved in the etiology of central nervous disorders such as depression. In recent years we have validated an animal model that uses chronic psychosocial stress to induce central nervous and neuroendocrine changes similar to those occurring in the course of a depressive disorder in humans. During periods of daily social conflict, male tree shrews (*Tupaia belangeri*) develop symptoms that are similar to those observed in depressed patients, e.g. persistent hyperactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, weight loss, disturbances in sleeping patterns and reduced motor activity. Some of these parameters can be re-normalized by antidepressants which supports the view that the tree shrew psychosocial stress paradigm is a valid model for depressive disorders. We observed molecular and structural changes in the brains of socially stressed animals, such as upregulation of α_2 -adrenoceptors after a prolonged chronic stress period, a retraction of apical dendrites of hippocampal pyramidal neurons, reduced neurogenesis and a decrease in hippocampal volume. Such changes probably contribute to the pathophysiology of depression, and the antidepressant induced processes that reverse these changes may be those that result in the beneficial therapeutic actions of the drugs. Therefore, we investigated the effects of different antidepressant drugs in the tree shrew chronic psychosocial stress model. The stress-induced changes were prevented by simultaneous administration of antidepressants yielding normalization in levels of certain brain metabolites, in proliferation rate of granule cells in the dentate gyrus and in volume of the hippocampal formation. These findings provide experimental evidence for recent theories that impairments of neuronal viability and neuroplasticity might contribute to mood disorders and that antidepressants are potential stimulators for neural resilience.

Key words: Tree shrew, depression, neuronal remodelling, α_2 -adrenoceptors

Einleitung

Traumatische Erlebnisse, Verlust einer nahestehenden Person, fortdauernder Ärger am Arbeitsplatz oder finanzielle Probleme sind für viele Menschen starke psychische Belastungen, die heute allgemein als „Stress“ bezeichnet werden. Epidemiologische Studien der letzten Jahre wiesen auf eine kausale Beziehung zwischen solchen belastenden Lebensereignissen und dem Auftreten depressiver Erkrankungen hin (Paykel 2001). Obwohl die Zahlen zwischen den verschiedenen Untersuchungen variieren, kann man davon ausgehen, dass ungefähr jeder Zehnte einmal oder mehrmals im Leben eine depressive Erkrankung erleidet (Judd 1995). Trotz intensivster Bemühungen konnte die Pathophysiologie depressiver Erkrankungen bisher jedoch nicht vollständig aufgeklärt werden. Auch ist nicht ganz klar, wie die gängigen und erfolgreich eingesetzten Antidepressiva ihre positive Wirkung entfalten und damit zur Linderung depressiver Symptomatik führen.

Um die durch belastende Situationen ausgelösten Vorgänge im Zentralnervensystem auf zellulärer und molekularer Ebene besser zu verstehen und darüber möglicherweise neue Behandlungsstrategien zu entwickeln, sind Untersuchungen an aussagekräftigen Tiermodellen notwendig, in denen weitgehend natürliche, der Situation beim Menschen entsprechende Stress-Paradigmen verwendet werden. Eins dieser Tiermodelle, in dem Stress von einer starken psychologischen Komponente begleitet wird, ist das Tupaia-Modell. Der vorliegende Artikel fasst strukturelle und molekulare Veränderungen zusammen, die durch psychosozialen Stress im Gehirn von Tupaia induziert werden. Darüber hinaus zeigen wir, wie tierexperimentelle Untersuchungen zum Verständnis der Pathomechanismen depressiver Erkrankungen beitragen und helfen können, unser Wissen über die Wirkungsweise von Antidepressiva zu erweitern.

Tupaia als Modell für psychosozialen Stress

Tupaia gehören zur zoologischen Familie der Tupaiidae (Abbildung 1). Die englische Bezeichnung *tree shrew* und der deutsche Name *Spitzhörnchen* sind irreführend, denn die Tiere sind entwicklungsbiologisch nicht mit der Gruppe der Hörnchen (*Sciuridae*) verwandt. Aufgrund anatomischer Studien wurden Tupaia zunächst als primitive Urahnen der Primaten betrachtet. Später mehrten sich jedoch Befunde über nicht primatenspezifische



Merkmale, so dass man heute nur noch von einer sehr entfernten Verwandtschaft mit den Primaten spricht. Taxonomisch werden Tupaia nun als „ursprüngliche, plazentale Säugetiere“ in der Ordnung *Scandentia* zusammengefasst (Thenius 1988).

Die tagaktiven Tupaia sind in Süd- und Südostasien weit verbreitet. Wie Freilandstudien zeigten, bewohnen männliche und weibliche Tiere ineinander übergehende Territorien, in denen sie in lockerer Paarbeziehung leben. Die Männchen verteidigen diese Reviere heftig gegen eindringende Artgenossen. Für unsere Untersuchungen machen wir uns ihr ausgeprägtes Territorialver-

halten zunutze, indem unter kontrollierten Laborbedingungen soziale Konfliktsituationen ausgelöst werden, die eine starke psychologische Komponente haben. Setzt man ein Männchen in den Käfig eines Artgenossen, wird der Eindringling innerhalb kurzer Zeit angegriffen und unterworfen. Werden dann beide Tiere durch ein Gitter voneinander getrennt, so dass das unterlegene Männchen den überlegenen Artgenossen zwar immer noch sieht, aber nicht mehr attackiert werden kann, sind beim Verlierer typische Stresssymptome zu beobachten. Trennt man die Tiere jedoch nach der Auseinandersetzung mit einer undurchsichtigen Wand, so treten beim Verlierer keinerlei Stressreaktionen auf. Dies deutet daraufhin, dass die optische Anwesenheit des dominanten Tieres als entscheidender Stressfaktor wirkt. Man kann die Tiere über mehrere Tage bis zu Wochen in der Versuchssituation halten, und das Trenngitter täglich für eine kurze Zeit öffnen. Dadurch entsteht für das unterlegene Tier eine Situation der Unvorhersehbarkeit und Unkontrollierbarkeit, beides Faktoren, die auch beim Menschen als starke psychische Belastung empfunden werden, daher auch der Terminus *psychosozialer*

Stress (Raab 1971). Als Folge der psychosozialen Belastung entwickelt sich bei Tupaia ein *depressives Syndrom* mit chronisch erhöhter Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren (HHN) Achse, Gewichtsverlust, Schlafstörungen, verminderter Motorik und Apathie (Fuchs und Flügge 2002). Diese stressinduzierten Veränderungen beim unterlegenen Tier werden nicht durch die physische Anstrengung in den Kämpfen verursacht, sondern sind das Ergebnis eines individuellen zentralnervösen Interpretationsprozesses, der primär auf der visuellen Präsenz des dominanten Artgenossen beruht.



Abb. 1: Spitzhörnchen (*Tupaia belangeri*). Das Deutsche Primatenzentrum in Göttingen unterhält eine Kolonie von *Tupaia belangeri*. Mit etwa 160 Tieren ist dies eine der größten Kolonien weltweit.

halten zunutze, indem unter kontrollierten Laborbedingungen soziale Konfliktsituationen ausgelöst werden, die eine starke psychologische Komponente haben. Setzt man ein Männchen in den Käfig eines Artgenossen, wird der Eindringling innerhalb kurzer Zeit angegriffen und unterworfen. Werden dann beide Tiere durch ein Gitter voneinander getrennt, so dass das unterlegene Männchen den überlegenen Artgenossen zwar immer noch sieht, aber nicht mehr attackiert werden kann, sind beim Verlierer typische Stresssymptome zu beobachten. Trennt man die Tiere jedoch nach der Auseinandersetzung mit einer undurchsichtigen Wand, so treten beim Verlierer keinerlei Stressreaktionen auf. Dies deutet daraufhin, dass die optische Anwesenheit des dominanten Tieres als entscheidender Stressfaktor wirkt. Man kann die Tiere über mehrere Tage bis zu Wochen in der Versuchssituation halten, und das Trenngitter täglich für eine kurze Zeit öffnen. Dadurch entsteht für das unterlegene Tier eine Situation der Unvorhersehbarkeit und Unkontrollierbarkeit, beides Faktoren, die auch beim Menschen als starke psychische Belastung empfunden werden, daher auch der Terminus *psychosozialer*

Psychosozialer Stress bewirkt eine Dysfunktion monoaminerger Systeme

Die Auswirkungen *akuter* Belastungen auf zentralnervöse Prozesse wurden in der Vergangenheit intensiv untersucht. Dagegen wissen wir nur wenig über die zentralnervösen Anpassungsvorgänge, die bei *chronischer* psychosozialer Belastung auftreten.

Stress führt zur Aktivierung des noradrenergen Systems im Gehirn (Stanford 1995) mit der Folge, dass Nervenzellen in Hirnregionen mit noradrenerger Innervation erhöhten Mengen von Noradrenalin und seinen Metaboliten ausgesetzt sind. Noradrenalin vermittelt seine zelluläre Wirkung über adrenerge Rezeptoren, wobei α_2 -Adrenozeptoren eine hemmende, β -Adrenozeptoren aber eine stimulierende Wirkung auf die Aktivität des Neurons haben. Bei akutem Stress sind die Zielneurone nur vorübergehend, bei chronischem Stress aber anhaltend hohen Konzentrationen von Noradrenalin ausgesetzt. Hierauf reagieren die Neurone, indem sie die Zahl ihrer Rezeptoren reduzieren. Eine solche *receptor downregulation* kann auch *in vitro* bei starker Stimulation adrenerger Rezeptoren durch Agoni-

sten beobachtet werden (Flügge et al. 2004). Im Gehirn von Tupaia war nach drei Wochen unter psychosozialen Stress die Zahl der Bindungsstellen für den α_2 -Adrenozeptor-Liganden ^3H -Rauwolszin in Hirnregionen, welche emotionales Erleben (Amygdala, präfrontaler Kortex), Verhalten (periaqueduktisches Grau) bzw. autonome Funktionen steuern (Hypothalamus, dorsomediale Medulla oblongata), reduziert (Flügge et al. 2004). Es stellte sich aber heraus, dass diese *downregulation* der α_2 -Adrenozeptoren in den verschiedenen Hirnregionen zu unterschiedlichen Zeiten nach Beginn der Stressexposition stattfindet und nicht anhält. Im präfrontalen Kortex nahm die Zahl der Rezeptorbindungsstellen um Tag 10 nach Stressbeginn ab, normalisierte sich dann aber wieder und stieg schließlich nach etwa vier Wochen an (Flügge et al. 2004). Im Locus coeruleus dagegen war die Zahl der Rezeptorbindungsstellen bereits zwei Tage nach Beginn der Stressexposition reduziert, normalisierte sich im Laufe einer vierwöchigen Stressperiode, um während einer darauffolgenden Erholungsphase ebenfalls anzusteigen (Flügge et al. 2003). Die Ursache für die *upregulation* der α_2 -Adrenozeptoren nach langen Stressperioden ist vermutlich eine geringe Konzentration an Noradrenalin, d.h. chronischer Stress führt letztlich zu einem Mangel an Noradrenalin im Gehirn (Abbildung 2). Insgesamt stützen die Befunde die „Noradrenalin-Defizit-Hypothese“, nach der depressive Erkrankungen mit einem Mangel an Noradrenalin im Gehirn zusammenhängen.

Ein charakteristisches Symptom bei Depressionen sind mangelnde Motivation und Lustlosigkeit (Anhedonie), die mit Defiziten im dopaminergen System in Verbindung gebracht werden. Daher sollten in einem Tiermodell für Depressionen auch Veränderungen im dopaminergen System festzustellen sein. Dies ist tatsächlich der Fall. Bei Tupaia war nach psychosozialen Stress von vier Wochen die Bindung des Liganden ^3H -WIN 35.428 für den Dopamintransporter im Striatum reduziert (Isovich et al. 2000) und die Zahl der D2-Rezeptor-Bindungsstellen im Hippocampus erhöht (Flügge et al. 2004). Beide Befunde sprechen für reduzierte Dopaminkonzentrationen.

Chronische psychosoziale Belastung führt zu strukturellen Veränderungen im Hippocampus

Nach Herman und Cullinan (1997) ist psychische Belastung ein prozessiver Stressor, der verschiedene limbische und kortikale

Systeme aktiviert. Auf der neuroendokrinen Ebene kommt dem HHN-System mit den Glucocorticoidhormonen Cortisol und Corticosteron als Effektoren eine zentrale Rolle zu (Holsboer 2001). Erhöhte Konzentrationen dieser Corticosteroide im Blut gelten als Indikator für die individuelle Belastung und finden sich auch bei vielen depressiven Patienten. Nach unserem heutigen Wissensstand sind Cortisol (z.B. bei Mensch und Tupaia) beziehungsweise Corticosteron (z.B. bei Ratten) mit verantwortlich für sowohl erfolgreiche als auch nicht erfolgreiche Anpassungsprozesse im Gehirn in Reaktion auf Stress. Damit spielen diese Hormone eine scheinbar paradoxe Rolle, da sie einerseits für den Stoffwechsel der Zellen des Organismus unerlässlich sind, andererseits bei chronisch erhöhten Konzentrationen im Blut negative Auswirkungen auf die Zellen im Gehirn haben können. Von allen Regionen des Gehirns hat die Hippocampus-Formation die höchste Dichte von Rezeptoren für Cortisol/ Corticosteron. Diese Hirnregion spielt nicht nur eine bedeutende Rolle bei Lern- und Gedächtnisvorgängen und bei der räumlichen Orientierung, sondern ist als Teil des limbischen Systems auch wichtig für die Integration emotionaler Prozesse.

Glucocorticoide passieren als lipophile Substanzen leicht die Blut-Hirn-Schranke und steuern in ihren Zielzellen die Expression zahlreicher Gene, indem sie als Transkriptionsfaktoren fungieren (*genomische Wirkung*). Darüber hinaus verursachen sie „Membraneffekte“, d.h. sie modulieren die elektrische Aktivität von Neuronen (Joëls 2001) und sind mitverantwortlich für morphologische Veränderungen in Neuronenverbänden (McEwen 1999). Schon vor etwas mehr als 50 Jahren gab es Befunde, wonach ein chronischer Überschuss von Cortisol die Morphologie von Neuronen modifiziert (Castor et al. 1951; aus der Mühlen und Ockenfels 1969). Diese Ergebnisse gerieten für einige Jahre in Vergessenheit, erlangten dann aber vor etwa 20 Jahren u.a. durch die Arbeiten von Bruce McEwen und Robert Sapolsky neue Aktualität. In den initialen Experimenten wurden Ratten über mehrere Wochen täglich mit Corticosteron behandelt bzw. über drei Wochen täglich für mehrere Stunden in einer Röhre immobilisiert. In beiden Experimenten wurde eine deutliche Abnahme der apikalen Dendriten von Pyramidenneuronen ausschließlich in der Hippocampus-Region CA3 beobachtet (McEwen 1999). Unklar blieb aber, ob auch *psychischer Stress* zu solchen Veränderungen führt. Unsere Arbeiten an Tupaia haben gezeigt, dass chronische psychosoziale Be-

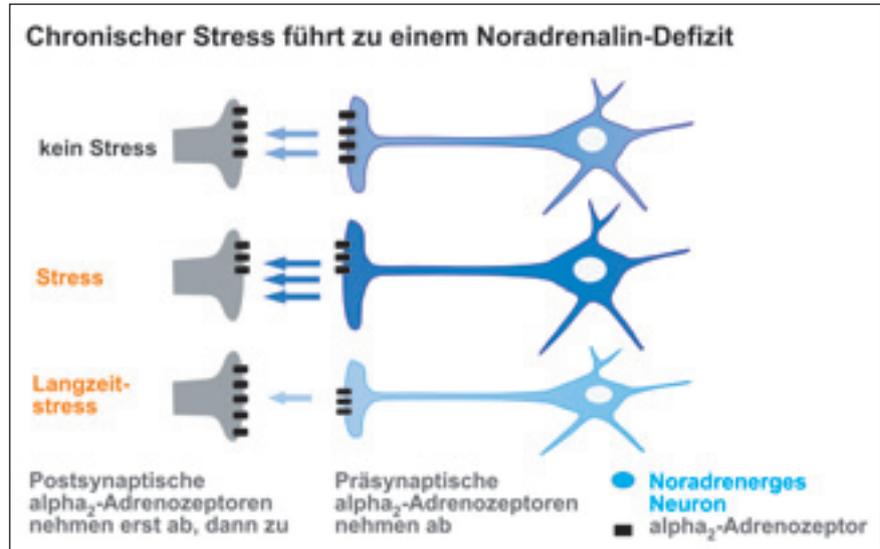


Abb. 2: Stress führt zu einer Aktivierung des noradrenergen Systems. Infolge des Anstiegs der Noradrenalin-Konzentration nimmt die Zahl der α_2 -Adrenozeptoren in den Projektionsgebieten der noradrenergen Neurone ab. Diese *receptor downregulation* erfolgt sowohl auf präsynaptischer Seite (also an den noradrenergen Terminalien) als auch auf postsynaptischer Seite (z.B. glutamaterge Neurone). Wegen der präsynaptischen *downregulation* ist die negative Rückkopplungshemmung der Noradrenalin-ausschüttung gestört; dies erklärt die persistierende Hyperaktivität noradrenerger Neurone während Stress. Nach Langzeitstress sind die Neurone nicht mehr in der Lage, „ausreichend“ Noradrenalin zu produzieren, so dass die Menge dieses Neurotransmitters sinkt. In der Folge werden die postsynaptischen α_2 -Adrenozeptoren herauf reguliert. Erhöhte Zahlen dieser Rezeptoren sind sowohl im Gehirn von Tupaia (nach sechs oder mehr Wochen Stressexposition) als auch im Kortex von depressiven Patienten nachgewiesen worden (Flügge et al. 2003). Diese *upregulation* der α_2 -Adrenozeptoren unterstützt die „Noradrenalin-Defizit-Hypothese“, nach der depressive Erkrankungen durch einen Mangel an Noradrenalin im Gehirn verursacht werden.

lastung ebenfalls ein „Schrumpfen“ der apikalen Dendriten in der Region CA3 bewirkt (Abbildung 3; Magariños et al. 1996). Auch in den Zellkernen der Pyramidenneurone waren strukturelle Veränderungen zu beobachten (Fuchs und Flügge 2002). Diese Veränderungen traten nur bei psychosozial gestressten Tieren auf, während dominante Tiere nicht betroffen waren.

Nach traditioneller Vorstellung gibt es im Zentralnervensystem erwachsener höherer Wirbeltiere einschließlich des Menschen keine Neurogenese und keine Regeneration von Neuronen. Dieses Dogma der Neurobiologie gründete sich u.a. auf die Arbeiten des spanischen Neuroanatomen Santiago Ramón y Cajal, der in einem umfassenden Werk mit dem Titel „Degeneration and Regeneration of the Nervous System“ den Satz schrieb: „In adult centres the nervous paths are something fixed, ended, immutable. Everything may die, nothing may be regenerated“ (Cajal 1928). Vor etwa 40 Jahren erschien dann eine Veröffentlichung, in der an Nagetieren gezeigt wurde, dass auch im Gehirn erwachsener Säugetiere Neurogenese stattfindet (Altman 1962). Dieser Arbeit wurde

jedoch über viele Jahre keine besondere Bedeutung zugemessen, möglicherweise weil die verwendete Methode der Autoradiographie mit tritiiertem Thymidin auf zellulärer Ebene sehr aufwendig und störanfällig ist. Mit der Entwicklung von Antikörpern gegen das Thymidinanalogon 5-Bromo-2'-deoxyuridin (BrdU) zum Nachweis sich teilender Zellen wurde eine Entwicklung angestoßen, die unser Wissen über strukturelle Plastizität des ausdifferenzierten Zentralnervensystems grundlegend verändert hat. BrdU wird während der S-Phase sich teilender Zellen in die DNA eingebaut und kann in einsträngiger DNA immunocytochemisch nachgewiesen werden (Nowakowski et al. 1989).

In den vergangenen Jahren konnte Neurogenese im adulten, ausdifferenzierten Gehirn verschiedener Säugetierarten einschließlich nicht-humaner Primaten und des Menschen nachgewiesen werden. Eine Region in der ständig Neurone neu gebildet werden, ist die subgranuläre Zone im Gyrus dentatus, eines Teils der Hippocampus-Formation. Wie wir heute wissen, kontrolliert eine große Palette von Faktoren die Neurogenerationsrate beziehungsweise die Lebensdauer

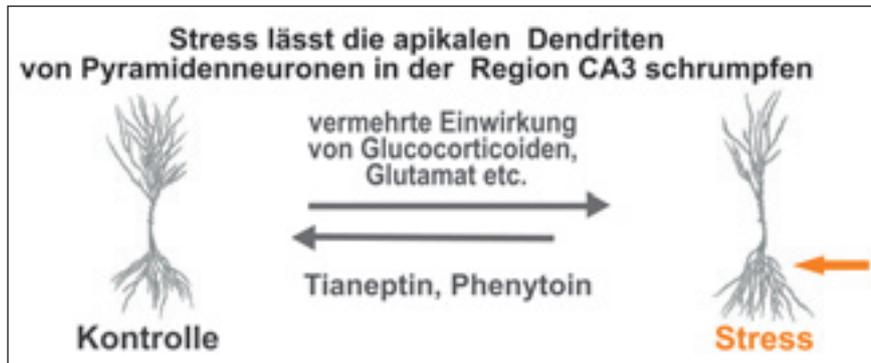


Abb. 3: Chronischer psychosozialer Stress führt zu einer „Schrumpfung“ der Dendriten von Pyramidenneuronen in der Region CA 3 des Hippocampus. Tupaia-Männchen wurden über vier Wochen psychosozialen Stress ausgesetzt. Die Morphologie von Neuronen im Hippocampus wurde durch Versilberung nach Golgi dargestellt (Magariños et al. 1996). Chronischer psychosozialer Stress reduzierte die Länge der apikalen Dendriten und die Zahl ihrer Verzweigungen (Pfeil). Die basalen Dendriten waren nicht verändert. Das Antidepressivum Tianeptin und das Antiepileptikum Phenytoin, welches die Wirkung exzitatorischer Aminosäuren hemmt, verhinderte die stressinduzierte Retraktion der apikalen Dendriten, was darauf hinweist, dass u.a. Glutamat bei der Dendritenretraktion eine Rolle spielt. Experimente an Ratten mit dem Steroidsynthese-Inhibitor Cyanoketon sprechen für einen Einfluss von Glucocorticoiden, deren Konzentration unter Stress erhöht ist (McEwen 1999).

von Neuronen im Gyrus dentatus. Als neurochemische Stimulatoren beziehungsweise Inhibitoren der Neurogenese wurden verschiedene Neurotransmitter, Wachstumsfaktoren und Hormone identifiziert, wobei hohe Konzentrationen an Glucocorticoiden die Neurogenese hemmen (Kuhn et al. 2001). Daher war es naheliegend, die Neubildungsrate von Nervenzellen im Gyrus dentatus von psychosozial belasteten Tupaia zu untersuchen, bei denen der Glucocorticoidspiegel konstant erhöht ist. Chronische psychosoziale Belastung führt bei sozial unterlegenen Tupaia zu einer deutlichen Abnahme der Neubildung von Nervenzellen in diesem Hirngebiet (Abbildung 4; Czéh et al. 2001). Neurogenese ist also, neben der Abnahme der dendritischen Verzweigungen von Pyramidenneuronen, der zweite Parameter, mit dem nachgewiesen wurde, dass psychosozialer Stress Veränderungen in Neuronenverbänden in einem Hirngebiet hervorruft, welches eine wichtige Rolle bei Lern- und Gedächtnisvorgängen spielt. Diese Befunde stützen neuere Vorstellungen über die Entstehung depressiver Erkrankungen. Nach diesem Konzept laufen am Anfang der Entwicklung einer Depression im Gehirn Prozesse ab, die eine Form *emotionalen Lernens* darstellen und die, wie andere Lernprozesse auch, auf neuronaler Plastizität basieren. Bei entsprechender individueller Disposition bzw. unter chronischer Belastung kann es dann zu persistierenden Veränderungen kommen, denen das System nicht eigenständig entgegenwirken kann, sondern

die eine Therapie erfordern, z.B. mit Antidepressiva.

So unbestritten heute die Stress-induzierten morphologischen Veränderungen auf neuronaler Ebene sind, so kontrovers wird auch die Frage diskutiert, ob chronischer Stress zu einem Verlust von Pyramidenneuronen im Hippocampus führt. Eine Abnahme des Volumens dieser Hirnregion ist für depressive Patienten beschrieben (Sheline et al. 2003) und wurde von einigen Autoren als Ursache für verringerte kognitive Leistungen angesehen (Sapolsky 1996). Die Hypothese, dass chronischer Stress zum Absterben von Neuronen im Hippocampus führt, ist jedoch in letzter Zeit durch die Anwendung stereologischer Methoden bei der Bestimmung von Neuronenzahlen zunehmend in Frage gestellt worden (z.B. Sousa et al. 1998). Unsere Untersuchungen an Tupaia zeigten, dass nach vierwöchiger psychosozialer Belastung zwar das Hippocampusvolumen reduziert war (Czéh et al. 2001), die Zahl der Pyramidenneurone jedoch nicht abgenommen hatte (Keuker et al. 2001).

Antidepressiva als Stimulatoren neuroplastischer Prozesse

Neue Theorien zur Pathophysiologie depressiver Erkrankungen gehen von einer verminderten Neuroplastizität bei depressiven Patienten aus (D'Sa und Duman 2002). Der Nachweis der Wiederherstellung plastischer Eigenschaften durch Antidepressiva wäre ein

wichtiger Schritt in Richtung des Verständnisses der Erkrankung und für die Entwicklung neuer Behandlungsstrategien.

Ob der Begriff „depressiv“ für sozial belastete Tupaia zutreffend ist oder nur einen subjektiven Eindruck aus anthropozentrischer Sicht bezeichnet, war zunächst unklar. Daher behandelten wir während eines Stress-experiments die unterlegenen Tiere mit dem trizyklischen Antidepressivum Clomipramin. Um eine möglichst ähnliche Situation wie bei Patienten zu erreichen, erhielten die Tiere nach einer Stressperiode von einer Woche Clomipramin über mehrere Wochen täglich oral verabreicht, wobei die tägliche Stressexposition fortgesetzt wurde. Unter dieser Behandlung normalisierte sich das Verhalten der belasteten Tupaia innerhalb von zwei bis drei Wochen fast vollständig; gleiches galt für die Konzentration des „Stresshormons“ Cortisol. Ein weiterer interessanter Befund war, dass die Wirkung des Antidepressivums nicht sofort, sondern mit einer gewissen Verzögerung eintrat, d.h. zeitlich ähnlich verlief wie bei Patienten. Zudem wissen wir, dass bei Tupaia der Stoffwechsel von Antidepressiva denjenigen des Menschen vergleichbar ist. Da die Symptome chronisch psychosozial belasteter Tupaia denen depressiver Patienten ähneln und die Behandlung der Tiere mit Antidepressiva zu einer deutlichen Verbesserung des Allgemeinzustands führt, stellen Tupaia ein valides Modell für Untersuchungen der neurobiologischen Grundlagen depressiver Erkrankungen dar (Fuchs und Flügge 2002; van Kampen et al. 2002).

In einer Reihe von Untersuchungen mit verschiedenen Antidepressiva (Tianeptin, Clomipramin, Substanz P-Rezeptor Antagonisten) konnten wir nachweisen, dass diese Verbindungen ausschließlich bei psychosozial belasteten Tieren die Abnahme der Neurogenerationsrate im Gyrus dentatus kompensieren, d.h. die eingeschränkte Plastizität in einem wichtigen Teil des Gehirns wieder herstellen können. Bei unbelasteten Tieren hatte die Substanz keinen Effekt auf die Neurogenerationsrate. Nicht nur die Neubildung der Nervenzellen sondern auch das Volumen des Hippocampus und die Konzentrationen einiger Metaboliten normalisierten sich in Folge der Behandlung (Czéh et al. 2000; van der Hart et al. 2002). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass verschiedene Klassen von Antidepressiva möglicherweise zu einem ähnlichen, wenn nicht gar identischen Endergebnis führen, obwohl sie ihre zellulären Effekte über unterschiedliche molekulare Faktoren vermitteln (z.B. Transportermoleküle, Rezeptoren).

Stress, Antidepressiva und Genregulation

In einer früheren Studie stellten wir fest, dass lang andauernde psychosoziale Belastung in den Zellkernen der Pyramidenneurone im Hippocampus zu vermehrter Bildung von Heterochromatin führt, einer stark kondensierten Form des Chromatins, in der wenig Transkription stattfindet, also viele Gene „abgeschaltet“ sind (Fuchs und Flügge

Schlussbemerkungen

Ziel der biologischen Stressforschung ist, die grundlegenden Mechanismen belastungsinduzierter emotionaler Reaktionen und ihre Auswirkungen auf Gehirn und Verhalten aufzuklären. Im Gegensatz zu den Untersuchungen an Menschen erlauben tiereperimentelle Studien eine genaue Kontrolle potentieller Störvariablen. Unsere Untersuchungen zeigen, dass an Tupaia zentralnervöse Mecha-

Magariños, A.M., McEwen, B.S., Flügge, G. und Fuchs, E. (1996) Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J. Neurosci.* 16:3534-3540.
 McEwen, B.S. (1999) Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22:105-122.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagungen

Den derzeitigen und ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe sei an dieser Stelle gedankt. Viele der Arbeiten sind nur durch Kooperationen mit einer Reihe in- und ausländischer Kollegen möglich geworden. Unsere Arbeiten wurden gefördert von der DFG, dem DAAD, dem Institut Recherche International Servier und den Merck, Sharp and Dohme Research Laboratories.

Kurzbiographien

Prof. Dr. Eberhard Fuchs: studierte Biologie und Chemie in München. Nach seiner Promotion bei Prof. H. Autrum in München wechselte er zu Prof. D. von Holst an den Lehrstuhl Tierphysiologie, Universität Bayreuth. 1982 kam er an das Deutsche Primatenzentrum in Göttingen. Dort leitet er das Labor für Klinische Neurobiologie und ist seit April 2003 Professor für Neurobiologie am Zentrum Neurologische Medizin, Bereich Humanmedizin der Georg-August-Universität Göttingen. Im Jahr 2002 wurde er mit dem Wissenschaftspreis des Stifterverbandes für die Deutsche Wissenschaft ausgezeichnet.

PD Dr. Gabriele Flügge: studierte Biologie in Tübingen und Köln. Nach ihrer Promotion bei Prof. H. G. Zachau arbeitete sie in Göttingen zunächst am Max Planck Institut für biophysikalische Chemie und wechselte dann an das Deutsche Primatenzentrum (Labor für Klinische Neurobiologie). Im Jahr 2002 habilitierte sie sich im Fachbereich Humanmedizin der Georg-August-Universität Göttingen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Eberhard Fuchs
PD Dr. Gabriele Flügge
Labor für Klinische Neurobiologie
Deutsches Primatenzentrum
Kellnerweg 4, D-37077 Göttingen
Tel.: ++49 (0) 551 38 51 130 /133
Fax: ++49 (0) 551 38 51 307
e-mail: efuchs@gwdg.de
gfluegg@gwdg.de

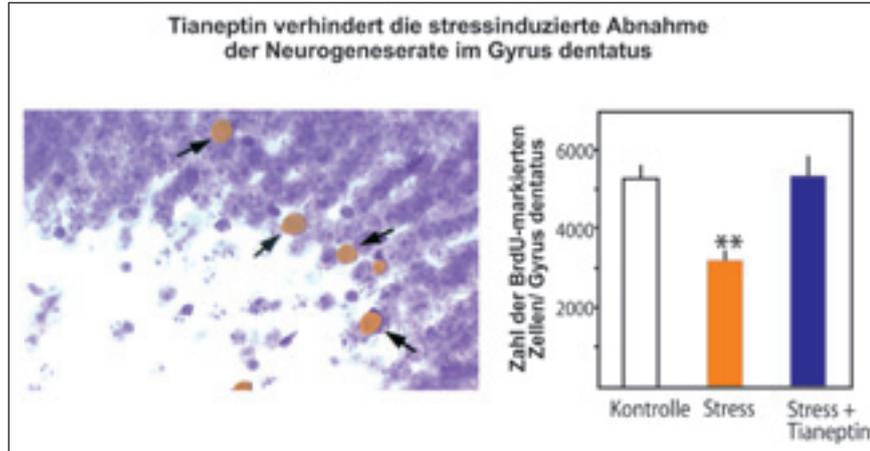


Abb. 4: Neurogenese, d.h. die Neubildung von Neuronen, kann durch die BrdU-Methode nachgewiesen werden. Tiere werden mit dem Thymidin-Analog BrdU behandelt, welches später immunocytochemisch mit spezifischen Antikörpern in Gehirnschnitten nachgewiesen wird. Die Marker-Substanz BrdU findet sich ausschließlich in neu gebildeten Zellen (Pfeile links im Bild). Chronischer psychosozialer Stress bei Tupaia reduziert die Zahl der BrdU-markierten Zellen im Gyrus dentatus. Durch Behandlung mit dem Antidepressivum Tianeptin wird die stressinduzierte Abnahme der Neurogeneserate kompensiert (Czéh et al. 2001).

2002). Um stressregulierte Gene nachzuweisen, stehen heute geeignete molekularbiologische Methoden zur Verfügung. Eine davon ist die Klonierung differentiell exprimierter Gene nach Subtraktionshybridisierung.

In einem Kooperationsprojekt isolierte Julieta Alfonso die mRNA aus den Hippocampi von psychosozial belasteten und von unbelasteten Tupaia, führte damit die Subtraktionshybridisierung durch, stellte cDNA her und klonierte diese (Alfonso et al. 2004). Bei diesen Untersuchungen stellte sich u.a. heraus, dass die Transkription des *Nerve Growth Factor*, der Kinase CLK1 und des G-Potein alpha-q durch psychosozialen Stress reduziert wird, und dass das Antidepressivum Clomipramin die Expression der Kinase CLK1 und des G-Potein alpha-q wieder normalisierte, nicht jedoch die Expression des *Nerve Growth Factor*. Bei Kontrolltieren hatte interessanterweise Clomipramin keinen genregulatorischen Einfluss. Diese Befunde stützen die Hypothese, dass Stress zu neuronalen Dedifferenzierungsprozessen führt, die durch Antidepressiva wieder rückgängig gemacht werden können.

nismen untersucht werden können, die der Ätiologie von Psychopathologien wie z.B. depressiven Erkrankungen zugrunde liegen. Damit können wir neue Einblicke in verhaltenssteuernde neurochemische Prozesse gewinnen, unser Wissen zur therapeutischen Wirkungsweise von Antidepressiva erweitern und so möglicherweise auch zu einem besseren Verständnis der Pathomechanismen depressiver Erkrankungen beitragen.

Literatur

Czéh, B., Michaelis, T., Watanabe, T., Frahm, J., de Biurrun, G., van Kampen, M., Bartolomucci and A., Fuchs, E. (2001) Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 98:12796-12801.
 Flügge, G., van Kampen, M. und Mijster, M.J. (2004) Perturbations in brain monoamine systems during stress. *Cell Tissue Res.* 315:1-14.
 Fuchs, E. und Flügge, G. (2002) Social stress in tree shrews: effects on physiology, brain function, and behavior of subordinate individuals. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73:247-258.



Kortikale Kontrolle zielgerichteter Bewegungen

Marc Himmelbach und Hans-Otto Karnath

Zusammenfassung

Um Handbewegungen präzise auf visuelle Ziele zu führen, müssen räumliche Informationen verschiedener Bezugssysteme integriert werden. Die Untersuchung der Verhaltensdefizite von Patienten mit Hirnschädigungen, die Untersuchungen der Hirnaktivität von Gesunden und neurophysiologische Untersuchungen an Affen ermöglichen uns einen Einblick in die Verknüpfung von Sensorik und Motorik für die Ausführung zielgerichteter Bewegungen. Bei Patienten mit parietalen Läsionen kann ein spezifisches Defizit visuell geführter Bewegungen beobachtet werden. Zeige- und Greifbewegungen auf Ziele, die in der visuellen Peripherie lokalisiert sind, weichen erheblich vom Ziel ab. Dieses Fehlverhalten wurde als „Optische Ataxie“ bezeichnet. Die perzeptive Einschätzung von Objektgrößen und das Erkennen von Gegenständen ist dagegen bei Patienten beeinträchtigt, die nach Läsionen inferior temporaler Hirnregionen eine „Visuelle Formagnosie“ aufweisen. Zusammen mit tierexperimentellen Befunden haben diese Beobachtungen wesentlich zu der Vorstellung beigetragen, dass unser Gehirn visuelle Informationen in zwei getrennten Verarbeitungswegen für motorische und perzeptive Prozesse aufbereitet. Ein dorsaler visueller Pfad soll ausgehend vom occipitalen Kortex über posteriore parietale Areale eine handlungsspezifische Informationsverarbeitung leisten, während ein ventraler occipito-temporaler Pfad Informationen für die bewusste Wahrnehmung und Erinnerung verarbeitet. Jüngere Untersuchungen geben Anlass zu einer Neubewertung dieses Modells. Sie zeigen, dass die streng dichotome Vorstellung der visuellen Informationsverarbeitung vermutlich nicht zutreffend ist.

Abstract

Cortical control of goal-directed movements.

Goal-directed hand movements to visual targets require integration of spatial information from different frames of reference. Investigations of patients with brain damage, imaging of brain activity in healthy subjects, and neurophysiological studies in monkeys provide us with insights into the processing of sensorimotor integration. Patients with lesions of the parietal cortex demonstrate a specific deficit of visually guided movements. Pointing and grasping movements to stimuli located in the peripheral visual field of these patients deviate grossly from the target position - a behaviour which has been termed „optic ataxia“. In contrast, perceptual judgements of object size and the identification of objects are essentially deficient in patients with „visual form agnosia“ following lesions of the inferior temporal cortex. These observations in combination with the evidence obtained from animal studies have contributed to the idea of separate pathways processing visual information dedicated to action-related processing on the one hand and perception-related processing on the other. A dorsal visual pathway emanating from the occipital cortex projecting to the posterior parietal cortex is supposed to accomplish action-related information processing, whereas a ventral, occipito-temporal pathway handles information required for conscious perception. Recent investigations suggest modifications of this model. They show that the view of a strict dichotomy of visual information processing might not be valid.

Key words: visuomotor transformation; reaching; grasping; optic ataxia; visual agnosia; humans

Einführung

Eines der einflussreichsten Konzepte jüngerer neurowissenschaftlicher Forschung ist die Vorstellung einer dualen Verarbeitung visueller Information. Infolge einer Reihe

von Läsionsstudien an Primaten formulierten Ungerleider und Mishkin (1982) die Vorstellung einer geteilten Verarbeitung von räumlichen und nicht-räumlichen Informationen von Objekten. Die Autoren beobachteten, dass Affen mit Läsionen des inferior

ren temporalen Kortex deutliche Defizite beim Unterscheiden von Objekten aufgrund ihrer Eigenschaften wie Form und Farbe aufwiesen, während die Beurteilung der Positionen dieser Objekte nicht beeinträchtigt war. Läsionen des posterioren parietalen Kortex führten dagegen zu Störungen eben dieser räumlichen Entscheidungen, während die Wahrnehmung der Objekteigenschaften ungestört war. Ungerleider und Mishkin (1982) folgerten aus diesen Beobachtungen, dass die über das primäre visuelle System aufgenommene Information in zwei anatomisch getrennten Systemen weiterverarbeitet wird. Die Verarbeitung der Position von Objekten erfolgt in einem occipito-parietalen Pfad, der ausgehend von primären und sekundären Strukturen des occipitalen Kortex superiore temporale Areale und den posterioren parietalen Kortex umfasst. Die Identifikation von Objekten aufgrund ihrer nicht-räumlichen Eigenschaften soll dagegen über einen occipito-temporalen Pfad erfolgen, der ebenfalls von V1 und den umgebenden sekundären visuellen Arealen ausgeht und in inferiore temporale Strukturen projiziert (Abbildung 1).

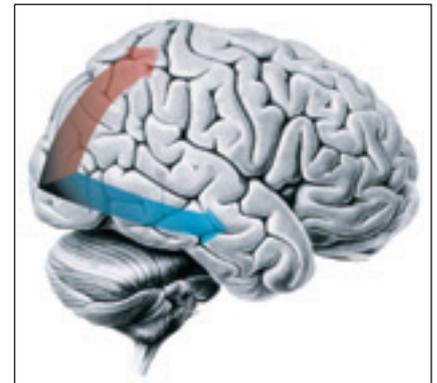


Abb. 1: Dorsaler (rot) und ventraler (blau) Pfad visueller Informationsverarbeitung. Der dorsale Verarbeitungsweg, vom occipitalen zum parietalen Kortex soll der Steuerung visuell geführter motorischer Aktionen dienen. Der ventrale, occipito-temporale Verarbeitungsweg soll dagegen vorrangig Aufgaben der Objekterkennung erfüllen.

Milner und Goodale (1995) modifizierten dieses Modell der visuellen Verarbeitungswege aufgrund ihrer Beobachtungen an Patienten mit Hirnschädigungen. Im Gegensatz zur Unterscheidung zwischen der Verarbeitung räumlicher und nicht-räumlicher Eigenschaften eines Objektes schlugen sie eine Differenzierung zwischen handlungs- und wahrnehmungsorientierter Informationsverarbeitung vor. Handlungsspezifische Infor-

mation soll demnach in dorsalen Strukturen der parieto-occipitalen Übergangsregion und des parietalen Kortex verarbeitet werden. Visuelle Informationen, die dem bewussten Erkennen und Erinnern dienen, vermuten die Autoren dagegen in ventralen Strukturen des occipito-temporalen Übergangsbereiches und des temporalen Kortex.

Im Folgenden werden wir zunächst auf die Beobachtungen an neurologischen Patienten eingehen, die wesentlich zu den Hypothesen von Milner und Goodale (1995) beigetragen haben. Im Anschluss stellen wir neuere Untersuchungen vor, die kritische Punkte der hypothetischen Modelle geprüft haben und zu einer Neubewertung der Vorstellungen einer streng dichotomen visuellen Informationsverarbeitung Anlass geben.

Getrennte Verarbeitung visueller Information: Beobachtungen an neurologischen Patienten

Bálint (1909) und Holmes (1918) untersuchten unabhängig voneinander verschiedene Patienten, die nach bilateralen Schädigungen des parietalen Kortex erstaunliche sensomotorische Defizite aufwiesen. Diese Patienten waren unter anderem nicht mehr in der Lage, gezielt nach Objekten zu greifen oder auf Ziele zu zeigen, die im peripheren Gesichtsfeld dargeboten wurden (Abbildung 2). Die Leistung der Patienten verbesserte sich deutlich, wenn sie die Reize oder Objekte direkt fixieren durften. Beide Autoren stellten fest, dass das Fehlverhalten der Patienten nicht durch primäre Defizite des Sehens oder der Motorik verursacht war (Exkurs „Bálints Beobachtung“). Bálint (1909) bezeichnete diese spezifische Störung der visuell geführten Bewegungen als „Optische Ataxie“. Perenin und Vighetto (1988) berichteten später von Patienten, die nach unilateralen Läsionen dasselbe Defizit für nur eine Körperseite aufwiesen. Patienten mit Läsionen der linken Hemisphäre zeigten das Unvermögen, Objekte präzise anzusteuern und zu ergreifen, vor allem mit der rechten Hand auf Ziele in ihrem rechten Gesichtsfeld. Dagegen führten Läsionen der rechten Hemisphäre zu diesem Unvermögen mit beiden Händen im linken Gesichtsfeld. Die Autoren lokalisierten zudem mit Hilfe von computertomographischen Aufnahmen dasjenige Hirnareal, das bei diesen Patienten typischerweise geschädigt war. Sie fanden es etwa im Bereich des *Sulcus intraparietalis*, der den parietalen Kortex in einen superioren und einen inferioren Lobulus unterteilt.

Dass die optische Ataxie nicht auf eine Störung einfacher Sehfunktionen zurückge-



Abb. 2: Greifbewegung einer Patientin mit optischer Ataxie nach Schädigung des parietalen Kortex. Der Blick der Patientin ist zur Kamera gerichtet. Obwohl die Patientin keine Lähmung und keine Störung der primären Sehfunktionen aufweist, ist sie nicht mehr in der Lage, das im peripheren Gesichtsfeld dargebotene Objekt zu ergreifen.

Exkurs I

Exkurs „Bálints Beobachtung“

Bálint (1909) beschreibt die Untersuchungen eines Patienten, der aufgrund erheblicher Probleme bei der Bewältigung alltäglicher Verrichtungen nach mehreren Episoden von Schwindel und Übelkeit in die Klinik eingewiesen wurde:

„Er wurde vor den Perimeter gesetzt [...]; die Untersuchung ergab, dass sowohl Objekt- als auch Farben-Gesichtsfeld vollkommen normal sind. [...] Beim Beschreiben des Allgemeinzustandes des Patienten habe ich erwähnt, dass die Muskelkraft der oberen wie der unteren Extremitäten vollständig erhalten ist, und dass der Patient den größten Teil der elementaren Bewegungen ganz fehlerlos ausführt. [...] Wenn man ihn auffordert, einen vorgehaltenen Gegenstand mit der rechten Hand zu fassen, so greift er regelmäßig daneben und findet ihn erst dann, wenn seine Hand daran stößt. [...] Alle Bewegungen, [...] welche das Angreifen einzelner eigener Körperteile bezwecken, macht er fehlerlos.“

führt werden kann, ist unstrittig. So fanden z.B. Perenin und Vighetto (1988), dass ihre Patienten in der Lage waren, verbal die Position eines peripher gelegenen Zielreizes korrekt zu berichten oder die Orientierung zweier Linien zu vergleichen. In späteren Untersuchungen einzelner Patienten wurde die Einschätzung von Objektgrößen direkt

mit der Weite der Handöffnung beim Ergreifen dieser Objekte verglichen. Die Einschätzung der Objekte - unabhängig von der Ausführung einer Greifbewegung - korrelierte sehr gut mit der tatsächlichen Größe. Dagegen zeigte sich beim Ergreifen nur ein geringer Zusammenhang zwischen der Weite der Handöffnung und den verschiedenen Objekten (Jeannerod et al. 1994). Eine Patientin mit bilateralen occipito-temporalen Läsionen und einer ausgeprägten visuellen Formagnosie (Exkurs „Visuelle Agnosie“) zeigte dagegen eine genau umgekehrte Dissoziation ihres Verhaltens (Goodale et al. 1991). Die Patientin war nicht mehr in der Lage, Objekte zu erkennen oder ihre Größe einzuschätzen. Dagegen konnte sie sehr wohl diese Objekte mit der angemessenen Handöffnung ergreifen. Bei Untersuchungen der Handorientierung zeigte sich, dass sie ohne Schwierigkeiten durch einen schmalen Schlitz in verschiedenen Orientierungen reichen konnte (Milner et al. 1991). Dieselbe Aufgabe führt dagegen bei Patienten mit optischer Ataxie zu groben Fehlern in der Handorientierung (Perenin und Vighetto 1988) (Abbildung 3).

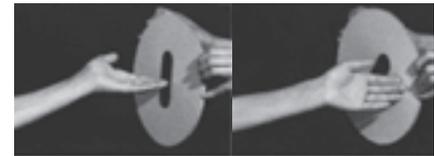


Abb. 3: Die Aufgabe eines Patienten mit optischer Ataxie ist es, mit der flachen Hand durch die vorgegebene Öffnung zu reichen. Typischerweise zeigen diese Patienten eine falsche Orientierung der Hand (links) und/oder eine Abweichung der Hand vom Ziel (rechts). (Abb. aus Perenin und Vighetto 1988)

Es waren diese Beobachtungen, die Milner und Goodale (1995) zu einer Neuformulierung des Modells von Ungerleider und Mishkin (1982) motivierten. Während nach dorsalen parietalen Läsionen, wie sie bei Patienten mit optischer Ataxie beobachtet wurden, visuell geführte Bewegungen gestört sind, bleiben die perceptiven Leistungen dieser Patienten weitgehend erhalten. Objekte werden korrekt erkannt und auch Größenschätzungen und damit die Beurteilung räumlicher Eigenschaften sind den betroffenen Patienten weiter möglich. Patienten mit ventralen Läsionen der occipito-temporalen Übergangsregion zeigen dagegen bei erhaltenen visuomotorischen Fähigkeiten deutliche Defizite bei rein perceptiven Aufgaben. Hier macht es anscheinend keinen Unterschied, ob es sich um räumliche oder



Exkurs II

Exkurs „Visuelle Agnosie“

Patienten mit sog. „Formagnosie“ sind nicht mehr in der Lage, ein Objekt zu identifizieren, zwei Objekte miteinander zu vergleichen oder verschiedene Ansichten demselben Objekt zuzuordnen. Die Patienten beschreiben Gegenstände in ihren Einzelheiten ohne diese Details aber zu einer Wahrnehmung des gesamten Objektes integrieren zu können. Das direkte Abzeichnen (Kopieren) von Bildern und Gegenständen ist grob fehlerhaft, während Zeichnungen aus dem Gedächtnis im Vergleich zufriedenstellend ausgeführt werden. D.h. das Wissen über Objekte und die motorischen Fähigkeiten zum Zeichnen sind noch vorhanden, das visuelle Erkennen des konkreten Gegenstandes ist jedoch beeinträchtigt (vgl. auch Goldenberg 2003).

nicht-räumliche Objekteigenschaften handelt.

Weitere Hinweise auf eine getrennte wahrnehmungs- und handlungsrelevante Verarbeitung fanden sich auch in den Untersuchungen gesunder Versuchspersonen in Experimenten, die sich mit dem Einfluss visueller Täuschungen auf die Perzeption und die Ausführung von zielgerichteten Handbewegungen auseinandersetzten. Es zeigte sich, dass die Einschätzung von Längen und Größen durch visuelle Täuschungen wie der Ebbinghaus-Illusion deutlich beeinflusst wird (Abbildung 4). Dagegen wird die Ausführung von Greifbewegungen durch die Illusion anscheinend nicht beeinträchtigt. Erstaunlicherweise orientieren sich diese an der tatsächlichen Objektgröße (Haffenden und Goodale 1998). Andere Arbeitsgruppen konnten diese Dissoziation jedoch nicht bestätigen und fanden, dass auch die Griffweite der Versuchspersonen durch visuelle Illusionen verändert wird (Franz 2001) (Abbildung 4). Es ist derzeit ungeklärt, welche Faktoren zu diesen konträren Ergebnissen geführt haben.

Zeitlich verzögerte Bewegungen – Ein Beispiel für „perzeptiv gesteuerte Motorik“?

Informationen, die der Steuerung motorischer Handlungen dienen, müssen schnell zur Verfügung stehen. Darüber hinaus muss das motorische System in der Lage sein, kurz

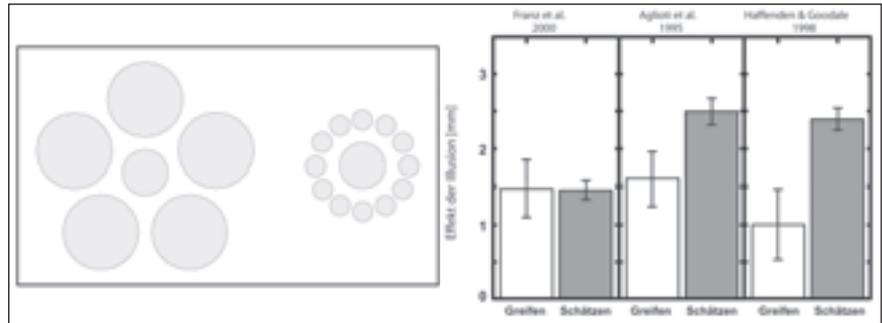


Abb. 4: Die Ebbinghaus-Illusion (links) erzeugt den falschen Eindruck, dass die beiden inneren Kreise unterschiedlich groß sind. Tatsächlich sind beide Kreise in diesem Beispiel aber gleich groß. Wenn Versuchspersonen die Größe der beiden Kreise schätzen sollen, berichten sie eine deutliche Differenz zwischen dem linken und dem rechten Kreis. Diese Differenz ist im unteren Teil der Abbildung als grauer Balken wiedergegeben. Beim Ergreifen von Scheiben, die an der Stelle der inneren Kreise platziert sind, zeigte sich in einigen Untersuchungen ein deutlich geringerer Unterschied der Griffweite (weiße Balken) im Vergleich zur Größenschätzung (graue Balken). Dies würde dafür sprechen, dass die Illusion zwar die Einschätzung der Größen, nicht aber die Greifbewegung verändert. Andere Untersuchungen zeigten aber, dass die Illusion sowohl die Größenschätzung als auch die Fingeröffnung beim Greifen gleichermaßen beeinflusst (Abb. bearbeitet aus Franz et al. 2000).

vor oder während der Bewegung auftretende Fehler sofort zu korrigieren. Dies verlangt eine rasche Verarbeitung der eingehenden Informationen und eine kontinuierliche Aktualisierung der bereits vorhandenen Informationen. Dagegen ist die perzeptive Verarbeitung von Objekteigenschaften weniger zeitkritisch. Vielmehr müssen solche Informationen auch über längere Zeit erhalten bleiben. Milner und Goodale (1995) nahmen daher an, dass auch die zeitlichen Parameter der Informationsverarbeitung im dorsalen und ventralen System verschieden sind. Während Informationen im dorsalen System schnell zur Verfügung stehen, aber auch rasch wieder verloren gehen, bleibt die Information im ventralen System über längere Zeit erhalten. Demnach wäre anzunehmen, dass der Beitrag der beiden Systeme zur Verhaltenssteuerung nicht nur in Abhängigkeit von der Art der gestellten Aufgabe (motorisch vs. perzeptiv) variiert, sondern auch in Abhängigkeit von den zeitlichen Bedingungen der Bewegungsausführung. Werden Bewegungen z.B. auf erinnerte, d.h. beim Bewegungsbeginn nicht mehr sichtbare Zielpositionen ausgeführt, müssen längerfristig gespeicherte Rauminformationen in die visuomotorischen Koordinationsprozesse eingebunden werden. Die im dorsalen Pfad verarbeitete Information sollte gemäß dieser Vorstellung zum Zeitpunkt der Bewegungsausführung bereits verloren gegangen sein, da dieses System die visuell-räumliche Information ständig aktualisiert. Dagegen sollte das ventrale System bei einer verzögerten Bewegungsausführung die

notwendige längerfristig gespeicherte räumliche Information bereitstellen können. Aus dieser Annahme resultieren klare Vorhersagen für das Verhalten von Patienten mit ventralen Läsionen (Visuelle Agnosie) und von Patienten mit dorsalen Läsionen (Optische Ataxie). Agnosiepatienten sollten Ziel- und Objektinformation aufgrund der Schädigung im ventralen System nicht über längere Zeit aufrecht erhalten können. Ihre Bewegungen auf (bei Bewegungsbeginn) nicht mehr sichtbare Ziele sollten im Vergleich zu Bewegungen gesunder Kontrollpersonen deutlich unpräziser sein. Umgekehrt sollten Patienten mit optischer Ataxie von einer Verzögerung der Bewegungsausführung profitieren, da entsprechend den Überlegungen von Milner und Goodale (1995) nun das bei ihnen intakte ventrale System einen Beitrag zur Bewegungssteuerung leisten könnte.

Diese Vermutungen lassen sich tatsächlich beobachten. Wird bei Agnosiepatienten das anvisierte Objekt entfernt und die Ausführung der Bewegung um einige Sekunden verzögert, passen sie die Weite der Handöffnung nicht mehr korrekt der Größe des zuvor gesehenen Objektes an (Goodale et al. 1994). Dagegen verbessert sich die Leistung von Patienten mit optischer Ataxie nach einer Verzögerung der Zielbewegung von wenigen Sekunden deutlich (Milner et al. 2001). Wird diesen Patienten ein Gegenstand kurz präsentiert, dieser aber fünf Sekunden vor dem Beginn der Greifbewegung entfernt, kommt es zu einer korrekten Anpassung der Fingerweite an verschiedene Objektgrößen, die bei sofortiger

Bewegungsausführung nicht stattfindet. Diese „paradoxe“ Verbesserung ist direkt von der Dauer der Verzögerung zwischen Zielpräsentation und der sich anschließenden Bewegung abhängig. So verbessert sich die Präzision der Zeigebewegungen dieser Patienten kontinuierlich, je länger das Verzögerungsintervall zwischen Zielpräsentation und Bewegung wird (Himmelbach und Karnath 2003). Allerdings liegt die Leistung der Patienten auch bei einer langen Verzögerung von bis zu zehn Sekunden immer noch deutlich unter den Leistungen gesunder Versuchspersonen.

Funktionelle Bildgebung verzögerter Zeigebewegungen

Die Beeinträchtigung der Fähigkeit von Agnosiepatienten, räumliche Koordinaten für Zeigebewegungen über mehrere Sekunden hinweg zu speichern, entspricht der Vorstellung von Milner und Goodale (1995) über die Funktion und die zeitlichen Eigenschaften des occipito-temporalen Verarbeitungspfades, in dem – passend dazu – typischerweise die Läsionen der Agnosiepatienten liegen. Dagegen ist die funktionell-anatomische Interpretation der Leistungsverbesserung beim Zeigen auf erinnerte Ziele von Patienten mit optischer Ataxie unklar. Möglich wäre, dass der erhaltene ventrale Verarbeitungspfad zur Steuerung verzögerter Zeigebewegungen beiträgt. Ebenso wäre aber auch denkbar, dass z.B. nicht beschädigte Anteile des superioren parietalen Kortex einen Beitrag zur Leistungsverbesserung von Patienten mit optischer Ataxie beim Zeigen auf erinnerte Ziele leisten. Aufschluss darüber, welche Areale tatsächlich die beobachteten Veränderungen tragen, können uns funktionell-bildgebende Untersuchungen der Hirnaktivität liefern.

In einer kürzlich durchgeführten fMRT-Studie an Gesunden wurde die Aktivität parietaler Strukturen während eines Verzögerungsintervalls zwischen einer Zielpräsentation und der Ausführung einer Zeigebewegung auf periphere Ziele untersucht (Connolly et al. 2003). Die Ausführung der Bewegungen erfolgte entweder gleichzeitig mit der Präsentation des Zieles oder aber erst nach einem Intervall von neun Sekunden. Ein Vergleich der Aktivität in diesem Intervall mit derjenigen in dem Zeitraum vor der Ausführung einer sofortigen Bewegung zeigte einen signifikanten Anstieg des Signals im medialen Anteil des superioren parietalen Kortex beider Hemisphären (Abbildung 5). In einer detaillierteren Auswertung dieser Aktivierung konnten die Autoren zei-

gen, dass der Signalanstieg während des Erinnerungsintervalls spezifisch für die Vorbereitung einer Handbewegung auf das zuvor präsentierte Ziel war. In dieser Untersuchung von gesunden Versuchspersonen erweist sich der superiore parietale Kortex also als wichtige Struktur bei der Vorbereitung von Bewegungen auf erinnerte Zielpositionen. Der mediale superiore parietale Kortex wird aber als Teil des dorsalen Systems betrachtet und sollte nach den bisherigen Vorstellungen keine Informationen über einen Zeitraum von mehreren Sekunden speichern. Das Behalten auch räumlicher Information sollte vielmehr eine Funktion des ventralen Stroms sein. Diese Beobachtung ist daher mit der Annahme einer strengen Aufgabenteilung zwischen dorsalem und ventralem Strom, so wie sie 1995 von Milner und Goodale formuliert wurde, nicht zu vereinbaren. Leider stellten Connolly und Kollegen (2003) nur die Aktivität während des Erinnerungsintervalls dar und nicht die Aktivierungen zum Zeitpunkt der Bewegungsausführung und -steuerung. Daher bleibt leider ungeklärt, ob auch hier wesentliche Unterschiede zwischen sofort ausgeführten Bewegungen auf ein sichtbares Ziel und verzögerten Bewegungen auf ein erinnertes Ziel bestehen. Erste Daten für einen solchen Vergleich wurden von Culham und Mitarbeitern erhoben. In den Experimenten dieser Arbeitsgruppe greifen gesunde Versuchspersonen im Kernspintomographen nach einzelnen Objekten. Diese Bewegungen wurden wiederum entweder sofort oder aber mit einer Verzögerung von mehreren Sekunden nach der Entfer-

nung des Objektes ausgeführt. Die Autoren fanden im wesentlichen gleiche Aktivierungen bei sofortiger und bei verzögerter Bewegungsausführung (Culham 2003). Leider wurden diese Aktivierungen jedoch in zwei verschiedenen Experimenten gemessen und können daher nur indirekt miteinander verglichen werden.

Während also einerseits weiter unklar ist, ob Bewegungen auf erinnerte Ziele tatsächlich mit stärkeren Aktivierungen der Strukturen des ventralen Pfades korrelieren, ist die visuomotorische Aktivierung des medialen superioren Parietalkortex in einem Erinnerungsintervall ein deutlicher Hinweis darauf, dass eine strenge Dichotomie der Verarbeitungswege in Bezug auf die zeitlichen Charakteristika der Informationsverarbeitung nicht vorzuliegen scheint. Die bisher vorliegenden Daten weisen darauf hin, dass die Leistungsverbesserung der Patienten mit optischer Ataxie beim erinnerten Zeigen nicht ausschließlich auf die erhaltenen Funktionen des ventralen Pfades zurückgeführt werden kann. Die berichteten fMRT-Untersuchungen zeigen uns, dass superior parietale Strukturen, also Teile des dorsalen Verarbeitungsweges eine wichtige Rolle bei der Steuerung von verzögerten Bewegungen spielen. Leider wurden diese Untersuchungen sämtlich mit gesunden Versuchspersonen durchgeführt. Der Verlust großer Teile des dorsalen Systems bei Patienten mit optischer Ataxie hat jedoch erhebliche Auswirkungen auf den Vergleich von sofort ausgeführten gegenüber verzögerten Bewegungen in fMRT-Experimenten. Diese Veränderungen sind in Untersuchungen

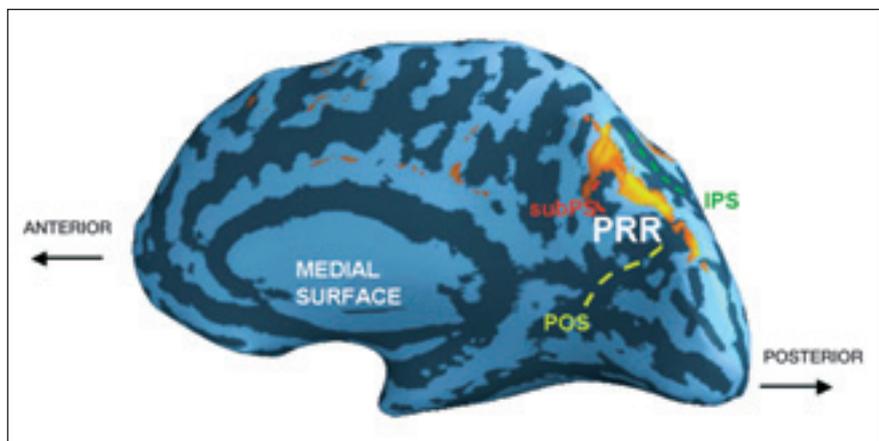


Abb. 5: Aktivität medialer parietaler Strukturen von zehn gesunden Versuchspersonen während eines Verzögerungsintervalls zwischen einer Zielpräsentation in der Peripherie und der Ausführung einer Zeigebewegung auf diese Ziele. Die rechte Hemisphäre wurde geglättet, um auch Aktivierungen in der Tiefe der Sulci darstellen zu können. Die Gyri sind hellblau dargestellt, Sulci dunkelblau. Es zeigte sich eine deutlich erhöhte Aktivität anterior des Sulcus parieto-occipitalis (POS) und medial des Sulcus intraparietalis (IPS) (Abb. aus Connolly et al. 2003).



von Gesunden, die über ein vollständig intaktes visuomotorisches System verfügen nicht nachvollziehbar. Zu wünschen wären daher Untersuchungen von Patienten mit optischer Ataxie mittels fMRT bei der Ausführung von sofortigen und verzögerten Handbewegungen.

Was spricht gegen eine strenge Dichotomie eines dorsalen visuomotorischen und eines ventralen visuoperzeptiven Systems?

Neuere Einzelzellableitungen an Affen gaben Anlass zu der Annahme, dass die funktionelle Trennung der dorsalen und ventralen Verarbeitungssysteme möglicherweise weniger deutlich ausgeprägt ist, als dies bislang vermutet wurde. Toth und Assad (2002) konnten nachweisen, dass sich die Entladungsrate von Neuronen im lateralen intraparietalen Sulcus – also dem dorsalen Verarbeitungspfad – in Abhängigkeit von der Farbe eines visuellen Reizes veränderte. Diese Änderung war immer dann zu beobachten, wenn die Farbe des Reizes die Richtung einer später auszuführenden Augenbewegung anzeigte. Offensichtlich findet eine farbspezifische Verarbeitung nicht nur im ventralen, sondern auch im dorsalen Pfad statt.

Untersuchungen an gesunden Probanden konnten weitere funktionelle Eigenschaften dorsaler Areale nachweisen, die bisher ausschließlich dem ventralen System zugeordnet wurden. So wurde mittels fMRT nachgewiesen, dass Strukturen des dorsalen Pfades eine wichtige Rolle beim längerfristigen Behalten visueller Information für Zeigebewegungen spielen. Diese Beobachtung entspricht nicht den postulierten Eigenschaften der Verarbeitungspfade im Sinne eines schnell agierenden, aber auch "schnell vergessenden" dorsalen und eines langsamen, längerfristig speichernden ventralen Systems.

Ein wichtiges Argument für die Trennung von motorischer und perzeptiver visueller Verarbeitung war die Beobachtung, dass visuelle Illusionen zwar unsere bewusste Wahrnehmung von Objekten verändern, nicht aber die Steuerung unserer Bewegungen (Aglioti et al. 1995; Haffenden und Goodale 1998). Die Befunde von Franz und Kollegen (Franz et al. 2000; Übersicht in Franz 2001) zeigten dagegen, dass die Steuerung einer Greifbewegung sehr wohl auch durch kontextbedingte Unterschiede der Wahrnehmung eines Objektes verändert wird (s. o. und Abbildung 4).

Auch bei näherer Betrachtung der Unter-

suchungen von Patienten mit Hirnschädigungen erweist sich, dass die bisherige Vorstellung einer weitgehend getrennten Verarbeitung von handlungs- und wahrnehmungsrelevanter visueller Information das Verhalten der Patienten nicht ausreichend erklärt. Warum sind die Defizite der Patienten mit optischer Ataxie beim Zeigen und Greifen fast ausschließlich bei Bewegungen auf Ziele und Objekte im peripheren visuellen Feld zu beobachten? Da das zentrale visuelle Feld im Bereich der Fovea im Gegensatz zu den peripheren Anteilen in beiden Hemisphären des Gehirns repräsentiert ist (z.B. Fukuda et al. 1989), ließe sich diese räumliche Beschränkung der Defizite bei unilateralen Läsionen recht einfach erklären. Für den zentralen visuellen Bereich verfügen die Patienten über intakte Informationen aus der jeweils nicht geschädigten Hemisphäre. Diese Überlegung ist aber nicht geeignet, die weitgehend erhaltenen Bewegungen zu Zielen im zentralen Gesichtsfeld der Patienten mit bilateralen Läsionen zu erklären. Bei diesen Patienten ist der dorsale Verarbeitungspfad in beiden Hemisphären gestört. Wäre der dramatische Unterschied zwischen visuomotorischen Leistungen im peripheren und im zentralen Gesichtsfeld also tatsächlich auf die bilaterale Repräsentation der Fovea zurückzuführen, so müssten Patienten mit bilateralen Läsionen Beeinträchtigungen bei Bewegungen auf Ziele im zentralen wie auch auf Ziele im peripheren Gesichtsfeld zeigen. Dies ist aber nicht der Fall. Wie Patienten mit unilateralen Schädigungen zeigen auch solche mit bilateralen Läsionen eine deutliche Diskrepanz zwischen Bewegungen auf zentral vs. peripher lokalisierte Ziele.

Eine Möglichkeit, diesen Unterschied zu erklären, wäre die Annahme eines zusätzlichen visuomotorischen Verarbeitungsweges. Dessen Verlauf müsste außerhalb des typischen Läsionsareals der Patienten mit optischer Ataxie liegen, da die überwiegende Mehrzahl dieser Patienten eben keine Beeinträchtigungen von Greifbewegungen für das zentrale Gesichtsfeld aufweist. Im Alltag werden die meisten zielgerichteten motorischen Handlungen auf Ziele ausgeführt, die zuvor fixiert, d.h. im zentralen Gesichtsfeldbereich abgebildet werden. Das bedeutet, dass dieser hypothetische, zusätzliche visuomotorische Verarbeitungspfad für die überwiegende Mehrzahl unserer Handlungen zuständig und damit viel bedeutender wäre als der bekannte dorsale Verarbeitungspfad. Falls diese Annahme richtig ist, hätten wir uns in diesem Artikel also bisher

mit einem visuomotorischen System beschäftigt, das für die Steuerung zielgerichteter Bewegungen unter normalen Alltagsbedingungen nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine Reihe von Befunden Zweifel an der Vorstellung einer strengen Trennung visuomotorischer und visuoperzeptiver Informationsverarbeitung aufkommen lassen. Das Verhalten von Patienten mit optischer Ataxie lässt sich nicht durch eine generelle Störung eines visuomotorischen Systems erklären, wie es von Milner und Goodale (1995) für den dorsalen Verarbeitungspfad vorgeschlagen wurde. Die bisher durchgeführten bildgebenden Untersuchungen zur visuomotorischen Koordination bei gesunden Versuchspersonen weisen darauf hin, dass entgegen den Erwartungen insbesondere superior parietale Strukturen an der Speicherung von visueller Information über einen Zeitraum von mehreren Sekunden beteiligt sind. Darüber hinaus deuten Einzelzellableitungen darauf hin, dass superior parietal gelegene Neurone Eigenschaften kodieren, die bisher ausschließlich Strukturen des ventralen Verarbeitungsweges zugeordnet wurden.

Ausblick

Eine wesentliche Grundlage der Annahme eines dualen Verarbeitungsmodells bildet die Beobachtung, dass Schädigungen des parietalen Kortex bei Affen und bei Menschen zu Störungen von Zeige- und Greifbewegungen führen, während perzeptive Leistungen bei denselben Individuen weitgehend ungestört sind. Bei näherer Betrachtung findet sich jedoch, dass nicht alle zielgerichteten Bewegungen dieser Tiere und Patienten beeinträchtigt sind. Vielmehr ist das Defizit auf Bewegungen beschränkt, die auf Ziele gerichtet sind, die sich in der Peripherie des Gesichtsfeldes befinden. Dagegen sind Bewegungen im zentralen visuellen Feld und auch verzögerte Bewegungen auf erinnerte Positionen und Objekte gar nicht oder deutlich geringer beeinträchtigt.

Eine geringere Genauigkeit der Bewegungen auf Ziele im peripheren Gesichtsfeld findet sich jedoch auch bei gesunden Versuchspersonen (Bock 1993). Möglicherweise stellt also das Defizit der Patienten mit optischer Ataxie nur eine Verstärkung des schon bei Gesunden beobachtbaren Unterschiedes zwischen Handbewegungen auf Ziele im zentralen und auf Ziele im peripheren Gesichtsfeld dar.

Die größere Ungenauigkeit bei Bewegungen auf Ziele im peripheren Gesichtsfeld führt dazu, dass wir diese Bewegungen häufiger und stärker korrigieren müssen als Bewegungen auf zentral fixierte Ziele. Eben diese Korrekturen im Verlauf einer Bewegung stellen nach neueren Befunden für Patienten mit optischer Ataxie möglicherweise eine besondere Schwierigkeit dar (Pisella et al. 2000; Grea et al. 2002). Die Autoren untersuchten eine Patientin mit optischer Ataxie nach bilateralen parietalen Läsionen, die nicht mehr in der Lage war, ihre Handbewegung einer schnellen Veränderung der Position eines Zielobjektes anzupassen. Erst als sie die erste (nicht mehr aktuelle) Zielposition fast erreicht hatte, führte die Patientin eine bewusst gesteuerte, zweite Bewegung zur neuen (aktuellen) Zielposition aus. Demgegenüber zeigen gesunde Probanden schnelle, automatische Korrekturbewegungen (Pisella et al. 2000). Möglicherweise bieten diese Befunde eine Erklärung für den Unterschied zwischen den Zeigebewegungen auf Ziele im zentralen und peripheren Gesichtsfeld von Patienten mit optischer Ataxie: Wie bei Gesunden sind die Bewegungen der Kranken in die visuelle Peripherie von Beginn an ungenauer als Bewegungen zu Zielen im zentralen Gesichtsfeld. Anders als Gesunde können die Patienten diese Fehler aber später nicht mehr kompensieren und es kommt zu deutlichen Abweichungen vom Ziel. Wird das Ziel dagegen mit den Augen fixiert, sind die Bewegungen der Patienten wie die der Gesunden von Beginn an recht genau und eine Korrektur ist nicht nötig. Bei zentraler Fixation führt die Bewegung daher trotz der Hirnschädigung präzise zum Ziel. Das bedeutet, dass möglicherweise nicht der Gegensatz von Wahrnehmung und Handeln die entscheidende Charakterisierung von dorsaler und ventraler Verarbeitung darstellt, sondern die Unterscheidung zwischen einer sehr schnellen, reflexiven und einer bewussten, langsameren Verarbeitung von visueller Information (Rossetti et al. 2003).

Eine Reihe weiterer Experimente wird jedoch notwendig sein, um diese spekulativen Überlegungen zu prüfen. So kann uns die Messung der kortikalen Aktivität während der Ausführung von zielgerichteten Handbewegungen bei Patienten mit optischer Ataxie zeigen, welche Hirnstrukturen diese Patienten tatsächlich einsetzen, um ihre Bewegungen z.B. beim Zeigen auf erinnernde Ziele zu steuern.

Darüber hinaus beruht der bisher wiederholt berichtete Zusammenhang zwischen

dem Verhaltensdefizit und der Läsionslokalisation bei Patienten mit optischer Ataxie, der eine wichtige Stütze der postulierten Dichtomie von visueller Wahrnehmung und visueller Bewegungssteuerung darstellt, ausschließlich auf der manuellen Auswertung von computertomographischen Aufnahmen einer kleinen Patientengruppe der 80er Jahre (Perenin und Vighetto 1988). Eine topographische Auswertung der Läsionen einer größeren Gruppe von Patienten mit optischer Ataxie mit den Mitteln moderner anatomischer Bildgebung und Läsionsauswertung sollte uns präzisere Aussagen darüber erlauben, wie die typische Schädigung im Verhältnis zum angenommenen Verlauf von dorsalem und ventralem System lokalisiert ist und ob sie überhaupt exklusiv einem der postulierten Systeme zugeordnet werden kann.

Fest steht zum jetzigen Zeitpunkt, dass verschiedene kortikale Systeme existieren, die einen unterschiedlichen Beitrag zur visumotorischen Steuerung leisten. Die Untersuchungen an hirngeschädigten Menschen und an Affen zeigen auch, dass diese Systeme vermutlich entlang einer dorsalen und einer ventralen Bahn organisiert sind. Der Einfluss dieser Strukturen auf die Planung und Ausführung einer Bewegung kann durch experimentelle Faktoren wie z.B. eine zeitliche Verzögerung gezielt manipuliert werden. Neuere experimentelle Befunde weisen jedoch auf eine wesentliche stärkere Durchdringung der Systeme hin als dies bisher angenommen wurde.

Literatur

- Culham, J.C. (2004): Human brain imaging reveals a parietal area specialized for grasping. In: Kanwisher, N. und Duncan, J. (Hrsg.) *Attention and Performance XX. Functional Neuroimaging of Visual Cognition*. Oxford: Oxford University Press.
- Franz, V.H. (2001): Action does not resist visual illusions. *Trends in Cognitive Sciences* 5: 457-459.
- Milner, A.D. und Goodale, M.A. (1995): *The visual brain in action*. Oxford: Oxford University Press.
- Pisella, L., Grea, H., Tilikete, C., Vighetto, A., Desmurget, M., Rode, G., Boisson, D. und Rossetti, Y. (2000): An 'automatic pilot' for the hand in human posterior parietal cortex: toward reinterpreting optic ataxia. *Nature Neuroscience* 3: 729-736.
- Toth, L.J. und Assad, J.A. (2002): Dynamic coding of behaviourally relevant stimuli in parietal cortex. *Nature* 415: 165-168.

Eine ausführliche Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagung

Diese Arbeit wurde mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Ka 1258/2-3; SFB 550-A4) gefördert.

Kurzbiographien

Marc Himmelbach: Studium der Psychologie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Seit 2000 Promotionsstudent an der Sektion Neuropsychologie des Universitätsklinikums Tübingen.

Hans-Otto Karnath: 1981-1992 Studium der Psychologie und der Medizin an den Universitäten in Freiburg und Aachen. 1989 Promotion in Psychologie über Frontalhirnfunktionen beim Menschen, 1992 Promotion in Medizin über Blickbewegungsstörungen. 1993-1999 Facharzt Ausbildung in Neurologie an der Universität Tübingen. Seit 2004 Professur für Neuropsychologie und Leitung der Sektion Neuropsychologie am Zentrum für Neurologie der Universität Tübingen. Arbeitsschwerpunkte der Sektion sind die Untersuchung der Raumorientierung und des Objekterkennens des Menschen. An Patienten mit Hirnschädigungen und an Gesunden werden unter Einsatz funktioneller Bildgebung (fMRT), transkranieller Magnetstimulation (TMS) und der Registrierung von Augen- und Handbewegungen die Mechanismen unserer Wahrnehmung der Körperorientierung, Prozesse der Aufmerksamkeit und Raumexploration sowie die visumotorischen Koordinationsprozesse beim Zeigen und Greifen untersucht.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Dr. Hans-Otto Karnath
 University of Tuebingen
 Center of Neurology
 Hertie-Institute for Clinical Brain Research
 Hoppe-Seyler-Str. 3
 72076 Tuebingen
 Tel.: ++49 (0) 07071 29 80 465
 Fax: ++49 (0) 07071 29 59 57
 e-mail: Karnath@uni-tuebingen.de

ARTIKEL DES QUARTALS

Vorgestellt von Petra Stoerig

Institut für Experimentelle Psychologie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Parietal somatosensory association cortex mediates affective blindsight

Silke Anders, Niels Birbaumer, Michael Erb, Bettina Sadowski, Irina Mader, Wolfgang Grodd und Martin Lotze

Erschienen in *Nature Neuroscience* 7, 339-340 (2004)

In dem Spannungsfeld zwischen Emotions-, Wahrnehmungs- und Bewusstseinsforschung bewegt sich die Studie von Silke Anders und ihren Tübinger Kollegen. Sie gehen der Frage nach, ob ein unsichtbarer emotionaler Sehreiz eine emotionale Reaktion auslösen kann. In ihrer Untersuchung an neun Patienten mit einseitigen, retro-genikulär bedingten Gesichtsfeldausfällen verwendeten sie das Gesicht eines bärtigen Mannes*, das in zufälliger Reihenfolge mal im normalen, mal im rindenblinden Gesichtsfeldanteil gezeigt wurde (Abbildung 1). Pro Halbfeld wurden acht Habituationsdarbietungen dieses visuellen Stimulus gegeben, während die Patienten die Augen auf einen zentral angebrachten Fixationspunkt gerichtet hielten. Das Fixationsverhalten der Patienten wurde überwacht, um auszuschließen, dass die im blinden Feld gezeigten Gesichter durch Sakkaden ins normale Feld gelangten. In einem klassischen Konditionierungsparadigma wurden von den fol-

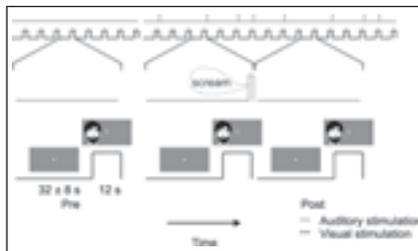


Abb. 1: Experimentelles Design: Nach einer Ruheperiode wurde ein Gesicht für 12 Sekunden präsentiert. Präsentationen im linken und rechten Hemifeld folgten zufällig aufeinander. Nach 16 Präsentationen des Gesichts ohne begleitenden aversiven Stimulus wurden 8 von 16 weiteren Präsentationen in jedem Hemifeld mit einem aversiven Schrei gepaart (Abbildung aus: Anders et al, *Nature Neuroscience* 7, 2004).

* In einer Voruntersuchung zeigte sich, dass bärtige Gesichter besser als konditionierte Reize taugen.

genden 32 Darbietungen desselben Reizes 50% mit einem aversiven Schrei gepaart. Die ganze Untersuchung fand im Magnetresonanztomographen statt, wodurch über den BOLD-Kontrast die Veränderung der neuronalen Aktivierungsmuster erfasst werden konnte. Zur Erfassung der Schreckreflexreaktion wurde zusätzlich die Stärke des Lidschlusses auf einen akustischen Schreckreiz aufgezeichnet. Schließlich mussten die Patienten ihre emotionale Antwort auf die Reize einschätzen, wozu sie, wiederum im blinden Feld, jeweils zweimal den Reiz und zweimal den leeren Bildschirm gezeigt bekamen.

Die berichteten Ergebnisse beziehen sich nur auf die durch Reizung des blinden Feldes gewonnenen Daten und vergleichen die aus der Habituationsphase (nur Gesicht) mit denen aus der Konditionierungsphase (Gesicht plus Schrei), um eine konditionierungsabhängige Veränderung der Aktivierungsmuster zu erfassen. Auch wenn die Konditionierung selbst allein durch die Reizdarbietungen im normalen Halbfeld erfolgt sein kann, bewirkte schließlich auch die Präsentation nur des Gesichtes im blinden Feld NICHT gesehen zu haben, verstärkte sich nach Paarung mit dem Schrei bei fünf Patienten der Lidschlussreflex, und es kam zu einer signifikant negativeren Bewertung des ungesehenen Bildes.

Dieser Befund ist spannend, weil hier nicht nur gezeigt wird, dass der ungesehene Reiz implizit verarbeitet wird (Stoerig 1999). Vielmehr ändert sich auch die emotionale Bewertung des ungesehenen Gesichtes, was auf eine bewusst zugängliche Reaktion auf den ungesehenen Reiz schließen lässt. Aus den Bildgebungsdaten lässt sich herleiten, wie das möglich sein kann: Im Vergleich zwischen Prä- und Postkonditionierungsphase zeigt sich ein signifikanter Anstieg der BOLD-Antwort

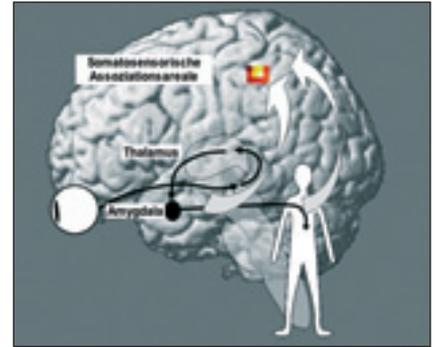


Abb. 2: Ein Modell der neuronalen Grundlagen emotionaler Reaktionen auf visuelle Stimuli bei Ausfall des primären visuellen Kortex. Visuelle Informationen erreichen die Amygdala über die tectale Sehbahn (schwarz). Über subkortikale Projektionen werden Vermeidungsreaktionen moduliert (schwarz). Zerebrale Aktivierung und Feedback aus der Körperperipherie (hellgrau) führen zu einer Repräsentation körperlicher Reaktionen in primären und assoziativen somatosensorischen Arealen. Die in der hier vorgestellten Studie beobachtete Aktivität in diesen Arealen (rot) ist möglicherweise die neuronale Grundlage für Gefühle in Abwesenheit einer kortikalen Repräsentation des visuellen Stimulus.

im anterioren Parietallappenbereich der linken Hirnhälfte, im Bereich des sekundären somatosensorischen Kortex. Die Ausprägung dieser Aktivierung erlaubte Voraussagen über die Übereinstimmung zwischen subjektiver Einschätzung und Schreckreaktion, denn je größer die Aktivierung war, desto größer war auch die Übereinstimmung zwischen der empfundenen emotionalen Valenz und der Lidschlussamplitude. Das aus diesen Befunden auch auf Grundlage vorangehender Untersuchungen (Le Doux; Morris et al. 2001) entwickelte Modell (Abbildung 2) nimmt an, dass Signale vom blinden Halbfeld subkortikal über den Colliculus superior zur Amygdala gelangen. Die sich im Lidschluss äussernde Vermeidungsreaktion wird dann durch Weiterleitung zu Hirnstammkernen geleistet, während Rückmeldungen über diese Reaktion ebenso wie die davon unabhängige Weiterleitung zum somatosensorischen Kortex die emotionale Reaktion vermitteln.

Damit es ohne bewusste Abbildung des konditionierten Reizes zu einer bewusst zugänglichen Veränderung der emotionalen Bewertung kommen kann, müsste demnach eine der Selbstwahrnehmung zugängliche körperliche Antwort auf den Reiz erfolgen – eine Annahme, die schon für die James-Lange-Theorie der Emotionen zentral war (James 1884) und von Damasio und Kollegen (2000) in Form der somatischen Marker weiterentwickelt

wird. Wenn die Induktion geeigneter somatischer Marker auch durch nicht bewusst wahrgenommene Reize gelingt, dann können auch diese eine wahrnehmbare emotionale Antwort hervorrufen. Die Arbeit von Silke Anders und Kollegen zeigt, dass das der Fall ist.

Literatur

- Damasio, A.R., Grabowski, T.J., Bechara, A., Damasio, H., Ponto, L.L.B., Parvizi, J. und Hichwa, R.D. (2000): Subcortical and cortical brain activity during the feeling of self-generated emotions. *Nat. Neurosci.* 3: 1049-1056.
- James, W. (1884): What is an emotion? *Mind* 4: 118-204.
- Le Doux, J.E. (1996): *The Emotional Brain: The Mysterious Underpinnings of Emotional Life*. New York: Simon & Schuster.
- Morris, J.S., DeGelder, B., Weiskrantz, L. und Dolan, R.J. (2001): Differential extrastriate and amygdala responses to presentation of emotional faces in a cortically blind field. *Brain* 124: 1241-1252.
- Stoerig, P. (1999): Blindsight. In: Wilson, R. und Keil, F. (Eds.): *The MIT-Encyclopedia of the Cognitive Sciences*. MIT-Press: Cambridge/MA, pp.88-90.

Fragen an die Autoren

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

Silke Anders: Frühe Inspirationen kamen aus den Arbeiten zu Blindsight von Larry Weiskrantz und Petra Stoerig, in denen das Phänomen intakter visueller Restfunktionen bei Patienten beschrieben wird, die jegliche bewusste visuelle Wahrnehmung in ihrem Gesichtsfeldausfall verneinen. Später kam die Frage nach den neuronalen Grundlagen von Gefühlen und Berichte über William James' klassisches Traktat („What is an emotion?“) hinzu. Auf neurowissenschaftliche Füße wurde unsere Studie durch die Arbeiten von LeDoux und Hitchcock und Rosen gestellt, die zeigten, dass Ratten auch nach einer vollständigen Entfernung der sensorischen Kortizes auf furchterregende emotionale auditorische und visuelle Stimuli reagieren. Darauf folgte natürlich die Frage, ob auch der Mensch auf emotionale Stimuli reagiert, wenn eine Verarbeitung im sensorischen Kortex ausgeschlossen ist.

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

Silke Anders: Mein Weg zu den Neurowissenschaften führte über die Ethologie. In der Schulzeit habe ich Mutterprägung bei Hausgänsen untersucht und während meines Bio-



Silke Anders und Martin Lotze

logiestudiums Schweinswale vor Sylt beobachtet. Eigentlich sollte ich eher sagen, versucht zu beobachten, denn die meiste Zeit war nichts als das weite Meer zu sehen. Da begrenzt die Menge verfügbarer Daten schnell die möglichen Fragestellungen. Die funktionelle Kernspintomographie bietet die Möglichkeit, sehr nah am Gehirn zu sein, ohne dabei invasiv arbeiten zu müssen.

Martin Lotze: Verhaltensbiologie interessierte mich seit der Schulzeit. Der Zugang zur Neurowissenschaft war dann durch das direkte Miterleben dürfen von Forschung am Institut von Ernst Pöppel / München ab dem 3. Semester möglich.

Frage: Warum sind Sie Wissenschaftler geworden?

Silke Anders: Vielleicht weil ich Dinge sehen wollte, die anderen verborgen bleiben. Als Kind wollte ich Tiefseetaucher werden.

Martin Lotze: Genaues Beobachten erlaubt Wissenserweiterung. Menschen, die genau beobachten können, müssen wach und offen sein. Diese Menschen faszinierten mich fachübergreifend.

Frage: Wer oder was hat Sie wissenschaftlich besonders geprägt?

Silke Anders: Ein Studienjahr an der Universität Cambridge. Im Gegensatz zu Vorlesungen an deutschen Unis werden hier brandaktuelle Publikationen besprochen und offene Fragen diskutiert, als wäre die Lösung schon greifbar. Das macht Lust auf Forschung. In Cambridge hatte ich auch meinen ersten Kontakt mit dem Phänomen der Blindsight (Petra Stoerig hatte gerade einen Artikel über Blindsight bei Affen veröffentlicht).

Martin Lotze: Lehrer, die wissenschaftliches Denken vermitteln und Raum bieten, um eigene Erfahrung zu machen, waren bei mir vor allem Till Roenneberg aus München und Nils Birbaumer aus Tübingen.

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

Silke Anders: Durchhaltevermögen und die Fähigkeit, das Wesentliche vom Unwesentlichen zu unterscheiden. Für mich war auch immer wichtig, Menschen um mich zu haben, die an einen glauben.

Martin Lotze: Begeisterung für wissenschaftliche Beobachtung und Methodik, langer Atem, um Zusammenhänge zu ordnen und zu beschreiben und das wissenschaftliche Thema faszinierend vermitteln zu können.

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

Silke Anders: Bedenklich finde ich den immer stärker werdenden Trend zu einer ausschließlich anwendungsorientierten Wissenschaft. Kunst und eine rein nach Erkenntnis strebende Wissenschaft sind Ausdruck einer zivilisierten Gesellschaft.

Martin Lotze: Die richtigen Reformationsprozesse werden sich bei erhöhter Qualitätskontrolle durch internationalen Wettbewerb von selber herauskristallisieren. Notwendig ist die Finanzierung einer wissenschaftlichen Mittelschicht, auch um methodischen Transfer zu ermöglichen.

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

Silke Anders: Sich beraten, aber nicht beirren zu lassen.

Martin Lotze: Früh Ausschau nach interessanten wissenschaftlichen Lehrern zu halten. Bei Medizinerinnen rate ich immer, noch zusätzlich eine fundierte klinische Ausbildung zu durchlaufen.

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

Silke Anders: Die Wissenschaft bietet wohl mehr als jeder andere Beruf die Möglichkeit, den eigenen Interessen nachzugehen und andere für seine Ideen zu begeistern. Die Schattenseite sind Nächte wie diese: Vor wenigen Stunden von Kuba zurückgekehrt und noch erfüllt von den Eindrücken, betreibe ich wissenschaftliche Nabelschau. Die Wissenschaft hält einen gefangen und lässt nicht los.

Martin Lotze: Eine abwechslungsreiche Arbeit, die hohe Spezialisierung erlaubt und multiple Fähigkeiten involviert. Leider muss bei erfolgreicher Arbeit zu viel anderes auch sehr interessantes vernachlässigt werden.

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

Silke Anders: Reisen, **Martin Lotze:** Menschen, Natur, bildende Kunst.

FIRMENPORTRAIT

conoGenetix biosciences – „Alte“ Naturstoffe und modernes Drug Design

Andreas Klostermann

Zusammenfassung

Ozeane bedecken zwei Drittel der Erdoberfläche und bilden damit das größte und sicherlich wertvollste Ökosystem der Erde. Mit einer nahezu unüberschaubaren Artenvielfalt bilden die Ozeane aber auch eine phantastische und einzigartige Quelle für die Entdeckung neuer, pharmakologisch aktiver Naturstoffe. Häufig handelt es sich bei diesen bioaktiven Stoffen um hochspezialisierte Jagdgifte. Zu den interessantesten Jagdgiften gehören die Conopeptide der tropischen Kegelschnecken (Familie Conidae). Die Mitglieder dieser Molluskenfamilie setzen hochkomplexe Giftseren, die zum Teil aus bis zu 200 Einzeltoxinen bestehen, zur Jagd auf Beute ein. Conopeptide sind kleine, an Cysteinbrücken reiche und daher rigide Peptide, die als Liganden spezifisch an bestimmte physiologische Zielstrukturen binden. Bei den meisten bisher bekannten molekularen Zielstrukturen handelt es sich um Ionenkanäle oder G-Protein gekoppelte Rezeptoren. Aufgrund der hohen Spezifität und Selektivität für diese Zielklassen gewinnen Conopeptide eine immer größere Bedeutung als Leitstrukturen (drug leads) in der pharmakologischen Forschung auf den Indikationsgebieten neurologischer und kardiovaskulärer Erkrankungen.

Warum können Schnecken Fische fangen?

Die Giftseren mariner Kegelschnecken sind ausgesprochen gute Ausgangsquellen für die Suche nach neuen therapeutischen Wirkstoffen. Fischjagende (*piscivore*) Schnecken müssen aufgrund der hohen Mobilität ihrer Beutetiere diese rasch und effektiv bewegungsunfähig machen. Dieser Evolutionsdruck hat im Laufe von 50 Mio. Jahren ein hochspezialisiertes Sortiment von Conopeptiden entstehen lassen (Abbildung 1a-c). Harpuniert z.B. die Kegelschnecke *Conus purpurascens* einen Fisch und injiziert ihm auf diese Weise ihr Serum, so zeigt dieser in einer ersten Reaktion heftige unkoordinierte Muskelzuckungen und darauffolgend eine tetanische Paralyse (Terlau et al. 1996). Diese zeitlich gestaffelte Aktionskaskade kann detailliert einzelnen Conopeptiden aus dem Serum der Schnecke zugeordnet werden. Die nähere Analyse dieses Vorgangs führte zu der Erkenntnis, dass Conopeptide in Gruppen wirken, um den physiologischen Endpunkt - die sichere Erfassung der Beute - zu erreichen (Olivera und Cruz 2001).

Ionenkanäle - Physiologische Zielstrukturen der Conopeptide

Die molekularen, physiologischen Zielstrukturen der Conopeptide im Organismus des Beutetieres sind Ionenkanäle. Der Fisch steuert seine Bewegung über Nervenimpulse, die in Form von Aktionspotentialen zunächst vom motorischen Zentrum des Gehirns in das Rückenmark geleitet und dort an Motoneurone übergeben werden. Motoneurone leiten diese Impulse, die die Kontraktion einzelner Muskelfasern steuern, an eine einzelne Faser weiter. An der Kontaktstelle zwischen der Nerven- und Muskelzelle, der sogenannten neuromuskulären Synapse, wird das Aktionspotential in ein chemisches Signal, den Neurotransmitter Acetylcholin umgewandelt und auf die Zielzelle übertragen. Diese Übertragung von der Nerven- zur Muskelzelle wird spezifisch durch ein Conopeptid blockiert, in dem es den Acetylcholinrezeptor der Muskelzelle inhibiert. Da die Conopeptide, die im Beutetier zunächst unkontrollierte Muskelzuckungen auslösen, mit Strukturen der neuromuskulären Synapse interagieren und so die Übertragung von Nervenimpulsen auf den

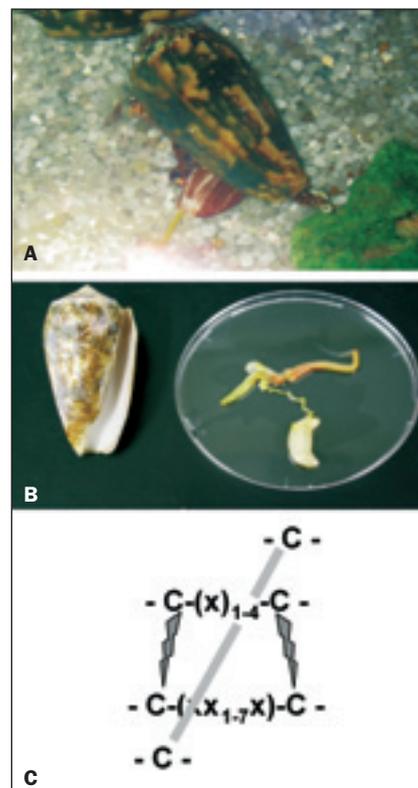


Abb. 1: A. *Conus striatus*
Abgebildet ist *Conus striatus* in einem Laborbecken der conoGenetix biosciences. Im rechten unteren Drittel des Bildes ist das Atemrohr des Tieres zu sehen. In der unteren Bildmitte erkennt man den Fuß des Tieres sowie den beweglichen Proboscis der Schnecke, der einen harpunenartigen Giftpfel trägt.

B. Explantat des Giftapparats von *Conus striatus*
Im unteren Teil des Explantats erkennt man den massiven Giftbulbus des Apparats, dessen Funktion bisher noch nicht vollständig aufgeklärt ist. Die eigentliche Giftdrüse stellt der daran schließende dünne, gewundene Schlauch dar. Im oberen Teil des Explantats erkennt man links die Speichertasche für die harpunenartigen Pfeile des Tieres, auf der rechten Seite den beweglichen Proboscis. Das Explantat stammt aus dem ebenfalls abgebildeten Gehäuse, so dass sich ein guter Eindruck von der Größe des Giftapparates im Verhältnis zur Gesamtgröße des Tieres ergibt.

C. Cysteinoknoten
Dargestellt ist schematisch die Ausbildung eines Cysteinoknotens durch drei intramolekulare Cystein-Disulfidbrücken. Zwei Disulfidbrücken bilden eine Ringstruktur, durch die eine weitere Disulfidbrücke geführt wird. Diese Anordnung ermöglicht eine extrem dichte Anordnung der einzelnen Aminosäuren des Peptids und damit eine erhöhte Stabilität.

Muskel verhindern, werden sie auch als „motor cabal“ bezeichnet (Terlau et al. 1996; Olivera und Cruz 2001). Conopeptide, die zur tetanischen Starre führen, greifen bereits an früherer Stelle der Signalübertragung an. Diese Conopeptide (δ - und κ -Conopeptide) interagieren hochspezifisch mit den Ionenkanälen, die zur Ausbildung des eigentlichen Aktionspotentials notwendig sind. Die Funktion dieser Peptide ist vergleichbar mit den Auswirkungen eines Strom- oder Blitzschlags - daher werden diese Peptide auch als „lightning strike cabal“ bezeichnet. Sie verursachen die Übererregung der motorischen Nervenbahnen und damit der zugehörigen Muskeln des Fisches, was in der Konsequenz dazu führt, dass dieser mit abgespreizten Flossen in starrer Regungslosigkeit verharrt.

Conopeptide - Strukturelle Merkmale und Besonderheiten

Aus der Vielzahl der heute bereits bekannten Conopeptide lassen sich zwei Gruppen wesentlich voneinander unterscheiden – zyklische Conopeptide und azyklische Conopeptide (Abbildung 1c) (Tabelle 1). Beiden Strukturgruppen gemein sind starke post-translationale Modifikationen, sie unterscheiden sich hingegen in ihrem Cysteingehalt. Azyklische Peptide bestehen aus 9 - 15 Aminosäuren (aa) und enthalten keine, oder nur 2 Cysteine. Bis heute sind nur drei Gruppen (Conantokine, Contulakine und Contryphane) bekannt, die als Antagonisten bzw. Agonisten des NMDA-Rezeptors bzw. des Neurotensin Rezeptors wirken (Olivera und Cruz 2001). Zyklische Conopeptide (8 - 45 aa) weisen hingegen einige weitere Besonderheiten auf. Hervorstechendstes Merkmal dieser Peptide ist ihr hoher Anteil an Cysteinen, die in wohlgeordneten Abständen gleichermaßen ein Rückgrat in der Peptidsequenz bilden. Zwischen den Cysteinresten werden Disulfidbrücken ausgebildet, so dass es zu einer Zyklisierung des Peptids kommt. Eine besondere Form der Zyklisierung stellt der Cysteinknoten dar. Dieser entsteht, wenn durch zwei Disulfidbrücken ein Ring gebildet wird, der von einer dritten Disulfidbrücke durchschnitten ist (Abbildung 1c). Diese besondere Struktur verschafft den Peptiden ein hohes Maß an Rigidität und Stabilität und stellt damit auch einen interessanten Ansatzpunkt für die Synthese neuer Peptidstrukturen dar (Craik et al. 2001). Zyklische Peptide werden heute in 6 Superfamilien zusammengefasst, die wiederum in mehrere Familien (ca. 18 - 20) unterschieden werden. Die Unterscheidung erfolgt gemäß der Anordnung der Cysteinreste in der Peptidsequenz. In der

Tab. 1: Klassifizierung der Conopeptide. Die Nummerierung der Cysteine in der Spalte „Cysteinmuster“ entspricht der jeweiligen Disulfidbrücke. Tabelle nach Jones et al. 2001.

Klasse	Peptidfamilie	Cysteinmuster	Zielstruktur
A	α	$C^1C_2 - -C^1 - -C_2$	Antagonist nACh-Rezeptor
	ρ	$C^1C_2 - -C_2xxC_3xC^1 - -C_3$	Antagonist α 1-Adrenorezeptor
	αA	$CC - -CxxCxC - -C$	Antagonist nACh-Rezeptor
	κA		Inhibiert Kaliumkanäle
M	μ	$C^1C_2 - -C_3 - -C^1 - -C_2C_3$	Blockiert Natriumkanäle
	Ψ		Inhibitor nACh-Rezeptor
O	d	$C^1 - C_2 - -C_3C^1 - C_2 - -C_3$	Natriumkanäle (site I)
	ω		Kalziumkanäle
	γ		unspezifisch
	μO		Natriumkanäle (non site I)
	κ		Kaliumkanäle
	Bromosleeper Conotoxin-GS		- ? - Natriumkanäle
S	σ	$C - C - -C - C - -C - C - -CxCxC$	Antagonist Serotoninrezeptor
T	τ	$C^1C_2 - -C^1C_2$	- ? -
	χ	$C^1C_2 - -C_2 - -C^1$	Noradrenalin Transporter
P	- ? -	$C - -C - -C - -C - -C - -C$	- ? -
azyklisch	Conantokin	linear	Antagonist NMDA-Rezeptor
	Contulakin	linear	Agonist Neurotensin-Rezeptor
	Contryphan	$C^1 - -C^1$	- ? -

Regel sind die Mitglieder einer Conopeptidfamilie spezifische Interaktionspartner für eine bestimmte Klasse von Ionenkanälen oder Rezeptoren (Tabelle 1).

Conopeptide in der pharmakologischen Entwicklung

Conopeptide bieten in der Therapeutikentwicklung einen unschätzbaren Vorteil - sie können aufgrund der hohen Spezifität

und Selektivität ihrer Bioaktivität bereits als pharmakologische Leitstrukturen betrachtet werden, wodurch sich der Entwicklungsprozess eines Therapeutikums signifikant verkürzen lässt. Aufgrund der vielfältigen Ansatzpunkte sowie der vielen spezifischen Vorteile, die Conopeptide als Therapeutika bieten können, befinden sich heute mehrere Conopeptide in der präklinischen oder klinischen Entwicklung (Craik et al. 2001).

Tab. 2: Conopeptide in der klinischen Entwicklung. Die Tabelle gibt einen Überblick über die wichtigsten, momentan in der klinischen Entwicklung befindlichen Conopeptide. Angegeben ist jeweils der wissenschaftliche Name des Peptids, die Spezies, die molekulare Zielstruktur und das Indikationsfeld sowie der Produktname, die entwickelnde Firma und die momentane klinische Phase (Tabelle nach Alonso et al. 2003). (Adressen und Web-Seiten der angegebenen Firmen: Metabolic Pharmaceuticals, Melbourne, Australien, www.metabolic.com.au; Elan Pharmaceuticals Corporation, Kalifornien, USA, www.elan.com; AMRAD Operations, Melbourne, Australien, www.amrad.com.au; Cognetix Inc., Salt Lake City, Utah, USA, www.cognetix.com.

Peptid (Spezies)	Zielstruktur	Indikation	Produkt	Phase	Firma
α-Conopeptid Vc1.1 (<i>C. victoriae</i>)	Kompetitiver Antagonist des neuronalen nAChR	Neuropathie	ACV1	-	Metabolic, Australien
ω-Conopeptid MVIIA (<i>C. magus</i>)	Blockiert Kalziumkanäle des N-Typs	Schmerztherapie	Prialt	III	Elan, Irland
ω-Conopeptid CVID (<i>C. catus</i>)	Blockiert Kalziumkanäle des N-Typs (Subtyp)	Schmerztherapie	AM336	II	AMRAD, Australien
Conantokin-G (<i>C. geographus</i>)	Inhibiert NMDA-Rezeptor (NR2B)	Schmerztherapie	CGX1007	II	Cognetix, USA
Conantokin-T (<i>C. tulipa</i>)	Inhibiert NMDA-Rezeptor (NR2B & NR2A)	Schmerztherapie	CGX1160	II	Cognetix, USA
Contulakin-G (<i>C. geographus</i>)	Neurotensin Rezeptor	Schmerztherapie	CGX-100	II	Cognetix, USA

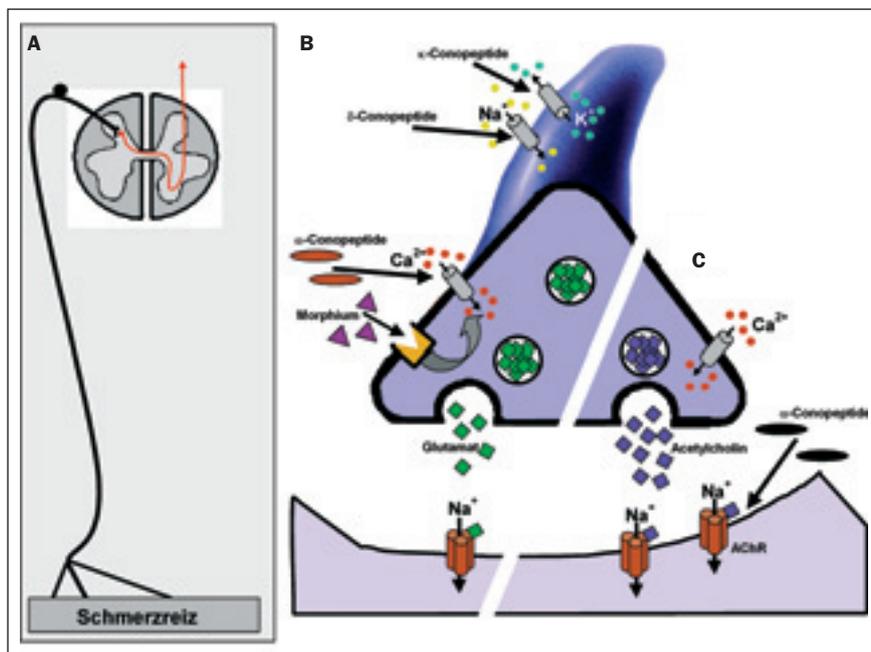


Abb. 2: A. Modell der Schmerzleitung. Sensorische Systeme erfassen endogene oder exogene Schmerzreize und leiten diese an das Rückenmark weiter. Die Fasern dringen über das dorsale Horn in den sensorischen Bereich des Rückenmarks ein. Das Signal wird an einer Synapse auf die nachgeschalteten, in das Gehirn projizierende Neurone übergeben (s.a. Abbildung 2B.).

B. Neuronale, glutamerge Synapse. Der Nervenimpuls erreicht die Synapse in Form eines Aktionspotentials. Dieser kurzzeitige Stromimpuls öffnet die präsynaptischen Kalziumkanäle und als Folge der Erhöhung der intrasynaptischen Kalziumkonzentration verschmelzen Neurotransmitterhaltige Vesikel mit der präsynaptischen Membran. Auf diese Weise wird der Transmitter Glutamat freigesetzt, der an postsynaptische Rezeptoren bindet und die Generierung eines postsynaptischen Aktionspotentials initiiert. Morphium kann die Glutamatfreisetzung verhindern, indem es an einen endogenen Opiatrezeptor bindet, der über eine intrazelluläre Kaskade den für die Vesikelverschmelzung wichtigen Kalziumkanal inhibiert. ω -Conopeptide dagegen interagieren direkt mit dem Kanal und verhindern so – ohne die Toleranz- und Suchtproblematik von Opiaten – die Weiterleitung des Signals.

C. Neuromuskuläre Synapse. Die Funktion der neuromuskulären Synapse ist analog zur neuronalen Synapse. In die Endigung einlaufende Aktionspotentiale öffnen spezifische Kalziumkanäle. In der Folge des Kalziumeinstroms in die Synapse wird der Transmitter Acetylcholin freigesetzt. Acetylcholin bindet auf der postsynaptischen Seite an den Acetylcholinrezeptor (AChR) und generiert auf diese Weise die Ausbildung eines Aktionspotentials. Dies kann durch α -Conopeptide, die den AChR blockieren, verhindert werden. Bereits bei der Weiterleitung des Aktionspotentials auf der Nervenfasern greifen die Conopeptide δ und κ ein. Sie interagieren spezifisch mit Natrium- bzw. Kaliumkanälen, die essentiell für die Aufrechterhaltung und Weiterleitung des Aktionspotentials sind.

α -Conopeptide

Die ersten Conopeptide, deren physiologische Funktion und Struktur aufgeklärt werden konnte, waren α -Conopeptide. Diese Klasse der Conopeptide interagiert mit den Acetylcholinrezeptoren der neuromuskulären oder neuronalen Synapse (Abbildung 2c). Die α -Peptide sind dabei so spezifisch, dass sie zwischen den entsprechenden Subtypen des Rezeptors unterscheiden. Bestimmte α -Peptide binden an den muskulären Subtypus des Rezeptors, andere binden ausschließlich an den neuronalen Rezeptor. Diese hohe Selektivität macht es möglich,

Neuronen-spezifische α -Conopeptide als Analgetika für bestimmte Arten von Neuropathien einzusetzen (Tabelle 2) (Alonso et al. 2003).

ω -Conopeptide

Eine der interessantesten Klassen für die Therapeutikaentwicklung stellen die ω -Conopeptide dar. Interessant deshalb, da ω -Conopeptide spezifisch molekulare Strukturen der Schmerzleitung inhibieren. Die Schmerzwahrnehmung des Körpers erfolgt in mehreren Stufen. Spezielle sensorische Neurone erkennen endogene oder exogene

Schmerzreize und leiten diese über spezialisierte Nervenbahnen in das dorsale Horn des Rückenmarks weiter. Im Rückenmark erfolgt die Übertragung des Signals auf eine nachgeschaltete Zelle, die das Signal in das Gehirn weiterleitet, in dem dann die eigentliche Schmerzwahrnehmung erfolgt. Im Rückenmark erfolgt die Übertragung des Signals von Zelle zu Zelle analog zur Übertragung des Signals an der neuromuskulären Synapse. In diesem Fall allerdings durch den Neurotransmitter Glutamat. Das Eintreffen des Aktionspotentials in der Synapse öffnet spezialisierte Kalziumkanäle, was zu einer Erhöhung der intrasynaptischen Kalziumkonzentration und über einen komplexen Mechanismus zur Vesikelverschmelzung und Freisetzung des Glutamats führt (Abbildung 2a, b). Die präsynaptischen Kalziumkanäle unterliegen zusätzlich einer G-Protein gekoppelten intrazellulären Regulation, die über Opiatrezeptoren gesteuert wird. Eine Inhibierung des Kanals durch Bindung körpereigener Endorphine an diese Rezeptoren führt so zu einer Regulierung der Schmerzperzeption des Körpers. Diese Tatsache macht man sich bei der Schmerztherapie mit Opiaten wie z.B. Morphium zu Nutze. Eine Gefahr in der Opiattherapie liegt allerdings in der Entkopplung der Kalziumkanäle von der G-Protein gekoppelten Regulation, was zu einer Opiattoleranz und damit zu einer verminderten Therapieeffizienz führt. ω -Conopeptide inhibieren den Kalziumkanal dagegen direkt. Durch die Blockade des Kanals wird der Kalziumeinstrom und damit die Vesikelverschmelzung verhindert und die Weiterleitung des Schmerzsignals unterdrückt. Aufgrund der hohen Spezifität des ω -Conopeptids ist diese Art der Anwendung fast frei von Nebenwirkungen (Craik et al. 2003; Jones et al. 2001). Entwicklungen in dieser Richtung werden von mehreren Firmen in Australien (AMRAD) und den USA (Elan Pharmaceuticals) verfolgt (Tabelle 2).

conoGenetix biosciences

Die beschriebenen Conopeptidwirkungen auf unterschiedlichste Ionenkanäle verdeutlichen die herausragenden Aufgaben und die Wichtigkeit von Ionenkanälen für die Funktions- und Überlebensfähigkeit unterschiedlichster Zelltypen. Die korrekte Funktionsfähigkeit von Ionenkanälen ist unverzichtbar für das neuronale, neuromuskuläre und kardiovaskuläre System. Fehlfunktionen bei der kanalregulierten Ionenhomöostase führen daher zu schweren Erkrankungen, wie Schlaganfall, Epilepsie, chro-

nischem Schmerz oder plötzlichem Herztod. Trotz der offensichtlichen Bedeutung von Ionenkanälen als molekulare Zielstrukturen in diversen Indikationen, sind nur wenige Ionenkanal-aktive Substanzen (ICAS = *ionchannel-active-substances*) als Therapeutika auf dem Markt (Tabelle 3). Dieser Umstand liegt in der Tatsache begründet, dass - aufgrund der hohen Homologie der einzelnen Ionenkanalproteine - herkömmliche Therapeutika i.d.R. zu geringe Spezifitäten aufweisen, um als Arzneistoff in Frage zu kommen. Conopeptide können in diesem Bereich Abhilfe schaffen und bieten einem jungen Unternehmen auch den Markt, der nötig ist, ein erfolgreiches Geschäftsmodell zu entwickeln. In den 80er und 90er Jahren war die Arbeit an Naturstoffen in der Pharmaindustrie nur von geringem Interesse. Dies hat sich in den letzten Jahren grundlegend geändert. Moderne Verfahren wie die kombinatorische Chemie und mit ihr die Schaffung riesiger synthetischer Substanzbibliotheken, konnten die Erwartungen an die Menge neu zu entdeckender Wirksubstanzen nicht einmal im Ansatz erfüllen. Mit dieser Erkenntnis ist jetzt wieder eine massive Hinwendung zu modernen „alten“ Naturstoffen zu beobachten. Die *conoGenetix biosciences* fokussiert sich mit ihrem Geschäftsmodell insbesondere auf Pharma- und Biotech-Unternehmen mit neurologischen und kardiovaskulären Entwicklungsprogrammen als Kooperationspartner. Aufgrund einer flexiblen und innovativen Technologie, die auf nahezu jeder Ionenkanalplattform Anwendung finden kann, bietet die *conoGenetix biosciences* Kooperationen vornehmlich in drei Bereichen an:

Tab. 3: Problematik des ICAS-Marktes. Die Tabelle verdeutlicht die Problematik bei der Entwicklung von und den Mangel an selektiven Ionenkanal-aktiven Substanzen. Trotz der hohen wirtschaftlichen Bedeutung, ist das Verhältnis von Therapeutika zu distinkten Ionenkanal-Zielstrukturen so hoch, wie in keiner anderen Gruppe.

Zielstrukturklasse	Verfügbare Therapeutika	Anzahl der Zielstrukturen	Therapeutika je Zielstruktur	Marktvolumen in Mrd. US\$
7 TMR's	38	25	1.5	21.3
Enzyme (non Protease)	28	15	1.9	16.8
Ionenkanäle	28	5	5.6	12.0
Nukleäre Hormonrezeptoren	20	8	2.5	7.6
Symporter	6	3	2	6.4
Pumps	4	2	2	6.0

- I. Serviceleistungen basierend auf der Identifikation neuer Peptide zum Zwecke der Zielstrukturvalidierung.
- II. Identifizierung und Evaluierung von Conopeptiden als Referenzsubstanzen in Drug Screening-Programmen.
- III. Auslizensierung und Verkauf eigener proprietärer Substanzen.

Die *conoGenetix* besitzt einen eigenen, unbeschränkten Zugang zu einer großen Anzahl von Kegelschneckenarten und damit zu einem großen Pool von Conopeptiden. In den letzten zwei Jahren konnten circa 25 neue Conopeptide identifiziert werden, weitere 1000 Klone stehen zur Analyse an. Damit besitzt die *conoGenetix* ideale Voraussetzungen zur Schaffung einer an die Bedürfnisse von Kooperationspartnern adaptierbaren Produktpipeline.

Literatur

Terlau, H., Shon, K., Grilley, M., Stocker, M., Stühmer, W. und Olivera, B.M. (1996):

- Strategy for rapid immobilization of prey by a fish-hunting cone snail. *Nature* 381: 148 – 151.
- Olivera, B.M. und Cruz, L.J. (2001): Conotoxins, in retrospect. *Toxicol* 39: 7 – 14.
- Craik, D.J., Daly, N.J. und Waite, C. (2001): The cystine knot motif in toxins and implications for drug design. *Toxicol* 39: 43 – 60.
- Alonso, D., Khalil, Z., Satkunathan, N. und Livett, B.G. (2003): Drugs from the sea: Conotoxins as drug leads for neuropathic pain and other neurological conditions. *Mini Rev. Med. Chem.* 785 – 787.
- Jones, R.M., Cartier, G.E., McIntosh, J.M., Bulaj, G., Farrar, V.E. und Olivera, B.M. (2001): Composition and therapeutic utility of conotoxins from genus *Conus*. Patent status 1996 - 2000. *Exp. Opin. Ther. Patents* 11(4): 603 - 623

Korrespondenzadresse

Dr. Andreas Klostermann
conoGenetix biosciences GmbH
 Am Klopferspitz 19, D-82152 Martinsried
 Tel.: ++49 (0) 89 7408 0520
 Fax: ++49 (0) 89 7408 0588
 URL: www.conogenetix.de

Stipendien für FENS Forum 2004

Folgende Teilnehmer am FENS Forum 2004 in Lissabon erhalten ein Reisestipendium der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft/Neuroforum in Höhe von 500,- Euro

Barrachina Castillo, Martha (Institute of Neuropathology; L'Hospitalet de Llobregat, Spain)

Bast, Tobias (Department of Neuroscience; University of Edinburgh, UK)

Bokor, Hajnalka (Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Ungarn)

Frowein, Julia von (Max-Planck-Institut für Neurobiologie; München)

Gärtner, Anette (MRC LMCB University College London, UK)

Herbert, Zsófia (Institut für Anatomie II, FSU Jena)

Kaiser, Marcus (Internationale Universität Bremen)

Meier, Jochen Christian (Institut für Physiologie; Charité Berlin)

Meuth, Sven (Institut für Physiologie; Otto-von-Guericke Universität Magdeburg)

Timmer, Marco (Institut für Neuroanatomie; Universität Hannover)

Winner, Beate (Institut für Neurologie; Universität Regensburg)

Zhelyaznik, Nina (Institut für Biologie II; RWTH Aachen)

Zur Nieden, Robin (Allgemeine Zoologie; Universität Kaiserslautern)

Zorawski, Michael (Center for Cognitive Neuroscience; Duke University Durham, USA)

Kellendonk, Christoph (Center for Neurobiology and Behavior; Columbia University, New York, USA)



Neuroforum vergibt Stipendien für FENS Forum in Lissabon

Neuroforum hat die Stipendien der NWG für das FENS Forum in Lissabon (10. - 14. Juli 2004) um zwei weitere ergänzt. Diese wurden jungen Wissenschaftlern zugedacht, die sich zur Zeit zu einem Forschungsaufenthalt im Ausland befinden und die das FENS Forum in Lissabon nutzen können, wieder Kontakte mit heimischen Labors zu knüpfen, um die Rückkehr nach Deutschland vorzubereiten. Im folgenden stellen sich die beiden Stipendiaten kurz vor.

Michael Zorawski, Durham, North Carolina, USA



Ausbildung

- Postdoktorand (Dr. Kevin LaBar) - Center for Cognitive Neuroscience, Duke University, Durham, NC, USA
- PhD, Behavioural Neuroscience (Dr. Simon Killcross) - Cardiff University, Cardiff, UK; Dissertation: „*Glucocorticoids in associative learning and memory consolidation*“
- BSc (Psychologie) - University of York, UK & University of California San Diego, USA

Gegenwärtige Forschung

(Center for Cognitive Neuroscience, Duke University) Emotional memory (implicit and

explicit) in humans: individual differences, role of cortisol, neural correlates (behavioural and psychophysiological measures, ERPs, lesion studies).

Forschungsinteresse

Ich interessiere mich dafür, wie sich Stress und Emotionen auf die Gedächtnisbildung auswirken. Zudem plane ich, mich in Zukunft zunehmend mit den klinischen Implikationen dieses Zusammenspiels auseinanderzusetzen (z.B. PTSD, Drogensucht).

Publikationen

- Zorawski, M. und Killcross, S. (2002): Posttraining glucocorticoid receptor agonist enhances memory in appetitive and aversive Pavlovian discrete-cue conditioning paradigms. *Neurobiology of Learning and Memory* 78(2): 458-464.
- Zorawski, M. und Killcross, S. (2003): Glucocorticoid receptor agonist enhances Pavlovian appetitive conditioning but disrupts outcome-specific associations. *Behavioral Neuroscience* 117(6): 1453-1457.

Verfügbarkeit: ab Januar 2005

Kontaktadresse

Dr. Michael Zorawski
Center for Cognitive Neuroscience
Duke University
B203, LSRC, Box 90999
Durham, NC 27708, USA
Tel.: ++1 (919) 668 3101
Fax: ++1 (919) 681 0815
e-mail: zorawski@duke.edu

Christoph Kellendonk, New York, USA



Ausbildung

- Seit 01.08.1999 Postdoktorand im Labor von Prof. Eric R. Kandel, HHMI, Columbia University, New York, USA
- 12.02.1998-30.07.1999 Postdoktorand im Labor von Prof. Günther Schütz, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg
- 01.09.1994-12.02.1998 Doktorarbeit an der Ruprecht-Karls-Universität in Heidelberg, Germany. „Inaktivierung des Glukokortikoidrezeptors im Gehirn mit Hilfe eines bakteriellen Rekombinationssystems“ im Labor von Prof. Günther Schütz am Deutschen Krebsforschungszentrum
- 01.10.1988-25.06.1994 Studium der Biologie (Diplom) an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen

Forschungsinteresse

Kognitive Defizite, z.B. Defizite im Arbeitsgedächtnis, sind zentrale Symptome der Schizophrenie, die einen hohen Aussagewert über die Langzeitprognose der Krankheit haben. Leider lassen sich kognitive Defizite mit den derzeitigen typischen und atypischen Neuroleptika nur sehr schwer behandeln. Mein Interesse ist es daher, mit Hilfe von genetisch veränderten Mäusen mehr über die molekularen Mechanismen der zugrunde liegenden physiologischen Prozesse zu erfahren.

Gegenwärtige Forschung

Im Labor von Eric Kandel habe ich zusammen mit Eleanor Simpson drei Mausmodelle erzeugt, die spezifische Hypothesen der Schizophrenie testen. Die Hypothesen sind abgeleitet von den ursprünglichen Modellen von Arvid Carlsson und Daniel Weinberger und testen, inwieweit a) eine dopaminerge Überaktivierung im Striatum, b) eine dopaminerge Fehlregulierung im Kortex und c) eine glutamaterge Unterfunktion im Kortex zu Verhaltensdefiziten in der Maus führen können, die den kognitiven Defiziten der Schizophrenie äquivalent sind. Die drei erzeugten Mausmodelle sind: a) eine selektive Überexpression des Dopamin D2-Rezeptors im Striatum, b) eine selektive Überexpression des Dopamin D1-Rezeptors im Kortex und c) eine partielle Inaktivierung des NMDA-Rezeptors in den D1-Rezeptor exprimierenden Zellen des Kortex. In allen drei Modellen kann die Transgenexpression mit Hilfe des Tetrazyklintransaktivatorsystems zeitlich reguliert werden. Überexpression von D2-Rezeptoren im Striatum beeinträchtigt das Arbeitsgedächtnis. Das Defizit ist nicht auf die akute Überexpression im adulten Tier zurückzuführen, da es durch Abschalten der Transgenaktivität nicht aufgehoben wird. Zur Zeit teste ich, ob die embryonale und/oder chronische Überexpression von D2-Rezeptoren zu morphologischen Veränderungen führt, die das beobachtete kognitive Defizit erklären könnten. Mit den beiden anderen Modellen werden zur Zeit Verhaltensexperimente durchgeführt.

Zukünftige Forschung

Die Analyse der genannten Mausmodelle möchte ich durch Erzeugung weiterer ge-

netischer Mausmodelle erweitern. Die Schwierigkeit wird darin liegen, zu berücksichtigen, dass in der Schizophrenie auf der Basis einer genetischen Prädisposition Umweltfaktoren zu entwicklungsbiologischen und physiologischen Veränderungen führen, die zum Ausbruch der diagnostizierbaren Krankheit führen. Ein Ziel ist, die zugrundeliegenden Interaktionen besser verstehen zu lernen.

Ausgewählte Publikationen

- Huang Y.Y., Simpson E, Kellendonk C. und Kandel, E.R. (2004): Genetic evidence for the bidirectional modulation of synaptic plasticity in the prefrontal cortex by D1 receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101(9): 3236-3241.
- Kellendonk C*, Eiden S*, Kretz O, Schütz G, Schmidt I, Tronche F, Simon E. (2002) Inactivation of the GR in the nervous system affects energy accumulation. *Endocrinology* 143(6):2333-40.
- Tronche F*, Kellendonk C*, Kretz O, Gass P, Anlag K, Orban PC, Bock R, Klein R, Schütz G. (1999) Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet*. 23(1):99-103.
- Kellendonk, C.*, Tronche, F.*, Casanova, E, Anlag, K., Opherk, C. und Schütz, G. (1999): Inducible site-specific recombination in the brain. *J Mol Biol*. 285(1): 175-182.

*Geteilte Erstautorenschaft

Kontaktadresse

Christoph Kellendonk
Center for Neurobiology and Behavior
Columbia University
722 West 168th Street
New York, NY 10032, USA
Tel.: ++1 (212) 543 5243
e-mail: ck491@columbia.edu

Neueintritte

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

Abel, Cornelius	(Frankfurt)
Alexander, Dr. Christiane	(Berlin)
Blaszczyk, Wanda	(Bochum)
Brandenburg, Lars-Ove	(Magdeburg)
Dangel, Aleksander	(Petersberg)
Diestel, Dr. Simone	(Bonn)
Faerber, Dr. Katrin	(Berlin)
Geiger, Matthias	(Magdeburg)
Grass, Silke	(Jena)
Hempel de Ibarra, Dr. Natalie	(Berlin)
Huegel, Christian	(Mainz)
Jalali, Rafed Arne	(Berlin)
Kemp, Anne	(Bochum)
Kluge, Christian	(Magdeburg)
Kluska, Martin	(Jena)
Kohlhof, Patricia	(Heidelberg)
Lemon, Neal	(Bochum)
Lingor, Dr. Paul	(Göttingen)
Methner, Dr. Axel	(Hamburg)
Poeschel, Beatrice	(Bochum)
Rautenberg, Andrea	(Köln)
Richter, Jan	(Greifswald)
Ruehl, Dr. Anne	(Freising-Weihenstephan)
Salmer, Dr. Benedikt	(Berlin)
Schirmer, Marko	(Hannover)
Stoppel, Christian	(Magdeburg)
Taheri Talesh, Dr. Naimeh	(Göttingen)
Tsanov, Marian	(Bochum)
Wang, Li-Ping	(Berlin)
Winter, Dr. Christine	(Berlin)
Zimmermann, Martina	(Milano)

Der Mitgliedsstand zum 30. April 2004 beträgt 1.636 Mitglieder.

Einladung zur Mitgliederversammlung auf dem FENS Forum of European Neuroscience 2004 in Lissabon (10. - 14. Juli 2004)

Die diesjährige Mitgliederversammlung der NWG wird während des FENS Forum 2004 in Lissabon stattfinden. Dazu möchten wir herzlich einladen. Sie finden die Tagesordnung im folgenden. Ergänzungen teilen Sie mir bitte bis spätestens 18. Juni 2004 mit.

Termin: Montag, 12. Juli 2004, 12.00- 13.00 Uhr
Ort: Raum 1.08

Tagesordnung

1. Begrüßung durch den Präsidenten
2. Bestätigung des Protokolls der letzten Mitgliederversammlung
3. Bericht des Schatzmeisters/Bericht der Kassenprüfer
4. Aktivitäten der Gesellschaft
5. FENS /FENS Forum 2006
6. Verschiedenes

Fehlende Mitgliederadressen

Von folgenden Mitgliedern fehlt uns die korrekte Anschrift:

Bohatschek, Marion	(vormals München)
Brand, Antje	(vormals Martinsried)
Dammermann, Dr. Björn	(vormals Hamburg)
Horstmann, Sonja	(vormals München)
Moeller, Christoph	(vormals Magdeburg)
Morgenstern, Dr. Eve	(vormals Berlin)
Riess, Prof. Dr. med. Olaf	(vormals Tübingen)
Rybak, Dr. Jürgen	(vormals Würzburg)
Schwarz, Stephan	(vormals Bonn)

Für Hinweise sind wir dankbar.



MEINUNG

Eine Chance für Europa

Hans-Joachim Pflüger

Dies sind persönliche Gedanken, die anlässlich eines Forschungsfreisemesters und eines längeren Forschungsaufenthalts in den USA zu Papier gebracht werden und die zum einfachen Nachdenken und vielleicht auch zum Widerspruch anregen. Was einem in den USA unter der Regentschaft von Präsident Bush auffällt, ist der, man möchte fast sagen, „fundamentalistisch-christliche Rechtsruck“, der dieses Land befallen hat. Dies ist zu spüren, wenn man wie ich zwar regelmäßig zu Besuch ist, aber nur in größeren zeitlichen Abständen länger, das heißt für mehrere Monate, in diesem Land weilt. Die Liste der Anzeichen ist lang, das reicht von der Bevorzugung kirchlich sozialer Gruppen gegenüber „weltlichen“ Institutionen, von dem Versuch, die Evolutionstheorie mit dem Kreationismus in der Schule gleich zu stellen, bis zu von bisher kaum mit dem Namen Amerikas in Verbindung gebrachten Maßnahmen zur Einschränkung grundlegender bürgerlicher Rechte nach dem fürchterlichen Terroranschlag in New York. Man hatte gehofft, dass das amerikanische System stärker sei als die Flucht in Restriktion und das Wegschließen seiner Feinde ohne Überwachung durch unabhängige Institutionen.

In diesen Kontext passt der Brief der „Union of concerned scientists“ (<http://www.ucsusa.org/>), der neben vielen prominenten Forscherinnen und Forschern die Unterschriften von 20 Nobelpreisträgern unter anderem derjenigen des Neurowissenschaftlers Eric R. Kandel trägt, und in dem der Regierung von Präsident Bush der Vorwurf gemacht wird, systematisch wissenschaftliche Befunde im Interesse der eigenen politischen Ansichten zurückzuhalten, zu missachten, oder gar zu verdrehen. Schlimmer noch, Kritiker der Politik der Bush-Regierung werden aus Beratungsgremien entfernt und nicht einmal durch andere Wissenschaftler sondern durch Lobbyisten ersetzt (see report unter http://www2.ucsusa.org/global_environment/rsi/rsirelease.html). Die Vorgänge sind ein Lehrstück dafür, wie eine Regierung akademischen Rat missachtet und arrogant vom Tische wischt. All dies sind Anzeichen schleichender Veränderungen im „Exportland der Demokratie“, die

Europäer zum Nachdenken anhalten müssen, und deutlich machen, wie wichtiger denn je eine eigenständige europäische Position ist.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass mir selbst zum ersten Mal deutliche Veränderungen in der Haltung der offiziellen amerikanischen Stellen gegenüber Ausländern bewusst geworden sind, als bekannt wurde, dass zur letztjährigen Tagung der „Society of Neuroscience“ einige Teilnehmerinnen und Teilnehmer kein Visum erhalten hatten. Darunter waren Forscher und Forscherinnen chinesischer und russischer Nationalität, die seit langem auf Dauerstellen in Kanada oder Schweden arbeiten. Man könnte an Zufälle denken, wenn nicht mittlerweile klar ist, dass mehr und mehr Studenten, welche in den USA studieren wollen, bzw. Forscher, die hier zu längeren Forschungsaufenthalten kommen wollen, Schwierigkeiten bei der Einreise haben. Dazu passt eine Meldung aus der New York Times vom 26. Februar 2004, in der von einem Rückgang der ausländischen Bewerber an zahlreichen amerikanischen Universitäten die Rede ist, in manchen bis zu 10%. Da im letzten Jahr etwa 586.000 ausländische Studierende an amerikanischen Universitäten eingeschrieben waren, ist das durchaus keine zu vernachlässigende Größe. Laut dem „General Accounting Office“ des Kongresses müssen ausländische Studierende außerdem im Mittel 67 Tage auf die Erteilung eines Visums warten, manche bis zu einem Jahr. Gerade die Einbindung vieler ausländischer Studenten und die vielfältigen Möglichkeiten amerikanischer Universitäten, die brilliantesten Köpfe im Lande zu behalten, macht die Stärke des akademischen Lebens in den USA aus. Sollte es hier, dank der restriktiven Politik der Regierung von Präsident Bush zu Veränderungen kommen, dann eröffneten sich hier den europäischen Ländern größte Chancen. Diese Chance müssen die europäischen und insbesondere die deutschen Universitäten begreifen und ihre ausländischen Studierenden als Chance und Bereicherung des akademischen Lebens sehen. Die Chance muss aber auch von der Politik wahrgenommen werden, indem sie die Grenzen für ausländische Studierende großzügig öffnet und diese auch später beim

Wettbewerb um Stellen zulässt. Englisch ist nach dem 2. Weltkrieg eindeutig die Sprache der Wissenschaft geworden und dies hat sich ausgezeichnet bewährt. Deshalb ist es notwendig, genügend Lehrveranstaltungen und Kurse in dieser Sprache anzubieten, damit auch ein Land wie Deutschland das „sprachliche“ Handicap ausgleichen kann. Fähigkeiten, sich in dieser Sprache auszudrücken, kommen auch den deutschen Studenten im internationalen Wettbewerb nur zugute. Zudem fördert das Zusammenleben mit ausländischen Studierenden das Verständnis für andere Kulturen, etwas, was Europäer mit gewissem Stolz dem „monokulturellen Denken“ der zur Zeit in den USA an der Regierung befindlichen Personen entgegengesetzt sollten.

Es gibt viele Amerikaner, die diese schleichenden Veränderungen genauso sehen, und an den Universitäten gibt es besonders viele davon. Amerika, und insbesondere amerikanische Universitäten, haben immer noch viel zu bieten, und der freie Geist und in großen Teilen unabhängiges Forschen verbindet europäische wie amerikanische Wissenschaftler. Es ist aber einigermaßen verblüffend zu sehen, wie es selbst in den nach eigenem Verständnis urdemokratisch glänzenden USA plötzlich matte Stellen gibt. Es bleibt zu hoffen, dass die europäischen Politiker diese einmalige Chance begreifen, gegen das „Monodengen“ der gegenwärtigen Regierung der USA ein eigenes attraktives System der Internationalität sowie kulturellen Toleranz entgegenzusetzen. Die europäischen Universitäten müssen dabei eine herausragende Rolle spielen. Sie müssen dazu attraktiv für Studenten sein und gleichzeitig aber auch genügend Stellen nicht nur für Doktoranden, sondern für Hochqualifizierte – das heißt dem wissenschaftlichen Nachwuchs als Garant zukünftigen Wohlstandes – anbieten. Vor allem beim letzten Punkt scheint die Politik taube Ohren zu haben. Dies ist aber die erste Voraussetzung, um das seit Jahren bestehende Defizit im Wissenschaftlerexport mit den USA zu vermindern. Noch nie nach dem zweiten Weltkrieg standen Europas Chancen so gut.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Hans-Joachim Pflüger
 FU Berlin, Institut für Biologie,
 Neurobiologie
 Königin-Luise-Str. 28-30
 14195 Berlin
 Tel.: ++49 (0) 30 838 54676
 Fax: ++49 (0) 30 838 55455
 e-mail: pflueger@neurobiologie.fu-berlin.de



Dieser Preis wird verliehen durch die Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. für herausragende Arbeit auf dem Gebiet der Entwicklung neuer Technologien in der Hirnforschung.

Der Förderpreis von EUR 2.500,- soll junge Wissenschaftler/innen bis zu einem Alter von 35 Jahren unterstützen. Voraussetzung ist eine durch Publikationen dokumentierte hervorragende Forschungsarbeit. Der/die Bewerber/in sollte in einem deutschen Labor arbeiten oder als Deutsche/r im Ausland tätig sein. Die Bewerbung kann entweder direkt oder durch Vorschlag erfolgen. Bewerbungen aus allen Gebieten der Neurowissenschaften sind willkommen. Eine Mitgliedschaft in der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft ist nicht Voraussetzung.

Die Preisverleihung erfolgt auf der Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2005 vom 17.-20. Februar 2005.

TILL PHOTONICS technologie-preis 2005

der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft



Die schriftliche Bewerbung soll bis spätestens 1. Juli 2004 bei der

Geschäftsstelle der
Neurowissenschaftlichen Gesellschaft
Max-Delbrück-Centrum
für Molekulare Medizin
Robert-Rössle-Str. 10
13125 Berlin

eingegangen sein.

Die Bewerbung sollte folgende
Unterlagen enthalten:

1. Lebenslauf (max. 1 Seite)
2. Publikationsliste
3. Bedeutung der Forschungsarbeit (1 Seite)
4. Optional können Stellungnahme(n) renommierter Wissenschaftler beigefügt werden.



Neugegründetes Zentrum für Neurowissenschaften in Freiburg

Michael Frotscher

Seit kurzem hat Freiburg ein Zentrum für Neurowissenschaften. Am 9. Dezember 2003 fand die Übergabe des Zentrums durch den Rektor der Albert-Ludwigs-Universität, Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Wolfgang Jäger statt. Bei diesem Zentrum handelt es sich um zweierlei: Zum einen stellt das Zentrum für Neurowissenschaften den Zusammenschluss Freiburger Neurowissenschaftler dar. Zum anderen handelt es sich aber um ein Gebäude, das für ca. 4 Millionen € vollständig restauriert wurde. Nachdem die Medizinische Fakultät beschlossen hatte, das Institut für Biophysik und Strahlenbiologie nach der Emeritierung seines letzten Direktors, Herrn Prof. Dr. W. Kreutz, nicht mehr weiterzuführen, bestand die Möglichkeit für eine neue Nutzung. Dass hierfür die Nutzung als Zentrum für Neurowissenschaften ins Auge gefasst wurde, spricht für das gewachsene Potential Freiburgs in dieser Forschungsrichtung. In der Tat gibt es neben dem Freiburger Sonderforschungsbereich 505 „Neuronale Differenzierung und Neurotransmission“, in dem überwiegend die Entwicklung synaptischer Strukturen mit interdisziplinären Ansätzen untersucht wird, inzwischen auch Arbeitsgruppen, die zu einem zweiten Sonderforschungsbereich, einem transregionalen SFB, dem SFB-TR3 „Mesiale Temporallappen-Epilepsien“, gehören. Die Arbeitsgruppen beider SFBs

wurden vor kurzem noch durch das neugegründete Graduiertenkolleg „Mechanisms of Neuronal Signal Transduction“ bereichert. Sprecher des neugegründeten Graduiertenkollegs ist Herr Prof. Bernd Fakler vom Physiologischen Institut. Er ist, wie eine ganze Rei-



he anderer neurobiologisch orientierter Professoren, erst vor kurzem nach Freiburg berufen worden. Gleichermassen haben auch die Professoren Bernd Heimrich, Jan Behrends, Norbert Klugbauer und Ralf Baumeister die Neurowissenschaften in Freiburg verstärkt. Eine im Zusammenhang mit dem Transregio-SFB neugegründete Professur für Experimentelle Epileptologie wurde kürzlich von Frau Prof. Dr. Carola Haas übernommen. Schließlich stehen auch noch weitere Besetzungen in Freiburg an. Der wichtige Lehrstuhl für

Neurologie an der Medizinischen Fakultät wird hoffentlich demnächst besetzt werden können. Zusammengenommen ist damit das Gewicht der Neurowissenschaften in Freiburg deutlich gestiegen; Ausdruck hierfür ist neben der Gründung des Zentrums für Neurowissenschaften auch die gute Platzierung Freiburgs bei der Bewerbung um ein DFG-Zentrum für Neurowissenschaften im letzten Jahr.

Drittmittelgeförderte Arbeitsgruppen aus dem Freiburger SFB 505, aber auch eine große Arbeitsgruppe von Prof. Joachim Herz (Dallas), gefördert über den Wolfgang-Paul-Preis, sind inzwischen bereits in das Zentrum für Neurowissenschaften eingezogen, das neben modernen Labors auch eine den heutigen Anforderungen entsprechende Tierhaltung beherbergt. Im schönen Vortragsraum des Zentrums finden die Kolloquien des Sonderforschungsbereichs wie auch die Seminare des Graduiertenkollegs statt. Demnächst wird im neuen Zentrum für Neurowissenschaften auch die Begutachtung des Fortsetzungsantrags des Freiburger SFBs erfolgen, der die Freiburger Neurowissenschaftler mit großen Erwartungen entgegensehen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Michael Frotscher
Geschäftsführender Direktor des Zentrums für Neurowissenschaften
Zentrum für Neurowissenschaften (ZfN) der Albert-Ludwigs-Universität
Albertstr. 23, D-79104 Freiburg.
Tel.: ++49 (0) 761 203 5056
Fax: ++49 (0) 761 203 5054
e-mail: frotsch@uni-freiburg.de

Handbuch Biopsychologie und Neurowissenschaften

Besprochen von Denise Manahan-Vaughan, Direktorin, International Graduate School of Neuroscience, Ruhr Universität Bochum, 44780 Bochum.

Ein deutschsprachiges Lehrbuch, das sich themenübergreifend mit den Bereichen Neurowissenschaften und Biopsychologie auseinandersetzt, gab es bis jetzt nicht auf dem Markt. Daher ist das „Handbuch Biopsychologie und Neurowissenschaften“ nicht nur sehr zeitgemäß, sondern auch durchaus angebracht. Das Buch bietet ein relativ prägnantes Wörterbuch, das weitgehend alle aktuellen und traditionellen Begriffe der zwei Fachgebiete umfasst sowie

eine weitreichende Auswahl von über 500 MC-Fragen (und Antworten), die als Studienhilfe und Prüfungsvorbereitung fungieren sollen.

Die Autoren haben die Unterstützung von 44 deutschen Spitzenwissenschaftlern und Wissenschaftlerinnen eingeholt, um Genauigkeit und Qualität des Buchinhaltes zu garantieren. Trotz der Abwesenheit von Bildern ist das Ergebnis eine sehr lesenswerte und verständliche Übersicht des augenblick-

lichen Kenntnisstandes im Hinblick auf die Neurowissenschaften und die Biopsychologie.

Das Wörterbuch beschäftigt sich nicht nur mit den üblichen traditionellen Begriffen der neurowissenschaftlichen und biopsychologischen Landschaft, sondern integriert auch sehr aktuelle Aspekte. Zum Beispiel wird die synaptische Plastizität nicht alleine durch die Langzeitpotenzierung (LTP) repräsentiert, sondern auch durch die oft in Lehrbüchern vernachlässigte Langzeitdepression (LTD). Die Wörterbuchdefinitionen sind klar und knapp geschrieben und bieten nützliche Literaturzitate an, die bei weiterem Interesse eine detailliertere Nachforschung ermöglichen. Das Buch ist geeignet für Studierende der Psychologie, Medizin und Biologie aber auch für Wissenschaftler aus Nachbarfächern, die sich schnell einen Überblick zu bestimmten Be-

reichen der Biopsychologie und der Neurowissenschaften verschaffen wollen.

Die Querverweisungen sind effektiv durchgeführt mit kursiv geschriebenen Wörterbuchbegriffen innerhalb des Textes, so dass klar ist, wo weitere Informationen im Buch zu finden sind. Allerdings sind die Querverweise auch manchmal frustrierend: z.B. die Metaplastizität taucht nicht als Definitionsbegriff auf, ist aber unter dem Begriff „synaptische Plastizität“ zu finden; „Umami“ verbirgt sich in „Geschmacksqualitäten“ und die bahnbrechende Theorie des motorischen Lernens und insbesondere die Pionierarbeit von Marr und Albus, tauchen erst nach zirka 2000 Wörtern des Abschnittes „Kleinhirn“ und ohne jeglichen Querverweis auf. Hier gibt es sicher noch etwas für die nächste Auflage zu tun. Die De-

initionen sind informativ, klar geschrieben und angenehm zu lesen. Lobenswert sind auch die Beschreibungen der modernen Forschungsmethoden der Biopsychologie und Neurowissenschaften von der Patch- und Voltage-Clamp-Technik (Einzellableitung) bis zu MRI und SPECT.

Die MC-Fragenkataloge sind gut ausgedacht und decken sehr viele Aspekte der Biopsychologie und Neurowissenschaften vom Grundwissen bis hin zu einzelnen Spezialgebieten ab. Besonders nützlich dabei ist, dass man das Wörterbuch gleich heranziehen kann, um die Antworten für die MC-Fragen zu finden. Auch sehr nützlich ist das Auflisten der Prüfungsgebiete (als Wörterbuchquerverweis) am Anfang jedes Fragenkatalogabschnittes.

Insgesamt ist das Buch klar und übersichtlich aufgebaut und bietet dem Leser ein Überblick über den Gesamtbereich der Neurowissenschaften und der Biopsychologie. Damit kann es einen nützlichen Beitrag zur effektiven Prüfungsvorbereitung für Studenten liefern aber auch zur schnellen und detaillierten Informationsgewinnung für Neurowissenschaftler dienen.

Stefan Gall, Rudolf Kerschreiter, Andreas Mojzisch

Handbuch Biophysikologie und Neurowissenschaften

Ein Wörterbuch mit Fragenkatalog zur Prüfungsvorbereitung

Verlag Hans Huber, 2002, geb., 466 S.

ISBN 3-456-82929-9, EUR 49,95 / CHF 86,00

Neurobiologie der Psychotherapie

Besprochen von PD Dr. Georg Juckel, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Schumannstraße 20/21, 10117 Berlin

Das von Herrn Günter Schiepek herausgegebene Buch hat das ehrgeizige Ziel, den gegenwärtigen Wissensstand neurobiologischer Mechanismen im psychotherapeutischen Prozess darzustellen. Dieser Ansatz ist uneingeschränkt begrüßenswert, da er versucht, einen uralten Graben und Streit hinter sich zu lassen. Viele Jahrzehnte waren die mehr biologisch-orientierten Psychiater der Meinung, dass psychotherapeutische Prozesse kein bzw. kein erfassbares neurobiologisches Korrelat haben. Von der psychotherapeutischen Seite aus war wiederum für lange Zeit die neurobiologische Betrachtungsweise von seelischen Vorgängen und ihren Veränderungen im Rahmen einer Behandlung suspekt. Diese beiden Lager nähern sich nun in den letzten zehn Jahren an. So ist beispielsweise um den Psychoanalytiker Mark Solms in London eine Richtung entstanden, die sich „Neuropsychanalyse“ nennt und sich eingehend zum Beispiel mit den biologischen Korrelaten von Frontalhirn-, das heißt Ich-Funktionen beschäftigt. Biologisch-forschende Psychiater haben wiederum in den letzten Jahren verschiedene Studien insbesondere im Bereich der Bildgebung durchgeführt, indem sie die durch Psychotherapie entstandenen Veränderungen versuchten „sichtbar“ zu machen. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Verhaltenstherapie bei Patienten mit einer Zwangsstörung die beispielsweise durch PET-gemessene Aktivität im orbitofrontalen Kortex wieder normalisierte.

Das Anliegen des Sammelbandes ist daher sehr ehrenvoll, jedoch entsteht beim Lesen dieses über 500 Seiten starken Buches der Eindruck, dass es zu früh kommt. Noch ist die empirische Datenlage bezüglich der Neurobiologie der Psychotherapie zu dünn, als dass sie zum gegenwärtigen Zeitpunkt umfangreich dargestellt werden kann. So finden sich als Autoren alle namhaften deutschen Experten, welche im Bereich der Psychiatrie, Psychologie, Psychosomatik und Neurobiologie Beiträge geliefert haben, die im engeren und im weiteren Sinne Bezug zum Thema der Neurobiologie von Psychotherapie haben. So reichen dann die Beiträge von eher theoretischen Beiträgen wie „Wie das Gehirn die Seele macht“ und „Komplexität und Hirndynamik“ über mehr methodische Beiträge wie „Grundlagen der funktionellen Magnetresonanztomographie“ zu eher allgemeinen Beiträgen wie „Wie verlernt das Gehirn den Schmerz“ oder „Multistabile Phänomene der Neurokognitionsforschung“ oder „Interventionseffekte auf phonologische Verarbeitung und kortikale Organisation bei Kindern mit spezifischer Sprachbeeinträchtigung“ oder „Wahn – eine neurobiologische und neuropsychologische Bestandsaufnahme“ bis hin zu einigen wenigen spezifischeren Kapiteln wie „Psychoneuroimmunologie und Psychotherapie“ oder „Datenbasiertes Real-Time-Monitoring als Grundlage einer gezielten Erfassung von Gehirnzuständen im psychotherapeutischen Prozess“.

Dieser Durchgang durch die Kapitel zeigt das Dilemma des Buches, dass bis dato noch zu wenige empirische Studien von psychotherapeutischen Prozessen mit verschiedenen neurobiologischen Messverfahren vorliegen. Daher mutet das gesamte Buch sehr theorielastig an, weite Teile sind überdies von der Systemtheorie und Synergetik von Herrn Professor Hermann Haken geprägt, der auch einige Leitworte zu diesem Buch verfasst hat. Darüber hinaus fehlt ein sehr wichtiger Aspekt, nämlich die tierexperimentelle Forschung. Gerade in letzter Zeit haben sich verschiedene Tier-Entwicklungsmodelle für psychische Auffälligkeiten etabliert, so zum Beispiel die Arbeit von Frau Professor Katharina Braun aus Magdeburg. Wie frühe Störungen, wie sie zum Beispiel bei Persönlichkeitsstörungen vermutet werden, neurobiologisch entstehen und in den sozialen Interaktionen im weiteren Leben auffällig werden, kann mit solchen Modellen studiert werden. Hier wäre eine wichtige Domäne der neurobiologischen Psychotherapieforschung anzusiedeln, wo und wie bei solchen tiefgreifenden psychischen Störungen Psychotherapie überhaupt einsetzbar wäre. Zum Beispiel wäre ein Kapitel hilfreich gewesen, das sich der Frage gewidmet hätte, inwiefern Psychotherapie welcher Couleur auch immer überhaupt neurobiologisch ein Veränderungspotential besitzt, sofern Neuroplastizität des Gehirns möglicherweise limitiert ist, bzw. psychiatrische Krankheitsverläufe möglicherweise oft auch eine Eigendynamik im Verlauf besitzen. Des weiteren würde interessieren, ob neurobiologisch eher Kurz- oder Langzeittherapien sinnvoll sind, und in welchem Lebensalter am ehesten Aussicht auf eine gute Besserung der Symptomatik erzielt werden kann. Weiterhin hätte man sich ein ethisch-philosophisches Kapitel ge-



Ausblick

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

Funktionelle Magnetresonanztomografie des menschlichen Gehirns
Peter Dechent und Jens Frahm

Experimentell Therapiestrategien akuter Rückenmarksverletzungen - eine integrative Perspektive
Jan M. Schwab, Klaus Brechtel und Christian-Andreas Müller

Proteasen als Signalmoleküle im Gehirn: Die Rolle von Protease-Aktivierten Rezeptoren
Tanuja Rohatgi, Fariba Sedehzade und Georg Reiser

Morphologie und synaptische Interaktion von Neuronen einer kortikalen Kolumne
Joachim Lübke und Dirk Feldmeyer

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
Sigmund 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
Hammelbächerstr. 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, Erfüllungs- u. Zahlungsort ist Heidelberg.

wünscht, in dem sich grundsätzlich mit der Position von Singer und anderen Hirnforschern beschäftigt wird, inwiefern Psychotherapie angesichts des Determinismus von Hirnvorgängen überhaupt eine Chance hat, eine Veränderung herbeizuführen.

Die Zusammenschau aller Kapitel ergibt den Eindruck der thematischen Divergenz. Es hätte dem Buch sehr genützt, wenn eine einheitliche Struktur und Gliederung der Kapitel wie ein strukturierendes Abstract, theoretische Einleitung, Studienlage, etc. vorgegeben gewesen wäre. Zudem ist die Überlappung mit anderen Lehrbüchern recht hoch. Viele der theoretischen Kapitel findet man von denselben Autoren auch in anderem Zusammenhang, auch wäre zu fragen, warum Einführung in die Methoden, wie zum Beispiel fMRI oder EEG in einem solchen Buch Platz haben muss, wenn sie auch in jedem anderen beliebigen Lehrbuch nachzulesen sind. Zwei letzte Punkte seien angeführt: Insgesamt wird weniger als im Bezug auf verhaltenstherapeutische Vorstellungen auf die gegenwärtige psychodynamische oder psychoanalytische Diskussion bezüglich der Neurobiologie eingegangen, hier wäre angesichts des noch nicht ganz befriedeten Schulstretites, insbesondere wenn Herr Professor Grawe eines der Geleitworte geschrieben hat, eher ein ausgewogener und integrativer Ansatz wünschenswert gewesen, ansonsten wäre eine systematischere Abhandlung der Psychotherapie der verschiedenen Krankheitsbilder schön gewesen, insbesondere der klassischen Neurosen, die weiterhin einen hohen Prozentsatz der Psychotherapien ausmachen.

Insgesamt muss man sagen, dass man auf die zweite Auflage dieses Buches in einigen Jahren gespannt sein kann, wenn wesentlich mehr empirische Ergebnisse vorliegen werden, da derzeit im Rahmen insbesondere der „Emotional Neuroscience“ viele Studien in Richtung der Neurobiologie von psychotherapeutischen Prozessen durchgeführt werden. Wenn es dann dem Herausgeber gelänge, die Autoren zu einer klaren Struktur zu verpflichten und auch inhaltlich die Kapitel auf das Generalthema „Neurobiologie der Psychotherapie“ zu fokussieren und zu verknäppern, dann könnte dieses Buch ein Meilenstein dahingehend darstellen, den Zusammenfluss dieser beiden wichtigen Forschungsströmungen, der psychologisch-psychotherapeutischen und der neurowissenschaftlichen, entscheidend gefördert zu haben.

Günter Schiepeck (Hrsg.)

Neurobiologie der Psychotherapie
Schattauer Verlag Stuttgart - New York, 2003
Geb., 552 S., 173 Abb., 15. Tab.
ISBN 3-7945-2239-7
EUR 99,00 / CHF 153,00

Call for Abstracts

30th GÖTTINGEN NEUROBIOLOGY CONFERENCE

6th Meeting of the German Neuroscience Society

Göttingen

February 17-20, 2005

Main Speakers

- ▶ **Leonardo Cohen, Bethesda, USA**
Mechanisms of cortical reorganization underlying recovery of motor function after stroke (*Ernst Florey Lecture*)
 - ▶ **Barry Dickson, Vienna, Austria**
Axon guidance at the *Drosophila* midline
 - ▶ **Christopher Miller, Waltham, USA**
Proteins that move ions across membranes: our evolving picture (*Roger Eckert Lecture*)
 - ▶ **Hannah Monyer, Heidelberg, Germany**
Molecular determinants for synchronous oscillatory network activity
 - ▶ **Bill Newsome, Stanford, USA**
Parietal cortex and the neural representation of 'value' (*Otto Creutzfeld Lecture*)
 - ▶ **Miguel Nicolelis, Durham, USA**
Computing with neural ensembles
 - ▶ **Martin Schwab, Zürich, Schweiz**
Axonal repair in the adult mammalian central nervous system
- ▶ **What the nose tells the brain – News and views in olfactory coding**
 - ▶ **Function of the glial cell line derived neurotrophic factor family in development and disease**
 - ▶ **Possible mechanisms contributing to memory consolidation during sleep**
 - ▶ **Comparative insights into genetic and activity-dependent mechanisms of CNS development**

Symposia

- ▶ **Threshold currents: modulators of neuronal excitability**
- ▶ **Amyloid and neurodegeneration**
- ▶ **Ion channels and transporters in the cochlea: from current to molecule to pathology**
- ▶ **Pushing toward the limits of what insects can know: Case studies for comparative cognition**
- ▶ **Signals in early neural development**
- ▶ **Brain plasticity and cognition: cellular mechanisms and clinical perspectives**
- ▶ **Extracellular matrix molecules in regeneration and synaptic plasticity**
- ▶ **Efference copies and corollary discharge mechanisms in sensory and mental processing**
- ▶ **Real time processing vs. variability of neural responses**
- ▶ **Plasticity and task-dependence of auditory processing**
- ▶ **The integrated role of glial cells in the CNS: new methodological approaches**
- ▶ **Cellular and molecular control of vertebrate neurogenesis**
- ▶ **Use of two-photon fluorescence microscopy to study neuronal calcium in brain slices and in the intact brain**
- ▶ **Neuronal injury and infection**
- ▶ **Nitric oxide/cyclic nucleotide signalling as regulator of developmental processes and cell motility in the nervous system**
- ▶ **New vistas on insect vision**
- ▶ **Genomic and proteomic expression profiling in neural repair**
- ▶ **Brain-computer-interfaces (BCI): neuroprotheses for the paralysed**
- ▶ **Neural mechanisms of visual perception and learning in man and monkey**
- ▶ **Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and motoneuron disease: From basic molecular and cellular mechanisms to novel clinical applications**

Chaired by Prof. Dr. Kerstin Kriegstein and Prof. Dr. Herbert Zimmermann

Abbildung: Dr. Werner Zschalig, Magdeburg

Homepage: <http://www.neuro.uni-goettingen.de>

<http://nwg.glia.mdc-berlin.de>



Deadline: August 31, 2004

Registration and Abstract Submission

The Deadline for submission of poster abstracts and registration is August 31, 2004. For abstract submission and registration please visit the meeting's website: <http://www.neuro.uni-goettingen.de>

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.
Geschäftsstelle
Meino Alexandra Gibson
Max Delbrück Center for Molecular Medicine
Robert Roessle Str. 10
D-13125 Berlin
Phone: +49 30 9406 3336
Fax: +49 30 9406 3819
eMail: gibson@mdc-berlin.de

Stipends

The German Neuroscience Society provides stipends for young qualified investigators. The deadline for application is August 31, 2004. Please send the application including

- ▶ short CV
- ▶ copy of the abstract
- ▶ list of publications
- ▶ letter of recommendation from a senior scientist

to the
Geschäftsstelle of the
Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.

Local Organization / Exhibition

Prof. Dr. Kerstin Kriegstein
Georg-August Universität
Abt. Anatomie/Neuroanatomie
Kreuzberg 36
D-37075 Göttingen
Phone: +49 551 39 7051
Fax: +49 551 39 14016
eMail: nbc@uni-goettingen.de



Thomas RECORDING GmbH

Winchester Strasse 8, Europaviertel, D-35934 Giessen, Germany
Tel: +49-(0) 641-94414-0, Fax: +49-(0) 641-94414-14, email: info@trec.biz

TETRODE / HEPTODE
Multi-Core-Electrodes
4 or 7 platinum/tungsten cores

<100µm>

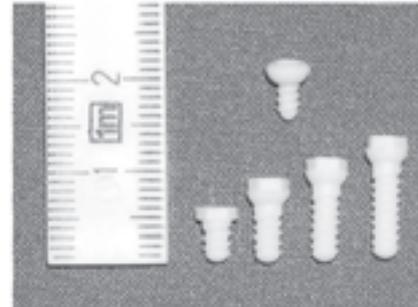


Mini-Matrix (5 channel)
Preamps, Motorcontrol, x-y-z- Manipulator



FIBER-ELECTRODE MANIPULATOR
Eckhorn-System 1-3-7-12-16-28-64 channel

CERAMIC SCREWS
Preferentially used for MRI- applications



Programmable Gain Main Amplifier



Booth 83 & 84

4th Forum of European Neuroscience July 10-14, 2004 Lisbon, Portugal

Multiple Slice Chambers
For electrophysiological recordings
Flexible base stands



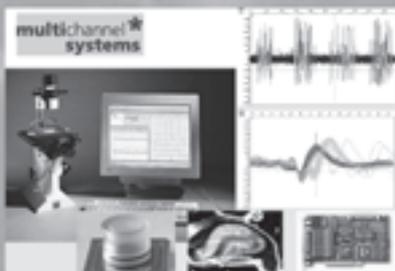
New STG2004/8 stimulators
Highest performance and flexibility



CAMPDEN INTEGRASLICE
High precision oscillating microtome
with new ceramic blades



MEA60 Multi-Electrode-Array
Now available with artefact blanking
and software selection of stimulation
electrodes



NEW!! SYNCHROSLICE NEW!!
Electrophysiological tissue slice evaluation system
Study your drug effects simultaneously
in up to 8 brain or heart slices



Visit us
at FENS Meeting
in Lisbon
July 10.-14.,
Booth 62

LR/E

Lothmann Research Equipment

LOHMANN RESEARCH EQUIPMENT

Am Förderturm 9, 44575 Castro-Raukel, Germany, Ph. +49-(0)2305-9232550, Fx. -9232551
email horst.lohmann@t-online.de http://www.lohres.de