

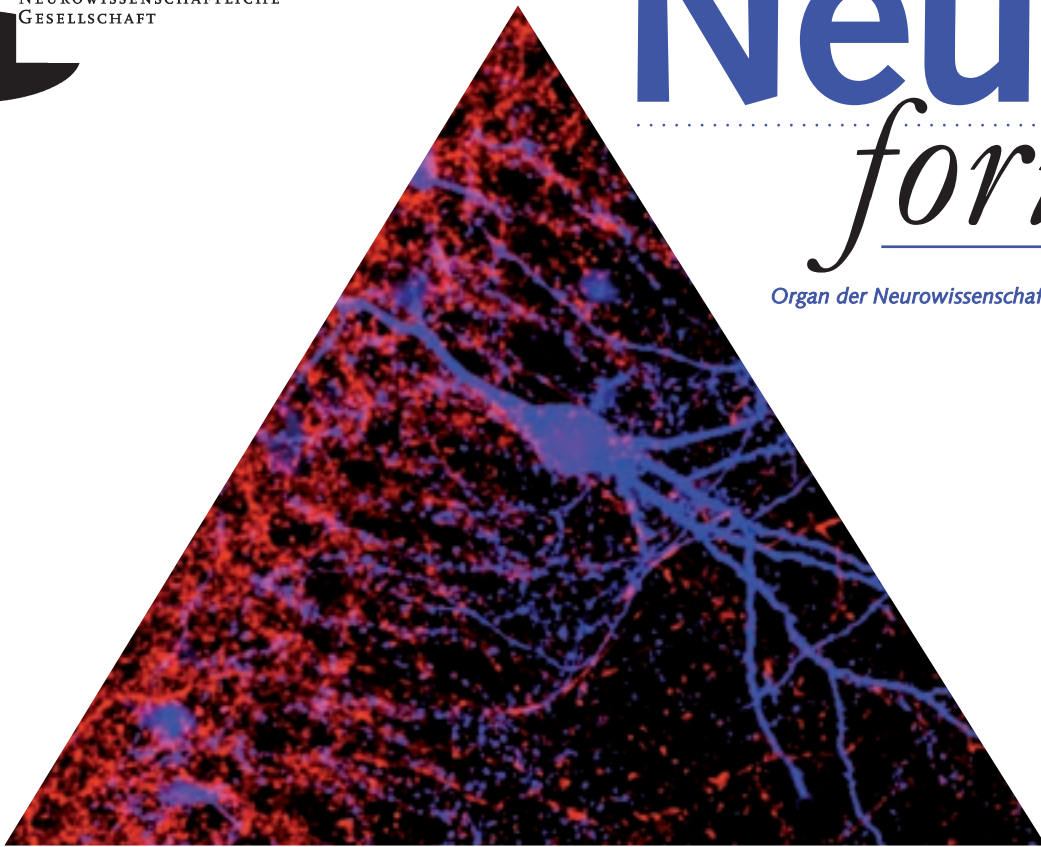
2.08

Perspektiven der Hirnforschung



# Neuro forum

Organ der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft



*Optische Messung neuronaler Netzwerkdynamik in 3D*

*Das Inflammasom: Schaltstelle zwischen Stresssignalen und der Entzündungsreaktion*

*Nikotinabhängige morphologische und funktionelle Veränderung des ZNS*

*Gehirn-Computer-Schnittstellen: Anwendungen und Perspektiven*

### ► Von den Knochen bis zur Seele



Neu!

1. Aufl. 2008, 292 S.,  
120 Abb., geb.  
€ (D) 24,95 /  
€ (A) 25,65 / CHF 41,-  
ISBN 978-3-8274-1999-6

Andreas Sentker / Frank Wigger (Hrsg.)  
**Phänomen Mensch – Körper, Krankheit, Medizin**

Der menschliche Körper ist ein Wunderwerk – und störanfällig. Wie aus einer befruchteten Eizelle ein kompletter Organismus mit Milliarden unterschiedlich spezialisierter Zellen und Tausenden ineinandergreifender Regelkreise wird, ist noch lange nicht verstanden – und die Frage, wie dieses wohlgeordnete System bei Krankheiten durcheinandergerät, ist Gegenstand intensiver Forschung. *Phänomen Mensch*, der 3. Band der ZEIT WISSEN Edition, zeigt, was Anatomen und Physiologen, Biowissenschaftler und Molekularmediziner heute über den Menschen wissen.

### ► Sind Sie noch derselbe wie vor einer Minute ... ?



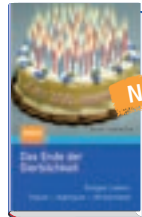
Neu!

1. Aufl. 2008, 208 S., geb. m. SU  
€ (D) 19,95 / € (A) 20,50 / CHF 32,50  
ISBN 978-3-8274-1979-8

Michael Hanlon  
**10 Fragen, die die Wissenschaft (noch) nicht beantworten kann**

Woraus besteht das Universum? Wie wirklich ist die Realität? Haben Gorillas Humor? Dieses schillernde Buch präsentiert zehn ganz unterschiedliche wissenschaftliche Rätsel, für die die Forschung noch keine Lösung gefunden hat oder deren Klärung immer wieder "in den nächsten zehn Jahren" erwartet wird. Erfahren Sie in diesem mit einem Augenzwinkern geschriebenen Werk, warum es bisher nicht gelungen ist, jene Wissenslücken zu schließen, und wie die Wissenschaftler an die teils großen, weltbewegenden, teils kleinen, alltagsnahen Fragen herangehen.

### ► Werden wir bald unsterblich sein?



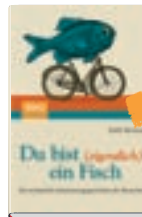
Neu!

1. Aufl. 2008, 330 S., geb.  
€ (D) 24,95 / € (A) 25,65 / CHF 41,-  
ISBN 978-3-8274-1928-6

Bryan Appleyard  
**Das Ende der Sterblichkeit**

Das Streben nach Unsterblichkeit, nach ewiger Jugend zieht sich durch die gesamte Menschheitsgeschichte. Aber erst in den letzten Jahrzehnten haben die medizinischen Wissenschaften so rasante Fortschritte gemacht, dass heute manch einer der Ansicht ist, der erste Mensch, der 1000 Jahre alt werde, sei bereits geboren. „Das Ende der Sterblichkeit“ zeichnet nicht nur die facettenreiche Geschichte unserer Unsterblichkeitsobsession nach, sondern liefert auch eine spannende Momentaufnahme der Versuche, diesen Traum zu verwirklichen.

### ► Die erstaunliche Abstammungsgeschichte des Menschen



Neu!

1. Aufl. 2008, 204 S., 24 Abb., kart.  
€ (D) 14,95 / € (A) 15,37 / CHF 24,50  
ISBN 978-3-8274-2009-1

Keith Harrison  
**Du bist (eigentlich) ein Fisch**

Wir wissen mehr über unseren Körper als jemals zuvor; warum gibt es trotzdem noch so viele offene Fragen, wie z. B. warum Männer Brustwarzen haben. Dieses Buch beantwortet viele dieser Fragen, indem es unsere biologische Herkunft verfolgt, nicht vom Affen her, sondern viel früher beginnend: beim Fisch. Leicht verständlich und faszinierend deckt dieses Buch auf, welche Eigenschaften wir von unseren Fisch-, Amphibien- und Reptil-Vorfahren sowie von vierbeinigen Säugetieren und Primaten geerbt haben.

### ► Krankheitserreger: nicht Feinde, sondern Partner des Menschen?



Neu!

1. Aufl. 2008, 330 S., geb. m. SU  
€ (D) 26,- /  
€ (A) 26,73 / sFr 42,50  
ISBN 978-3-8274-1978-1

Marlene Zuk  
**Was wäre das Leben ohne Parasiten?**

Wir empfinden Krankheit als unseren Feind, Keime und Infektionen als etwas, das es zu bekämpfen gilt. Aber tun wir ihnen damit vielleicht Unrecht? Mit ihrem unterhaltsamen und fesselnden Buch bringt uns die Evolutionsbiologin Marlene Zuk dazu, unsere instinktiven Gefühle neu zu überdenken. Für sie ist Krankheit unser Partner, nicht unser Feind. Anhand neuester Forschungsergebnisse und ungewöhnlicher Studien beschreibt die Autorin die Bedeutung von Krankheit. Ihr Buch bringt letztendlich unser Bild vom „bösen Parasiten“ gehörig ins Wanken.

### ► Auge in Auge mit unseren ausgestorbenen Vorfahren

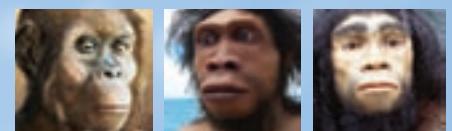


Neu!

1. Aufl. 2008, 216 S., 94 Abb., geb. M. SU  
€ (D) 39,95 / € (A) 41,07 / sFr 65,-  
ISBN 978-3-8274-1915-6

G. J. Sawyer et al.  
**Der lange Weg zum Menschen**

Zum ersten Mal können Sie in diesem Buch sämtlichen unserer ausgestorbenen Vorfahren in Form lebensnaher Rekonstruktionen Auge in Auge gegenüberreten. Die Abbildungen – spektakuläre, dreidimensionale, unter wissenschaftlichen Gesichtspunkten rekonstruierte Menschenvorfahren in ihrer natürlichen Umgebung machen die Evolution des Menschen zu einem noch anschaulicheren Erlebnis als die üblichen Knochen- und Skelettpräsentationen. Anhand ausführlicher Beschreibungen kann sich der Betrachter in die jeweiligen Lebensbedingungen dieser 22 verschiedenen Vor- und Frühmenschen hineinversetzen.

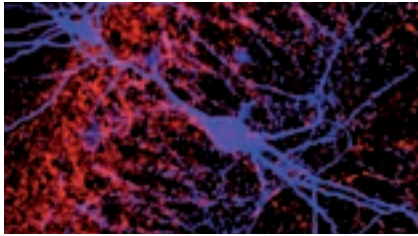


Einmalige 3D-Rekonstruktionen zeigen 22 verschiedene Vor- und Frühmenschen in ihrer natürlichen Umgebung.

### Bequem bestellen:

- direkt bei [www.spektrum-verlag.de](http://www.spektrum-verlag.de)
- per E-Mail: [SDC-bookorder@springer.com](mailto:SDC-bookorder@springer.com)
- telefonisch: + 49 6221 345-0
- per Fax: + 49 6221 345-4229
- per Post: Springer Verlag Heidelberg  
Kundenservice Bücher • Haberstrasse 7 • D- 69126 Heidelberg

Alle Preise zzgl. Versandkosten (D: € 3,50 / A: € 3,90 / CH: SFR 6,20, jeweils pro Lieferung). Sämtliche Preise inkl. Mehrwertsteuer. Preise unter Vorbehalt. Der € (A)-Preis ist uns vom dortigen Importeur als Mindestpreis genannt worden. Der sFr-Preis ist eine unverbindliche Preisempfehlung.



**Zum Titelbild: Synaptische Kommunikation in definierten Mininetzwerken. Im Beispiel wurde die Synapse zwischen einem inhibitorischen Interneuron (Korbzelle) und einem Prinzipalneuron (Körnerzelle) im Hippokampus untersucht (s. Beitrag Jonas, S. 212)**



**Vorstand der  
Amtsperiode 2007/2009**

*Präsident:*  
**Prof. Dr. Mathias Bähr, Göttingen**

*Vizepräsident:*  
**Prof. Dr. Sigrun Korsching, Köln**

*Schatzmeister:*  
**Prof. Dr. Andreas Draguhn, Heidelberg**

*Generalsekretär:*  
**Prof. Dr. Ulrich Dirnagl, Berlin**

*Sektionssprecher  
Computational Neuroscience:*  
**Prof. Dr. Ad Aertsen, Freiburg**

*Entwicklungsneurobiologie/Neurogenetik:*  
**Prof. Dr. Michael Frotscher, Freiburg**

*Klinische Neurowissenschaften:*  
**Prof. Dr. Hans-Peter Hartung, Düsseldorf**

*Kognitive Neurowissenschaften:*  
**Prof. Dr. Niels Birbaumer, Tübingen**

*Molekulare Neurobiologie:*  
**Prof. Dr. Eckart Gundelfinger, Magdeburg**

*Neuropharmakologie und -toxikologie:*  
**Prof. Dr. Rainer Schwarting, Marburg**

*Systemneurobiologie:*  
**Prof. Dr. Ulf Eysel, Bochum**

*Verhaltensneurowissenschaften*  
**Prof. Dr. Uwe Homberg, Marburg**

*Zelluläre Neurobiologie:*  
**Prof. Dr. Hanns Hatt, Bochum**

Inhalt 183

HAUPTARTIKEL

**Werner Göbel und Fritjof Helmchen** 184  
Optische Messung neuronaler Netzwerkdynamik in 3D

**George Trendelenburg** 190  
Das Inflammasom: zentrale Schaltstelle zwischen Stresssignalen und der Entzündungsreaktion bei neurodegenerativen Erkrankungen?!

**Carina Wessels und Georg Winterer** 199  
Neuronale Entwicklung: Nikotinabhängige morphologische und funktionelle Veränderungen des Zentralnervensystems

**Andrea Kübler und Christa Neuper** 204  
Gehirn-Computer-Schnittstellen (Brain-Computer Interfaces): Anwendungen und Perspektiven

ARTIKEL DES QUARTALS

**Christopher I. Petkov, Christoph Kayser, Thomas Steudel, Kevin Whittingstall, Mark Augath und Nikos K. Logothetis** 211  
A voice region in the monkey brain

FORSCHUNGSFÖRDERUNG

SFB 780: Synaptische Mechanismen neuronaler Netzwerkfunktion (Synaptic mechanisms of neuronal network function) 212

NACHRICHTEN AUS DER NEUROWISSENSCHAFTLICHEN GESELLSCHAFT

Einladung zur Mitgliederversammlung während des FENS Forum 2008 in Genf (12. – 16. Juli 2008) 198

AUSBLICK 214

IMPRESSUM 214



# Optische Messung neuronaler Netzwerkdynamik in 3D

Werner Göbel und Fritjof Helmchen

## Zusammenfassung

Die Funktionsweise des Gehirns beruht auf komplex verschalteten Netzwerken von Nervenzellen und umgebenden Gliazellen. Die Erregungsmuster in diesen Netzwerken bilden die Grundlage für die Verarbeitung sensorischer Reize, für Gedächtnisbildung, und für Verhalten. Die Messung der räumlichen und zeitlichen Aktivitätsmuster in neuronalen Netzwerken im lebenden Gehirn ist daher ein wesentliches, bisher jedoch unvollständig erreichtes Ziel der Hirnforschung. Elektrische Ableitverfahren ermöglichen zumeist nur punktuelle Messungen und auch optische Verfahren zur *in vivo* Darstellung zellulärer Aktivität, wie die 2-Photonen-Laserscanning-Mikroskopie, sind im Hinblick auf Geschwindigkeit und Bildfeld begrenzt. Insbesondere wird beim konventionellen, rasterförmigen Laserscanning die dreidimensionale Struktur neuronaler Schaltkreise im Hirngewebe nicht berücksichtigt. Hier präsentieren wir neuartige Laserscanningverfahren, die mithilfe mechanischer Schwingungen des Mikroskopobjektivs schnelle funktionelle Bildgebung in 3D ermöglichen. Die neuen Methoden erlauben Aufnahmen von 3D-Aktivitätsmustern in lokalen Netzwerken von mehreren hundert Zellen sowie neue Blickwinkel auf Erregungsmuster in einzelnen Neuronen. Sie eröffnen damit neue Möglichkeiten der *in vivo* Untersuchung neuronaler Schaltkreise.

## Abstract

### Optical 3D measurement of neuronal network dynamics

Brain function emerges from highly interconnected networks of neurons and surrounding glial cells. Dynamic activation patterns in these networks form the basis for sensory integration, memory formation and behavior. Measurement of the spatiotemporal activation patterns in neuronal networks therefore is a foremost goal of neuroscientific research, which has been, however, incompletely reached so far. Electrical recordings mostly enable selective measurements and even optical methods for *in vivo* imaging of neural activity, such as 2-photon laser scanning microscopy, are limited with respect to speed and field-of-view. In particular conventional raster-like scanning approaches neglect the three-dimensional organization of neuronal networks. Here we present novel laser scanning approaches, which use mechanical vibration of the microscope objective to enable fast 3D imaging. The new methods permit 3D measurement of the activity patterns in local networks of several hundred cells as well as new viewing angles on the excitation patterns within individual neurons. They thus open new possibilities for the *in vivo* investigation of neuronal circuits.

**Key words:** neuron; network; imaging; two-photon; calcium; *in vivo*

## Neuronale Netzwerke: Bausteine des Gehirns

Unser Gehirn besteht aus Milliarden von Nervenzellen („Neuronen“), die durch Tausende von synaptischen Verbindungen pro Zelle zu hochkomplexen Netzwerken verschaltet sind. Diese neuronalen Netzwerke sind zusätzlich in Netzwerke von Gliazellen eingebettet, die den Energiehaushalt regulieren, Reparaturaufgaben bewerkstelligen und mit den Neuronen kommunizieren. Eine wichtige besondere Eigenschaft der Neurone ist ihre elektrische Erregbarkeit,

also die Bereitschaft elektrische Spannungsimpulse („Aktionspotenziale“) auszulösen, sobald die gesamthafte Erregung durch die synaptischen Eingangssignale vorgeschalteter Neurone einen bestimmten Schwellwert übersteigt. An dieser synaptischen Integration sind insbesondere die Zellfortsätze („Dendriten“) der Neurone wesentlich beteiligt. Die erzeugten Aktionspotenziale werden dann an nachgeschaltete Neurone weitergeleitet und dort mit anderen synaptischen Eingängen verarbeitet.

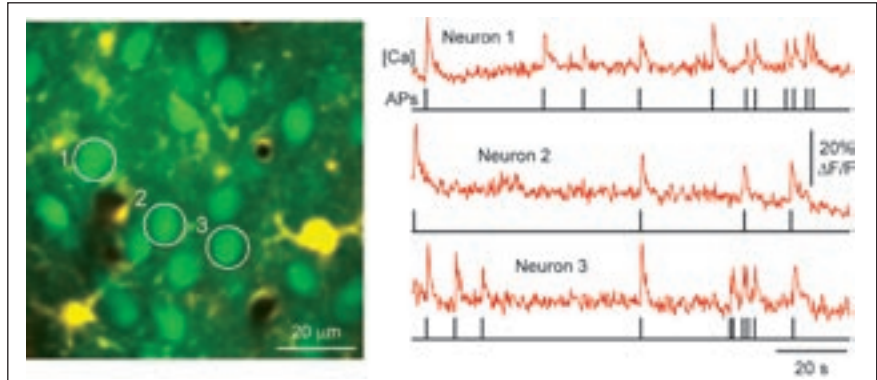
Im zentralen Nervensystem lassen sich mindestens zwei Netzwerkebenen unter-

scheiden: Erstens, die Ebene der lokalen neuronalen Schaltkreise, welche typischerweise zehntausende bis hunderttausende Neurone in Volumina von weniger als einem Kubikmillimeter umfasst. Auf dieser Ebene finden sich insbesondere eine Vielfalt von erregenden oder hemmenden lokalen Interneuronen. Eine zweite, übergeordnete Ebene bildet die langreichweitige Vernetzung solcher lokalen Schaltkreise durch zumeist erregende Nervenleitungen. Das komplexe Zusammenspiel der spezifischen Aktivitätsmuster in den lokalen Netzwerken einerseits und der globalen Erregungsweiterleitung und -verarbeitung andererseits bildet letztlich die Grundlage von Sinneswahrnehmung, Gedächtnis, Emotion, sowie von Planung und Ausführung von Verhalten.

Um den komplexen Zusammenhang kognitiver Prozesse mit der zugrunde liegenden Netzwerkaktivität zu verstehen, ist eine möglichst umfassende, zeitlich und räumlich aufgelöste Messung der neuronalen Aktivität in definierten Hirnarealen erforderlich. Während moderne bildgebende Verfahren wie das funktionelle Magnet-Resonanz-Imaging (fMRI) die grobe Darstellung der Aktivierung verschiedener Hirnareale erlaubt, sind Messungen der lokalen Netzwerkaktivität im intakten Organismus (*in vivo*) immer noch sehr schwierig. Bisherige elektrische Messverfahren mithilfe extrazellulärer Elektroden ermöglichen zwar Ableitungen von mehreren Dutzend Nervenzellen; diese Methode erlaubt jedoch kein vollständiges Erfassen der lokalen Netzwerkdynamik, z.B. in einem Hirnrindenareal, da nur ein verstreuter Bruchteil der Neurone gemessen werden kann und zumal eine Identifizierung der abgeleiteten Neurone schwierig ist. Intrazelluläre Ableitungen in Hirnschnittpräparaten (*in vitro*) liefern wertvolle Daten über die Eigenschaften einzelner Neurone und synaptischer Verbindungen; ihre *in vivo* Anwendung ist jedoch zumeist auf einzelne Neurone beschränkt. Alternativ können inzwischen verschiedene optische Verfahren, insbesondere Fluoreszenzmikroskopie, zur Charakterisierung neuronaler Aktivität in lebenden Tieren benutzt werden. Diese Methoden haben sich in den letzten Jahren sehr stark weiterentwickelt und erlauben mittlerweile *in vivo* Messungen der Erregungsmuster in lokalen neuronalen Populationen. Im Folgenden geben wir einen kurzen Überblick über die neuen optischen Verfahren und stellen dann eine Methode vor, welche die Erweiterung der Messung lokaler Netzwerkdynamik auf drei Dimensionen ermöglicht.

**Mikroskopische Einblicke ins Gehirn**

Die meisten Mikroskopieverfahren zur Messung neuronaler Dynamik beruhen auf Fluoreszenzfarbstoffen, die ihre Fluoreszenzeigenschaften in Abhängigkeit einer physiologischen Größe ändern. Die am häufigsten verwendeten Farbstoffe sind sogenannte „Kalziumindikatoren“, die auf Erhöhungen der intrazellulären Kalziumkonzentration mit einer Änderung ihrer Fluoreszenzintensität reagieren. Im Vergleich zu anderen funktionellen Farbstoffen zeichnen sich Kalziumindikatoren durch ein vergleichsweise hohes Signal-Rausch-Verhältnis aus. Außer zur Untersuchung kalziumabhängiger Prozesse sind Kalziumindikatoren insbesondere zum optischen Nachweis von Nervenzellimpulsen sehr gut geeignet. Jedes Aktionspotenzial in einer Nervenzelle ist mit einem kurzem Einstrom von Kalziumionen in die Zelle verbunden, der zu einer kurzfristigen, vorübergehenden Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration führt (Abbildung 1). Diese sogenannten „Kalziumtransienten“ sind durch einen steilen Anstieg innerhalb weniger Millisekunden gekennzeichnet und durch einen anschließenden angenähert exponentiellen Abfall zurück zur Ruhe-Kalziumkonzentration. Die Abklingzeit der Kalziumtransienten hängt von intrinsischen Eigenschaften der Zelle ab (z.B. der Dichte und Stärke von Kalzium-pumpen und Kalziumpuffern) aber auch vom verwendeten Indikatorotyp. Bei hochempfindlichen Kalziumfarbstoffen wie dem häufig verwendeten Oregon-Green-BAPTA 1 klingt das Fluoreszenzsignal nach einem einzelnen Aktionspotenzial innerhalb mehrerer hundert Millisekunden ab (Kerr et al. 2005).



**Abb. 1: Optische Messung neuronaler Aktivitätsmuster mithilfe von Kalziumindikatoren. Links: In vivo 2-Photonen-Aufnahme einer Zellpopulation in Schicht 2 der Hirnrinde einer Maus. Alle Zellen wurden unspezifisch mit einem grünen Kalziumindikator gefärbt. Astrozyten wurden mit einem roten Farbstoff gegengefärbt und erscheinen gelb-orange. Rechts: Spontane Kalziumtransienten in den drei gekennzeichneten Zellen, dargestellt als relative Fluoreszenzänderungen ( $\Delta F/F$ ). Die vermutlich zugrunde liegende Aktionspotenzialmuster sind ebenfalls eingezeichnet.**

Erst vor wenigen Jahren ist eine geeignete Färbemethode entwickelt worden, um in einem umschriebenen Gewebevolument im intakten Gehirn alle Zellen mit einem Kalziumindikator anzufärben (Stosiek et al. 2003). Dies gelang durch die Anwendung eines seit langem *in vitro* verwendeten Verfahrens, bei dem die Kalziumindikatormoleküle zunächst in membran-durchlässiger Form vorliegen, dann aber durch chemische Modifizierung innerhalb der Zellen ‚gefangen‘ werden (siehe Exkurs 1). Inzwischen hat sich dieses Verfahren zu einem Standardverfahren für die funktionelle *in vivo* Anfärbung von Neuronenpopulationen entwickelt (Garaschuk et al. 2006a; Göbel und Helmchen 2007). Neben der Anfärbung

von Neuronen ist auch die Anfärbung und Identifizierung von Gliazellen möglich, so dass sich zusätzlich neue Möglichkeiten zur optischen Untersuchung von Glia-Aktivität und ihrem Zusammenhang mit neuronaler Aktivität ergeben.

Verschiedene Mikroskopieverfahren werden zur Messung von Kalziumtransienten in Neuronen angewendet. Kamerasysteme oder die Konfokalmikroskopie erlauben die Messung von Einzelzell- und Netzwerkaktivität in Hirschnittpräparaten. Diese Techniken haben allerdings den Nachteil, dass sie aufgrund der starken Lichtstreuung von biologischem Gewebe nur eingeschränkt *in vivo* angewandt werden können. Den Durchbruch für hochauf-



# Thomas RECORDING GmbH

[www.ThomasRECORDING.com](http://www.ThomasRECORDING.com)

Tetrodes / Heptodes



Microelectrodes

Stereotaxic Instruments



Microdrives



**Visit us at FENS 2008 - Booth # 401**



## Exkurs 1

### Funktionelle Färbung neuronaler Netzwerke

Lange Zeit stellte das Anfärben neuronaler Netzwerke mit Kalziumindikatoren *in vivo* eine Herausforderung dar. Bereits Anfang der 1980er Jahre war eine Methode entwickelt worden, um große Zellpopulationen in Zellkulturen und später in Hirnschnittpräparaten anzufärben (Tsien 1981). Doch erst im Jahr 2003 konnte diese Färbemethode erfolgreich auf lebende Gehirne in betäubten Tieren übertragen werden (Stosiek et al. 2003). Das Prinzip der Methode besteht darin, dass eine chemisch abgewandelte Form des Kalziumindikators verwendet wird. Dabei sind die geladenen Moleküle durch Estergruppen maskiert, sodass der Indikator membrandurchlässig wird. Für die *in vivo* Anfärbung wird der Indikator in dieser Form mittels einer Mikropipette direkt in das Gewebe injiziert, z.B. in die oberen

Schichten der Hirnrinde. Nach passiver Diffusion der Farbstoffmoleküle in die Zellen werden dann die Estergruppen durch in der Zelle vorhandene Enzyme gespalten. Die nun wieder geladenen Indikatormoleküle können die Zellmembran nicht mehr passieren und bleiben in den Zellen ‚gefangen‘. Aufgrund dieses Mechanismus ergibt sich bei dieser Methode eine unspezifische Färbung großer Zellpopulationen von mehreren tausend Zellen in Volumina von etwa 0.5 mm Durchmesser. Durch geeignete Methoden der Gegenfärbung lassen sich zusätzlich bestimmte Zelltypen unterscheiden. Der rot fluoreszierende Farbstoff Sulforhodamine 101 (SR101) beispielsweise wird in der Hirnrinde spezifisch von Astrozyten – einem Typ von Gliazellen – aufgenommen, sodass Astrozyten bei einer Populationsfärbung mit grün fluoreszierendem Kalziumindikator vom übrigen Gewebe unterschieden werden können (Nimmerjahn et al. 2004). Ein genaues Protokoll der Populationsfärbung findet sich in (Garaschuk et al. 2006b).

lösendes *in vivo* Imaging brachte die sogenannte „Zwei-Photonen-Fluoreszenzmikroskopie“, ein Laserscanningverfahren, das Zellen und ihre Aktivität in stark streuendem Gewebe, z.B. in der intakten Hirnrinde, sichtbar machen kann (siehe Exkurs 2). Mit dem Aufkommen der *in vivo* 2-Photonen-Mikroskopie Mitte der 90er Jahre und der Entwicklung der Populati-

onsfärbetechnik im Jahre 2003 ergab sich zum ersten Mal die Möglichkeit, Aktivitätsmuster in lokalen neuronalen Netzwerken direkt *in vivo* zu beobachten.

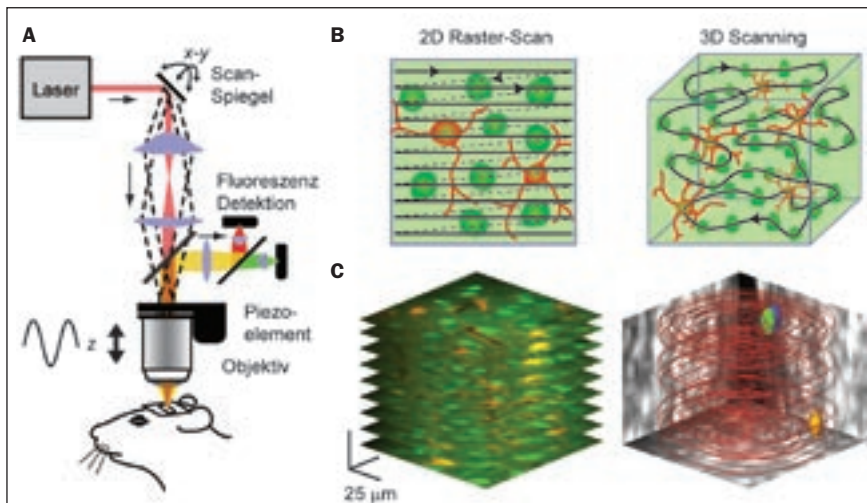
Eine erste Anwendung der neuen Möglichkeiten zur *in vivo* Messung von Netzwerkaktivität waren Untersuchungen der mikroanatomische funktionellen Organisation

der sensorischen Hirnrinde in betäubten Ratten und Katzen. Im visuellen Kortex konnten zum Beispiel Gruppen von Neuronen identifiziert werden, die auf die Orientierung visueller Reize im Bildfeld empfindlich sind (Ohki et al. 2005; Ohki et al. 2006). Ebenso konnten im somatosensorischen Kortex von Nagern zelluläre Erregungsmuster beschrieben werden, die für die Verarbeitung von Schnurrhaar-Reizen verantwortlich sind (Kerr et al. 2007; Sato et al. 2007). Insgesamt steht man jedoch erst am Anfang einer eingehenderen Untersuchung der Aktivitätsmuster in der Hirnrinde und anderen Hirnregionen.

### Dreidimensionales Laserscanning

Eine wesentliche Einschränkung der beschriebenen Methode war bisher, dass die Messung der Kalziumtransienten auf Neuronengruppen in einer einzelnen Bildebene beschränkt blieb. Der Grund hierfür ist die begrenzte zeitliche Auflösung der verwendeten Laserscanningverfahren. So stellt die gleichzeitige Messung von schnellen Fluoreszenzsignalen in vielen Zellen eine Herausforderung für die Zwei-Photonen-Mikroskopie dar. Konventionellerweise werden Fluoreszenzänderungen dadurch gemessen, dass eine Zeitserie von Bildern aufgenommen wird, wobei der Laserstrahlfokus wiederholt ein rasterförmiges Muster durchläuft (Abbildung 2). Ein solcher ‚Raster-scan‘ ermöglicht Aufnahmen mit 15 Bildern pro Sekunde und mehr, einer ausreichenden Rate, um die kurzen Kalziumtransienten, die mit einzelnen Aktionspotentialen einhergehen, aufzulösen. Allerdings bleiben schnelle Rastermessungen auf relativ wenige Zellen beschränkt, sodass nur ein kleiner Ausschnitt der dreidimensionalen (3D) Aktivitätsmuster erfasst wird. Die konventionelle Aufnahme von 3D-Bildstapeln zur Darstellung von Gewebevolumenta ist zwar für die Bestimmung morphologischer Veränderungen anwendbar, für dynamische Messungen von Zellaktivität jedoch zu langsam.

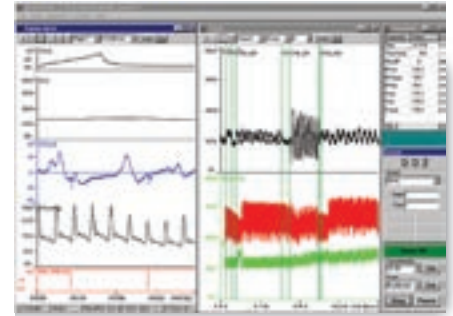
Kürzlich konnten wir die Beschränkung auf 2D-Aufnahmen durch die Entwicklung eines neuen Laserscanningverfahrens überwinden (Göbel et al. 2007). Dieses Verfahren ermöglicht schnelle Fluoreszenzmessungen von Zellpopulationen in 3D und die anschließende Visualisierung der gemessenen 3D-Aktivitätsmuster. Das Prinzip der Methode beruht auf einer geschlossenen, dreidimensionalen Scanlinie, welche wiederholt vom Fokus des Laserstrahls abgefahren wird (Abbildung 2). Zur Erzeugung der 3D-Abtastlinie benutzen wir zwei konventionelle, galvanometrisch betriebene Scanspiegel für die Ablenkung des Laserstrahls in der *xy*-Ebene sowie als



**Abb. 2:** *In vivo* 2-Photonen-Mikroskopie und Laserscanningverfahren. (A) Mikroskopaufbau für schnelles 3D-Laserscanning. Zwei Scanspiegel lenken den Laserstrahl in *xy*-Richtung ab, ein piezoelektrisches Fokussierelement dient dazu, das Mikroskopobjektiv in sinusförmige Schwingung zu versetzen. Das Fluoreszenzlicht wird in einen roten und grünen Detektionskanal aufgeteilt. (B) Links: Konventionelles 2D-Raster-scanning. Rechts: Eine geschlossene 3D-Scanlinie ermöglicht Messungen von dreidimensional verteilten Zellpopulationen. Der Weg des Laserfokus ist jeweils als schwarze Linie eingezeichnet. (C) Links: Referenzbildstapel eines gefärbten zellulären Netzwerks in der Hirnrinde. Rechts: Spiralförmige 3D-Scanlinie. Drei farbige Volumina zur Zuordnung der Fluoreszenz zu einzelnen Zellen sind exemplarisch eingezeichnet.

# NEURODYN

## Neurologische Workstation



- Somatosensorische Stimulation
  - Messung der cerebralen Aktivität
  - Messung der vaskulären Antwort
  - EEG-Analyse
  - SEP-Analyse
  - Blutfluss
- Cerebrale Autoregulation
  - Gefäß-Clamping
  - Blutdruck
- Weitere mögliche Parameter
  - Temperatur
  - Kreislauf Parameter
  - Respiratorische Parameter
  - u. a.

Das **NEURODYN** ist ein flexibles, sich Ihren Anforderungen anpassendes, modular aufgebautes System für Ihre neuronale Forschung. Die Workstation besteht aus den nötigen Hardware-Modulen und der entsprechenden Steuer- und Auswertungs-Software.

**Sprechen Sie uns an, wir beraten Sie gerne bei der Zusammenstellung Ihres individuellen Systems.**

Hugo Sachs Elektronik – Harvard Apparatus GmbH  
Grünstrasse 1 | D-79232 March-Hugstetten | Germany  
Tel (+49)(0)76 65-92 00-0 | Fax 0 76 65-92 00-90  
Email sales@hugo-sachs.de

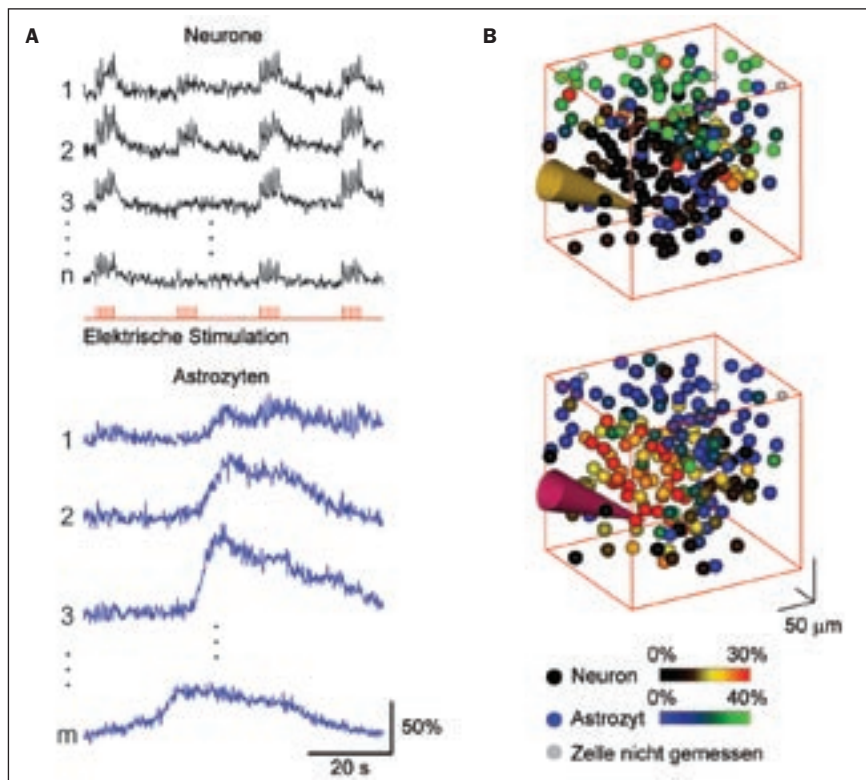
[www.hugo-sachs.de](http://www.hugo-sachs.de)

zusätzliche Komponente ein piezoelektrisches Fokussierelement zur Bewegung des Mikroskopobjektivs in  $z$ -Richtung (entlang der optischen Achse). Mithilfe des piezoelektrischen Elements kann das Objektiv in sinusförmige Schwingung versetzt werden (bis zu 0.4 mm Auslenkung). Der große Vorteil hierbei ist, dass Schwingungsfrequenzen von mehr als 10 Hz erreicht werden können. Abgestimmt auf diese Schwingung in  $z$ -Richtung werden dann die Signale für die Auslenkung des Laserfokus in der  $xy$ -Ebene berechnet. Um schnelle Abtaststraten in 3D zu erreichen, muss allerdings räumliches Auflösungsvermögen zugunsten einer höheren Zeitauflösung aufgegeben werden. Dies erfordert eine Abkehr von rasterförmigen  $xy$ -Scanmustern und die Benutzung alternativer Scanmuster. Geeignete dreidimensionale Muster können zum Beispiel durch sich öffnende und schließende Spiralen realisiert werden (Abbildung 2). Die Dichte der Spiralen und die Anzahl der durchfahrenen Spiralen pro  $z$ -Schwingung bestimmen dabei die räumliche Abtastdichte des gemessenen Volumens. Eine andere Möglichkeit ist, die verschiedenen Zellkörper gezielt in einer Art

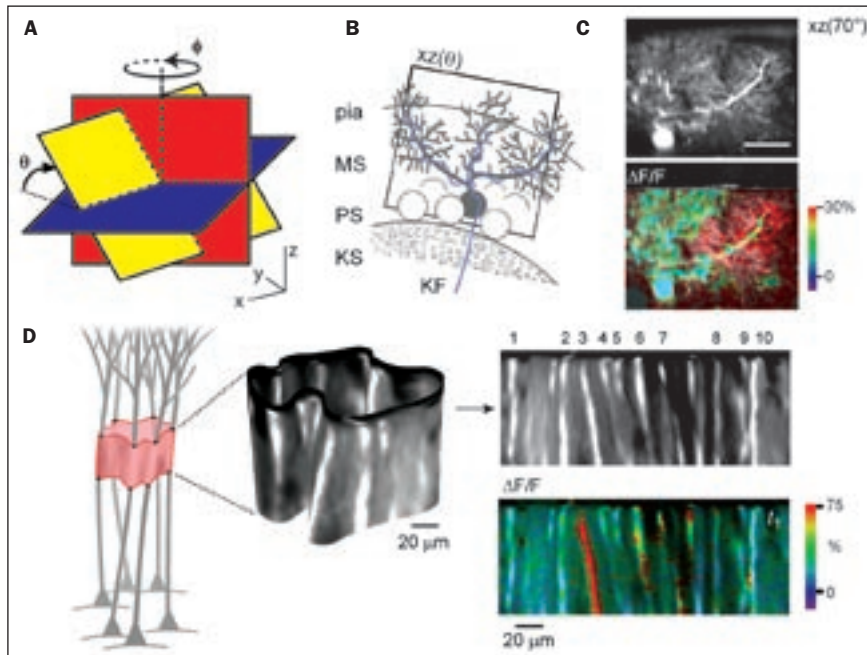
Achterbahnfahrt abzufahren. Das Hauptziel ist dabei immer, möglichst viele Zellkörper zu treffen, um ein möglichst komplettes Bild der lokalen Netzwerkaktivität zu erzielen. Wir konnten zeigen, dass für Volumina von bis zu 250 Mikrometer Seitenlänge mehr als 90% der enthaltenen Zellkörper abgetastet werden, typischerweise 300-500 Zellen. Zum ersten Mal ermöglicht die neue Methode somit Aktivitätsmessungen in lokalen neuronalen Netzwerken von mehreren hundert Zellen mit einer Zeitauflösung von zehn Messungen pro Sekunde.

### Darstellung von 3D Netzwerkaktivität

Abbildung 3 zeigt ein Beispiel einer 3D-Kalzium-Messung in der Schicht 2 der Hirnrinde einer narkotisierten Ratte. Zur Auswertung der Netzwerkaktivität müssen die Kalziumsignale den jeweiligen Zellen zugeordnet werden. Die Aufnahme eines konventionellen 3D-Bildstapels als Referenz ermöglicht es dabei, die Position einzelner Zellen sowie die anatomische Struktur des gemessenen Volumens zur 3D-Scanlinie in Beziehung zu setzen. Durch



**Abb. 3: Visualisierung dreidimensionaler Netzwerkdynamik. (A)** Beispielhaft gezeigte Zeitverläufe der Kalziumsignale in vier Neuronen (schwarz) und vier Astrozyten (blau). Extrazelluläre Strominjektion diente zur Stimulation des Netzwerks zu definierten Zeitpunkten (rot). Neuronale Kalziumtransienten korrelieren mit der Stimulation während Astrozyten wellenartige, langsame Kalziumsignale zeigen. (B) 3D-Visualisierung des gemessenen Aktivitätsmusters während einer Gliawelle (oben) und während elektrischer Stimulation der neuronalen Population (unten). Modifiziert nach Göbel et al. (2007).



**Abb. 4:** 3D-Scanverfahren zur Aufnahme dendritischer Aktivitätsmuster. (A) Beliebige Drehung der Bildebene in 3D mittels zweier Rotationen. (B) Schematischer Aufbau der Kleinhirnrinde. Die Bildebene kann auf die flachen Dendriten von Purkinjezellen ausgerichtet werden (MS-Molekularschicht, PS-Purkinjezellschicht, KS-Körnerschicht, KF-Kletterfaser). (C) Seitenaufnahme einer Purkinjezelle *in vivo*. Dendritisches Aktivitätsmuster während Kletterfaseraktivierung (unten). Die Farbe repräsentiert die Höhe des gemessenen Kalziumsignals. (D) Bandförmiges Scanverfahren zur Messung dendritischer Erregungsmuster in Pyramidalzellen in der Hirnrinde. In der aufgefalteten Version des Scanbands erscheinen Dendriten als vertikale, leicht schräge Linien, die spontane Kalziumsignale zeigen. Modifiziert nach Göbel und Helmchen (2007b).

geeignete Wahl dreidimensionaler „Volumes of Interest“ (VOI, Abbildung 2) können alle Segmente der 3D-Scanlinie, welche innerhalb eines bestimmten Zellkörpers liegen, dieser Zelle zugeordnet werden. Durch gleichzeitige Gegenfärbung der Astrozyten mit dem roten Fluoreszenzfarbstoff SR101 können Gliazel-

len und Neurone unterschieden werden. So bekommt man zwei Datensätze an Kalziumsignalen, einen für die Astrozytenpopulation und einen für die Neuronenpopulation. Eine schematische Darstellung der dreidimensionalen Netzwerkdynamik kann dann dadurch erreicht werden, dass mithilfe einer 3D-

Software farbige Kugeln an den jeweiligen 3D-Zellkoordinaten platziert werden. Ein Farbcode vermittelt die Höhe des Kalziumsignals, wobei für Neurone und Astrozyten zwei unterschiedliche Farbskalen verwendet werden (Abbildung 3). Die so rekonstruierte Populationsaktivität vermittelt erstmals einen direkten Einblick in den 3D-Aktivitätszustand eines lokalen neokortikalen Netzwerks.

Die Möglichkeit des schnellen  $z$ -Scanning kann auch für andere Anwendungen nützlich sein. So konnten wir mit der gleichen Technologie Varianten des Laserscanningverfahrens entwickeln, die sich eignen, die dendritischen Erregungsmuster in einzelnen Zellen sichtbar zu machen (Abbildung 4). Dies wird besonders deutlich am Beispiel der Purkinjezelle im Kleinhirn, die mit ihrem flachen Dendritenbaum in einer Parasagittalebene liegt. Durch Anwendung zweier Rotationen sind wir nun in der Lage, die Bildebene beliebig (und insbesondere senkrecht) zu orientieren, sodass eine direkte Ansicht der dendritischen Erregung *in vivo* möglich wird (Göbel und Helmchen 2007). In einer weiteren Abwandlung der Methode konnten wir zeigen, dass durch das Abscannen einer gekrümmten Ebene die Aktivität in Dendriten von mehreren Pyramidenzellen der Hirnrinde gleichzeitig gemessen werden kann (Abbildung 4). Der Übergang von 2D- auf 3D-Messungen kann also in vielfacher Hinsicht aufschlussreich sein.

## Fazit und Ausblick

Das hier vorgestellte neue Laserscanningverfahren für die Zwei-Photonen-Mikroskopie ermöglicht erstmals funktionelle *in vivo* Aufnahmen neuronaler und glialer Netzwerkdynamik in 3D. Die Methode nutzt dabei die Fortschritte bei der Anfärbung mit Kalzium-

## Exkurs 2

### *In vivo* 2-Photonen-Mikroskopie

Die 2-Photonen-Mikroskopie wurde vor über 15 Jahren von Denk et al. entwickelt (Denk et al. 1990). Der Aufbau eines 2-Photonen-Mikroskops ähnelt im Wesentlichen dem eines konfokalen Laserscanningmikroskops, die wesentliche Neuerung besteht allerdings in der Art der Fluoreszenzanregung: In einem 2-Photonen-Mikroskop werden Farbstoffmoleküle durch die quasi-simultane Absorption von Photonenteilen angeregt, und strahlen die angesammelte Energie wiederum als einzelnes Fluoreszenzphoton ab. Das Konzept der 2-Photonen-Mikroskopie wurde erst möglich durch die Entwicklung leistungsstarker

Laser, welche extrem kurze Lichtpulse von ca. 100 fs Dauer emittieren. Solche Lichtpulse werden in einem 2-Photonen-Mikroskop durch ein Objektiv hoher Brechkraft fokussiert. Aufgrund der geringen Anregungswahrscheinlichkeit und der nicht linearen Abhängigkeit der Anregung von Lichtintensität entsteht Fluoreszenz ausschließlich in einem Mikrometer großen Volumen direkt im Fokus des Laserstrahls. Die meisten, typischerweise im sichtbaren Bereich fluoreszierenden Farbstoffe erfordern eine 2-Photonen-Anregung durch Licht im nahen Infrarotbereich. Damit ergeben sich für die 2-Photonen-Mikroskopie verglichen mit anderen Mikroskopietechniken wie z.B. der Konfokalmikroskopie eine Reihe von Vorteilen für die Bildgebung in stark streuendem Gewebe: Erstens kann effektiv alles gesammelte Fluores-

zenzlicht als Signal verwendet werden, da es eindeutig dem Fokuspunkt des Laserstrahls zugeordnet werden kann. Eine Lochblende vor dem Detektor wie in einem Konfokalmikroskop entfällt. Zudem dringt nahes Infrarotlicht tiefer in Gewebe ein als das zur Konfokalmikroskopie verwendete sichtbare Licht. Aufgrund dieser Besonderheiten ist 2-Photonen-Mikroskopie weniger anfällig für Lichtstreuung und vorzüglich für die Untersuchung stark streuenden Nervengewebes *in vivo* geeignet (Helmchen und Denk 2005). Als Laserscanning-Mikroskopietechnik kann sich die 2-Photonen-Mikroskopie im Prinzip verschiedenster Laserscanningverfahren bedienen, unter anderem der in diesem Artikel vorgestellten neuen 3D-Scanningmethoden (siehe auch (Göbel und Helmchen 2007)).



indikatoren aus. Bisher wurden überwiegend synthetische Indikatoren eingesetzt. Genetisch codierte Kalziumsensoren, welche auf fluoreszierenden Proteinen beruhen, sind eine aussichtsreiche Alternative (Garaschuk et al. 2007; Young und Feng 2004). Sie werden gegenwärtig ständig verbessert und werden voraussichtlich bald verstärkt eingesetzt werden. Die gemessenen Kalziumsignale spiegeln indirekt die Folge neuronaler Aktionspotenziale wieder. Ein Zurückrechnen der instantanen Rate der Aktionspotenziale bzw. der Zeitpunkte der Aktionspotenziale kann im Prinzip durch mathematische Methoden der Dekonvolution oder der Mustererkennung erfolgen (Kerr et al. 2005; Yaksi und Friedrich 2006). Ein realistisches Ziel für die nahe Zukunft ist, die Empfindlichkeit der Fluoreszenzaufnahme soweit zu verbessern, dass möglichst jedes Aktionspotenzial detektiert wird. Dies würde eine komplette quantitative Charakterisierung der Netzwerkdynamik erlauben, also zum Beispiel die Analyse von Korrelationen zwischen Neuronen oder Neuronengruppen.

Im Moment ist die Zeitauflösung der 3D-Laserscanningmethode noch auf etwa zehn Messungen pro Sekunde beschränkt. Andere Laserscanningverfahren, die zurzeit in Entwicklung sind, versprechen sogar 3D-Populationsmessungen mit noch höherer Zeitauflösung (100 Messungen pro Sekunde und mehr). Diese könnten zur Untersuchung von neuronalen Oszillationen und synaptischer Plastizität sehr wichtig werden. Ein weiteres Ziel ist die Unterscheidung von bestimmten Zelltypen, insbesondere der hemmenden Interneurone. Dies kann zum Beispiel mithilfe von genetischen Fluoreszenzmarkierungen erfolgen (Sohya et al. 2007). Weitere zukünftige Anwendungen der vorgestellten Methode könnten sich auch in Verbindung mit neuartigen, genetisch codierten lichtaktivierbaren Ionenkanälen ergeben (Zhang et al. 2007). Diese Proteine könnten es ermöglichen, den Erregungszustand eines lokalen Netzwerkes nicht nur zu messen sondern auch optisch direkt zu beeinflussen.

Abschließend lässt sich sagen, dass weitere rasante Fortschritte für Netzwerkmessungen zu erwarten sind. Die Entwicklung von Fluoreszenzindikatoren und neuartigen Mikroskopietechniken ist dabei eine entscheidende treibende Kraft. Es ist zu erwarten, dass eine eingehendere Analyse von Netzwerkdynamik, basierend auf *in vivo* erhobenen Daten, unser Verständnis der Funktionsweise des Gehirns nachhaltig erweitern wird.

## Literatur

- Göbel, W. und Helmchen, F. (2007a): *In vivo* calcium imaging of neural network function. *Physiology* 22: 358-365.
- Göbel, W. und Helmchen, F. (2007b): New angles on neuronal dendrites *in vivo*. *Journal of Neurophysiology* 98: 3770-3779.
- Göbel, W. Kampa, B. M. und Helmchen, F. (2007): Imaging cellular network dynamics in three dimensions using fast 3D laser scanning. *Nature Methods* 4: 73-79.
- Helmchen, F. und Denk, W. (2005): Deep tissue two-photon microscopy. *Nature Methods* 2: 932-940.
- Stosiek, C., Garaschuk, O., Holthoff, K. und Konnerth, A. (2003): *In vivo* two-photon calcium imaging of neuronal networks. *Proc Nat Acad Sci USA* 100: 7319-7324.

Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

## Kurzbiografien

**Werner Göbel:** Geboren 1979. Doktorand in der Abteilung Neurophysiologie des Instituts für Hirnforschung der Universität Zürich.

1999-2004 Physikstudium an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg. 2002 halbjähriger Studienaufenthalt an der Universität Turin. 2003-2004 Diplomarbeit in der Abteilung Zellphysiologie am Max-Planck-Institut für medizinische Forschung Heidelberg. Seit 2004 Promotion in der Abteilung Neurophysiologie des Instituts für Hirnforschung, Universität Zürich. 2007 TILL-Photonics-Technologie-Preis der NWG.

**Prof. Fritjof Helmchen:** Geboren 1966. Leiter der Abteilung Neurophysiologie und Co-Direktor am Institut für Hirnforschung der Universität Zürich. 1987-1993 Physikstudium an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg. 1989-1992 Parallelstudium der Humanmedizin bis zum Physikum. 1994-1996 Promotion in der Abteilung Zellphysiologie am Max-Planck-Institut für medizinische Forschung Heidelberg. 1997-2000 Postdoc am Biological Computation Department der Bell Laboratories, Lucent Technologies, New Jersey, USA. 2000-2005 Forschungsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für medizinische Forschung Heidelberg. 2005 Berufung auf eine Professur für Neurophysiologie an der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich.

## Korrespondenzadresse

**Werner Göbel, Abteilung Neurophysiologie, Institut für Hirnforschung Universität Zürich, Winterthurerstraße 190, CH-8057 Zürich**  
Tel.: + 41 (0)44 635 3326, Fax: + 41 (0)44 635 3303  
E-Mail: [goebel@hifo.uzh.ch](mailto:goebel@hifo.uzh.ch)



Besuchen Sie uns noch heute auf [finescience.de](http://finescience.de)

- Bestellen Sie online
- Darstellung unserer kompletten Produktpalette inklusive Produktbeschreibungen, Abmessungen, Bildern und Preisen
- Einfache Benutzeroberfläche
- Webshop in 5 Sprachen verfügbar
- Zahlung per Kreditkarte – Lieferung auf Rechnung für Bestandskunden
- Nachverfolgung Ihrer Online-Aufträge
- Kataloganforderung oder Katalogdownload möglich



**F · S · T**

FINE SCIENCE TOOLS

FINE SCIENCE TOOLS GMBH  
IM WEIHER 12, D-69121 HEIDELBERG  
TEL: +49 (0) 6221 90 50 50  
FAX: +49 (0) 6221 90 50 590  
WEB: [WWW.FINESCIENCE.DE](http://WWW.FINESCIENCE.DE)

FINE SURGICAL INSTRUMENTS  
FOR RESEARCH



# Das Inflammasom: zentrale Schaltstelle zwischen Stresssignalen und der Entzündungsreaktion bei neurodegenerativen Erkrankungen?!

George Trendelenburg

## Zusammenfassung

Die Entzündungsreaktion spielt eine entscheidende Rolle bei der zerebralen Ischämie. Für das Auslösen der Entzündung spielen proinflammatorische Zytokine wie das Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) eine zentrale Rolle. Obwohl bekannt war, dass Caspase-1 für die Prozessierung von IL-1 $\beta$  notwendig ist, blieben die vorgeschalteten Signaltransduktionswege bis vor kurzem weitgehend unbekannt. Zuletzt ist mit der Charakterisierung des Inflammasoms die Identifizierung des Multiprotein-Komplexes gelungen, der für die Aktivierung der Caspase-1 verantwortlich ist. Die Aktivierung des Inflammasoms kann aber nicht nur zur erhöhten Interleukin-Sekretion, sondern auch zum Zelltod, oder der Entwicklung eines stressresistenten Zustandes führen. Während die Bedeutung des Inflammasoms bei systemischen entzündlichen Erkrankungen bereits gut belegt ist, bleibt die Bedeutung dieses Multiproteinkomplexes bei neurodegenerativen Erkrankungen noch zu klären. In dieser Übersichtsarbeit sollen nicht nur die zugrunde liegenden Theorien (z.B. danger theory) erörtert werden, sondern auch die assoziierten Signalwege, die zur Inflammasom-Aktivierung bei neurodegenerativen Erkrankungen führen können. Mögliche Auswirkungen der Entzündungsreaktion werden diskutiert (z.B. neurodegenerativ versus neuroregenerativ).

## Abstract

The inflammasome: central interface between stress signals and inflammatory reaction in neurodegenerative diseases?!

The central role of caspase-1 activation and IL-1 $\beta$  production in acute brain injury has been known since long time, but only recently has the multiprotein complex - the inflammasome - been characterised. The inflammasome activates pro-caspase-1 which in turn processes IL-1 $\beta$ ; however it can also under specific conditions lead to cell death. It has been shown that specific pathogens and endogenous signals activate different inflammasomes and yet, the exact contribution of each inflammasome in neurodegenerative disorders remains to be resolved. Activation of the inflammasome in neurons may lead directly to neuronal cell death, whereas at the same time activation within glial cells may induce inflammatory responses or repair mechanisms. Future research should not only focus on cell type specific and time wise activation patterns, but it should examine the differential activation patterns of the various inflammasome types responsible for regulating tissue damage during brain injury.

**Key words:** Inflammasome; Interleukin-1 $\beta$ ; cerebral ischemia; danger signal; caspase-1

## Rolle der Entzündungsreaktion bei neurodegenerativen Erkrankungen

Bei akuter Hirnschädigung wird eine Entzündungsreaktion ausgelöst, die den lokalen Gewebsschaden weiter fördert. Dabei spielt die Aktivierung des angeborenen Immunsystems eine Schlüsselrolle. Dem entsprechend findet sich bei nahezu allen neurodegenerativen Erkrankungen eine mehr

oder weniger stark ausgeprägte Aktivierung dieses Systems.

Durch die vor allem von Mikroglia unterhaltene Entzündungsreaktion werden neurotoxische Substanzen freigesetzt (Dirnagl et al. 1999) und durch *in vivo*-Modelle konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Aktivierung des angeborenen Immunsystems mit dem Ausmaß des neuronalen Schadens korreliert.

Vor allem die sogenannten Toll-Rezeptoren (toll-like receptors; TLRs) spielen eine zentrale Rolle bei der Initiierung der Aktivierung des angeborenen Immunsystems, und zwar nicht nur bei infektiösen Erkrankungen, sondern auch bei nicht-infektiösen ZNS-Erkrankungen wie der zerebralen Ischämie. Demgemäß erwies sich der Verlust verschiedener Toll-Rezeptoren (TLRs) *in vivo* beim ischämischen Hirnschaden als protektiv (Ziegler et al. 2007; Tang et al. 2007).

Analog zu den membranständigen TLRs wurden vor kurzem zytoplasmatische Proteine charakterisiert, die auch in der Lage sind, das angeborene Immunsystem zu aktivieren. Diese Proteine gehören zur Familie der NLRs (nucleotide-binding oligomerisation domain (NOD)-like receptor proteins) und haben ähnliche Eigenschaften wie die TLRs (Akira et al. 2004).

Trotz der Fülle an Daten, die für einen schädigenden Einfluss der Entzündungsreaktion beim akuten Hirnschaden sprechen, häufen sich in letzter Zeit die Anhaltspunkte für einen gleichzeitig neuroprotektiven Charakter. So kann eine lokale, limitierte Entzündungsreaktion auch zu einer beschleunigten Wundheilung führen, kann zur Gewebshomöostase beitragen und kann dabei helfen, dass im Rahmen des Gewebeschadens gebildete toxische Substanzen rascher abgebaut werden.

## Endogene Aktivierungsmechanismen des angeborenen Immunsystems

Bei infektiösen Erkrankungen wurden bereits diverse Strukturen der körperfremden Pathogene als sogenannte pathogen-assoziierte molekulare Muster (pathogen-associated molecular patterns oder PAMPs) charakterisiert, die zur Aktivierung des angeborenen Immunsystems führen. Im Gegensatz zu den körperfremden PAMPs bei infektiösen ZNS-Erkrankungen müssen bei nicht-infektiösen ZNS-Erkrankungen (wie dem traumatischen Hirnschaden oder der zerebralen Ischämie) körpereigene Substanzen der Auslöser für die Aktivierung des Immunsystems sein. Unter solchen Umständen kann die Aktivierung des Immunsystems also nicht einfach über einen Unterscheidungsmechanismus zwischen ‚fremd‘ und ‚körpereigen‘ erfolgen.

Ein entsprechendes von Matzinger et al. (2007) unter dem Namen danger theory entwickeltes Modell postuliert das Vorhandensein von endogenen Gefahrensignalen (sog. danger signals oder damage associated molecular patterns [DAMPs]). Man stellt sich vor, dass körpereigene Moleküle vom



geschädigten Gewebe freigesetzt werden und über spezielle Rezeptoren (z.B. TLRs) das Immunsystem stimulieren. In der Tat sind mittlerweile diverse endogene Gefahrensignale identifiziert worden, die offenbar die gleichen Rezeptoren wie die körperfremden PAMPs benutzen.

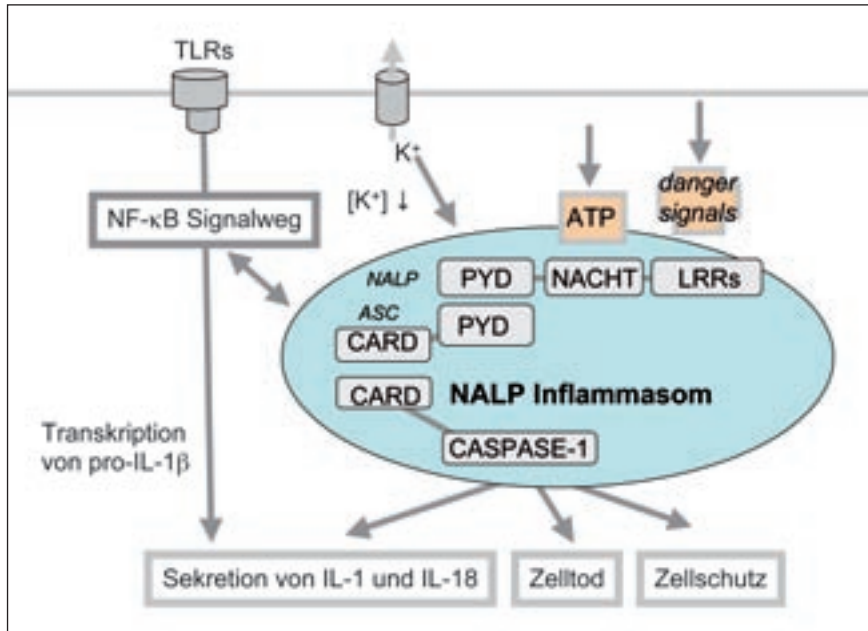
### Rolle der proinflammatorischen Zytokine wie Interleukin-1 beim akuten Hirnschaden

IL-1 mit seinen beiden Subtypen IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  wird als eines der wichtigsten proinflammatorischen Zytokine angesehen und aktiviert entweder direkt oder über die Induktion anderer Zytokine wie IL-6 oder Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) das angeborene Immunsystem. Eine Vielzahl von Beobachtungen belegt die zentrale Rolle, die IL-1 bei der Entstehung des akuten Hirnschadens spielt. IL-1 schädigt Neurone indirekt über die Aktivierung glialer Zellen und der damit verbundenen Freisetzung neurotoxischer Substanzen, hat aber auch selber direkte neurotoxische

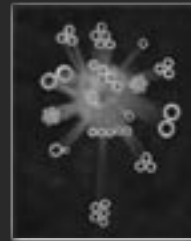
sowie neuroprotektive Eigenschaften (Allan et al. 2005). Insgesamt scheinen die bisherigen *in vivo*- und *in vitro*-Daten IL-1 jedoch eher für eine schädigende Rolle zu sprechen und die Hemmung von IL-1 hat protektiven Charakter (Allan et al. 2005; Hara et al. 1997).

Obwohl beide Subtypen (IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ ) ähnliche Funktionen ausüben, betreffen die meisten Befunde den Subtyp IL-1 $\beta$ . Im Gegensatz zu IL-1 $\alpha$  ist für die Aktivierung und Freisetzung von IL-1 $\beta$  jedoch aktive Caspase-1 nötig. Die Expression von IL-1 $\beta$  ist primär über den NF- $\kappa$ B Signaltransduktionsweg reguliert und ähnelt der Transkriptionsregulation anderer proinflammatorischer Zytokine.

Da neben IL-1 $\beta$  auch andere, Caspase-1-unabhängige proinflammatorische Zytokine wie TNF- $\alpha$  oder IL-6 einen wichtigen Beitrag bei der Initiierung der Entzündungsantwort liefern, stellt das im Folgenden erläuterte Konzept des Inflammasoms als zentrale Regulationseinheit nur ein Modell dar und ist allenfalls geeignet weitergehende Hypothesen zu generieren.

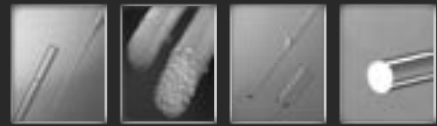


**Abb. 1: Zusammensetzung des NALP3-Inflammasoms.** Das murine NALP3-Inflammasom ist aus den Proteinen NALP3, ASC und Caspase-1 zusammengesetzt. ASC interagiert über die Pyrin-Domäne (PYD) mit dem NALP-Protein und über die CARD-Domäne mit der Caspase-1, bzw. Pro-Caspase-1. Beim humanen NALP3-Inflammasom werden zwei Pro-Caspase-1-Moleküle (das zweite via CARDINAL) in enge Nachbarschaft gebracht, sodass nach Autokatalyse am Ende die katalytisch aktiven Anteile der Caspase-1 freigesetzt werden können. NALP3 ist eine ATPase und bindet über seine NACHT (nucleoside triphosphatase [NTPase] domain)-Domäne ATP. Aktivierte Caspase-1 schneidet die Vorläuferform von IL-1 $\beta$ , nämlich pro-IL-1 $\beta$ , in seine biologisch aktive Form IL-1 $\beta$ . (TLRs: Toll-like receptors; ATP: Adenosin-triphosphate; NLRs: nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like Rezeptor; ASC: apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain; NALP: NACHT-, LRR-, und Pyrin-Domäne enthaltendes Protein; LRR: leucine rich repeats).



### Glaskapillaren

in verschiedenen Formen, Längen & Glasarten bestens geeignet zur Herstellung von Mikropipetten und Mikroelektroden



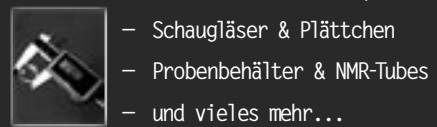
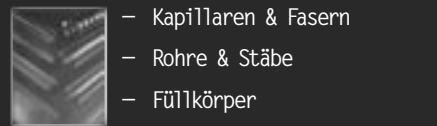
### Mikropipetten

vorgezogene Mikropipetten und Mikroelektroden gefertigt nach Ihren Wünschen aus hochwertigem Borosilicatglas oder Sondergläsern



### Füllnadeln

Spezialnadeln aus Glas mit Luer-Anschluss. Ideal zum blasenfreien Befüllen von Mikropipetten bis in die Spitze





**Aktivierung der Caspase-1:  
das Inflammasom**

Ein entscheidender Durchbruch bei der Charakterisierung der Signalwege, die zur Caspase-1- Aktivierung führen, ist mit der Identifizierung des ‚Inflammasoms‘ gelungen. In Analogie zur Aktivierung von Caspase-9 oder -8 durch das Apaf-1 (Apoptose Protease-Aktivierungsfaktor 1)-Apoptosome oder den Fas/CD95-DISC (death inducing signaling complex) wird Caspase-1 durch einen ca. 700 kDa großen Multiprotein-komplex – das Inflammasom – aktiviert (Martinon et al. 2002). Wie die beiden zuvor erwähnten Caspase aktivierenden Multiproteinkomplexe, sind auch die Bestandteile des Inflammasoms im Zytoplasma als inaktive Monomere vorhanden, bevor sie sich nach einem entsprechenden Signal zusammenlagern und zur Aktivierung von Caspase-1 führen. Nach Oligomerisierung der einzelnen Teilkomponenten entstehen verschiedene, unterschiedlich zusammengesetzte Inflammasome, die in der Lage sind, als Reaktion auf spezifische Reize die inflammatorischen Caspasen-1 und -5 zu aktivieren, die die Vorstufen von IL-1 $\beta$ , IL-33 und IL-18 in die aktive Form umwandeln. Die Aktivierung dieses Komplexes ist eng mit anderen Signaltransduktionssystemen wie dem NF- $\kappa$ B-Signaltransduktionsweg verknüpft und

kann je nach Zelltyp zu unterschiedlichen Effekten führen: So kann die Inflammasome-Aktivierung nicht nur zur Aktivierung des angeborenen Immunsystems, sondern auch zum apoptotischen Zelluntergang führen (Abbildung 1).

*Inflammasom-Typen.* Das Inflammasome besteht aus einer Caspase (Caspase-1; beim Menschen auch aus Caspase-5); aus Mitgliedern der NOD-ähnlichen Rezeptor-Familie (NLRs) wie z.B. IPAF (ICE-Protease-aktivierender Faktor) oder NALPs (NACHT-, LRR- und Pyrin-Domänen enthaltende Proteine); und Adaptorproteinen wie ASC (Apoptose assoziiertes speckähnliches Protein mit einer CARD [Caspase-Rekrutierungs-Domäne]).

Bisher sind mindestens 3 verschiedene Inflammasome beschrieben worden: das IPAF-, das NALP1- und das NALP2/3-Inflammasom. Das IPAF-Inflammasom besteht möglicherweise nur aus IPAF und Caspase-1, während das humane NALP1-Inflammasom aus NALP1, ASC, Caspase-1 und Caspase-5 (welche nicht in Mäusen existiert) zusammengesetzt ist. Das humane NALP2/3-Inflammasom wiederum besteht neben Caspase-1 und NALP-2 oder -3 und aus CARDINAL, welches nicht bei der Maus vorkommt (Martinon et al. 2007) (Abbildung 1).

Die Mitglieder der NLR-Familie besitzen N-terminal eine CARD- oder Pyrin (PYD)-

Domäne, eine typische Nukleotidbindungs-Domäne (NACHT), und eine Ligand-Bindungsstelle, die aus leucinreichen Repeats (LRRs) besteht (Martinon et al. 2007). Das Adaptorprotein ASC ist ein unentbehrlicher Bestandteil der meisten NALP-Inflammasome und verbindet die NALP-Proteine mit Caspase-1.

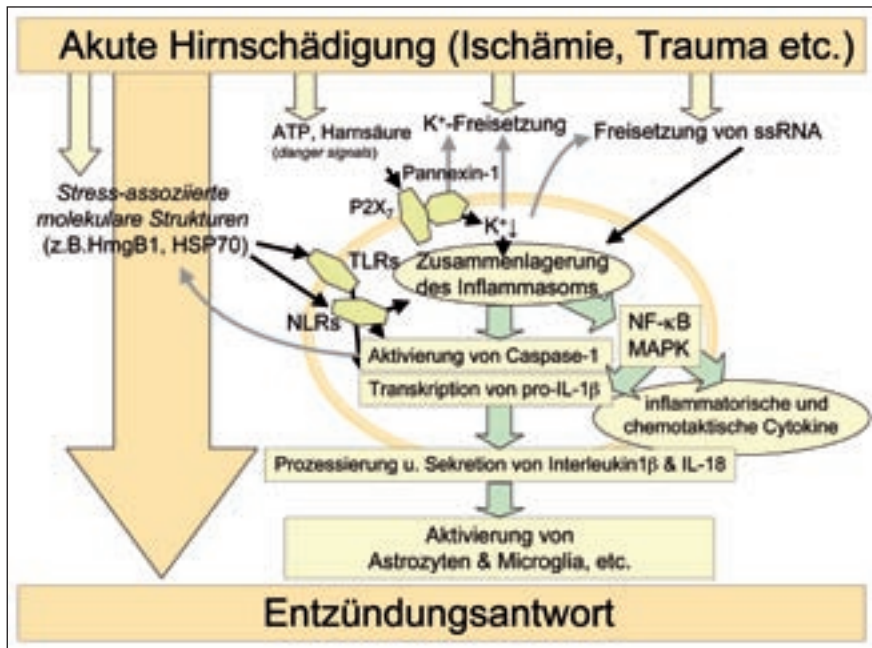
Verschiedene genetische Defekte in der Struktur von Inflammasom-Komponenten haben sich als Auslöser von hereditären Autoimmunkrankheiten herausgestellt. So werden drei autosomal dominant vererbliche Erkrankungen durch sogenannte gain-of-function- Mutationen im NALP3-Gen verursacht: das familiäre Kälte-Autoinflammations-Syndrom (familial cold autoinflammatory syndrome oder FCAS), das Muckle-Wells-Syndrom (WMS) und das chronische kindliche neurologische, kutane und artikuläre Syndrom (CINCA). Diese Erkrankungen sind durch episodisch auftretende Fieberepisoden, Hautrötungen und lokale Entzündungen charakterisiert und können durch den IL-1-Antagonisten Anakinra therapiert werden (Braddock et al. 2004). Die Mutationen eines anderen NLR-Familienmitglieds, NOD2, führen zu Autoimmunerkrankungen wie Morbus Crohn oder Blau-Syndrom verbunden.

Das Familiäre Mittelmeerfieber (Familial Mediterranean Fever oder FMF) wiederum wird durch das Fehlen eines Inflammasom-Inhibitors verursacht: Homozygote loss-of-function-Mutationen im Pyrin-Gen (dem FMF-Gen) führen über eine Enthemmung des NALP3-Signaltransduktionsweges zu einer überschießenden Entzündungsreaktion, da Pyrin vermutlich als NALP3-Aggregationshemmer wirkt (Chae et al. 2006).

**Aktivierung des angeborenen Immunsystems über Toll-like Rezeptoren (TLRs)**

Die TLR-Familie ist die bestcharakterisierte Proteingruppe, die Gefahrensignale (danger signals) bzw. die bakteriellen Erkennungsmuster (sog. pathogen associated molecular patterns oder PAMPs) bindet. TLRs sind membranständige Proteine, deren äußere Domänen vorwiegend aus leucinreichen Repeats bestehen (LRRs), und deren intravesikuläre Domäne eine sogenannte Toll/Interleukin-1 interagierende (TIR) Domäne besitzt.

Für die verschiedenen TLRs sind in den letzten Jahren diverse Liganden charakterisiert worden: So erkennt TLR2 Lipopeptide, Peptidoglykan oder Lipoteichonsäure, während TLR4 z.B. Lipopolysaccharid (LPS) erkennt. TLR3 hingegen wird durch virale doppelsträngige RNA aktiviert, und TLR5



**Abb. 2:** Die Rolle des Inflammasoms bei der Stressantwort und der Auslösung der Entzündungsreaktion (Exzitotoxine: exzitatorische Aminosäure-Rezeptor-Agonisten; HmgB1: high mobility group box protein 1; ATP: heat shock protein; IFN $\beta$ : Interferon- $\beta$ , ein Typ-I-Interferon; IL: Interleukin; MAPK: mitogen-activated protein kinase; NLR: nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor; PGE $_2$ : Prostaglandin E $_2$ ; TLR: Toll-like receptors).

erkennt Flagellin, wohingegen TLR9 unmethylierte CpG enthaltende DNA erkennt. TLR7 und TLR8 wiederum binden an einzelsträngige RNA (ssRNA) (Mariathasan et al. 2007; Akira und Takeda 2004).

Mittlerweile sind diverse von geschädigten Zellen selbst freigesetzte, oder in der Extrazellulärmatrix vorhandene Moleküle als endogene TLR-Aktivatoren identifiziert worden und stellen damit potenziell sogenannte danger signals dar.

Fast alle TLRs werden auch im zentralen Nervensystem (ZNS) und zwar vorwiegend in Mikrogliazellen gefunden und werden unter verschiedenen pathologischen Bedingungen hochreguliert (Babcock et al. 2006; Tang et al. 2007).

Ein zentraler Effekt der TLR-Aktivierung besteht darin, dass vor allem über den NK- $\kappa$ B-Signalweg die Transkription von proinflammatorischen Zytokinen stimuliert wird. Dazu werden verschiedene Signaltransduktionsmoleküle rekrutiert und aktiviert, bevor der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B die Zytokine wie IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  oder IL-6 induziert (Beutler et al. 2006).

Nicht nur aufgrund einer Vielzahl von bekannten Liganden werden vor allem TLR2 und TLR4 als wichtigste TLRs bei akutem Hirnschaden angesehen (Babcock et al. 2006; Tang et al. 2007) und ihre funktionelle Bedeutung beim ischämischen Schlaganfall wurde bereits mittels *in vivo*-Modellen gezeigt (Babcock et al. 2006; Tang et al. 2007; Ziegler et al. 2007; Kielan et al. 2006). Außerdem erhöhen Polymorphismen des TLR4-Gens das Risiko, einen ischämischen Schlaganfall zu erleiden (Lin et al. 2005).

Die Toll-Rezeptoren TLR-3,-7,-8 und -9 repräsentieren weitere Rezeptoren, die für die Aktivierung der angeborenen Immunantwort wichtig sein könnten. Diese Rezeptoren erkennen normalerweise bakterielle oder virale Nucleinsäuren, können aber auch unter bestimmten Situationen mit körpereigenen Nucleinsäuren reagieren.

TLR9 zum Beispiel reagiert normalerweise mit bakterieller oder viraler DNA, die unmethylierte CpG-Motife besitzt. Da jedoch auch im normalen Säugetiererbgut unmethylierte CpG-Nucleotide vorkommen, kann TLR9 auch mit dieser DNA reagieren,

wenn Sie unter pathologischen Umständen freigesetzt wird (Beutler et al. 2006). Erst kürzlich wurde im Maus-Schlaganfallmodell demonstriert, dass TLR9-Signaltransduktionswege auch therapeutisch genutzt werden können (Stevens et al. 2008).

Die Vielzahl an Daten, die einen schädigenden Einfluss der TLRs bei der Entstehung des Hirnschadens belegen, schließt aber nicht aus, dass TLRs auch einen günstigen Einfluss auf die Regenerationsfähigkeit, das neuronale Überleben, oder die Modulation der Neurogenese haben, wie bereits für TLR2 und TLR4 gezeigt werden konnte (Babcock et al. 2006).

### Aktivierung des Inflammasoms und NLRs

Während die extrazellulären bakteriellen oder endogenen Gefahrensignale (PAMPs und DAMPs) vorwiegend über die TLRs erkannt werden, ist die Überwachung des Zytoplasmas wahrscheinlich Rolle der NLRs (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors). Die NLR-Familie

# 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



Electrophysiology

Electrochemistry

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





besteht aus 23 löslichen zytosolischen Proteinen, die NALPs, NODs und IPAF umfasst. All diese Proteine werden primär in immunkompetenten Zellen exprimiert, obwohl einzelne Proteine wie z.B. das NOD1 auch ubiquitär exprimiert werden.

In Analogie zu den membranständigen TLRs wird vermutet, dass auch die zytosolischen NLRs die spezifischen Liganden über ihre LRR-Domänen erkennen. Mittlerweile sind auch für die verschiedenen NLRs unterschiedliche Agonisten identifiziert worden: So spielen für die Aktivierung des NALP3-Inflammasoms vor allem gram-positive Erreger wie *Staphylococcus aureus* oder *Listeria monocytogenes* eine Rolle, während gram-negative Erreger wie *Salmonella typhimurium*, *Legionella pneumophila* oder *Shigella flexneri* das IPAF-Inflammasom aktivieren (Mariathasan et al. 2007).

Neben den bakteriellen Agonisten sind auch körpereigene Substanzen identifiziert worden, die die verschiedenen Inflammasom-Typen aktivieren können. So erkennt NALP3 zum Beispiel Harnstoffkristalle, Kalziumpyrophosphatkristalle sowie das Abfallen der intrazellulären Kaliumkonzentration. Insofern können wahrscheinlich alle Umstände, die zu einer Reduzierung des intrazellulären Kaliumspiegels führen, zu einer Aktivierung des NALP3-Inflammasoms führen: also verschiedene Toxine, hypotoner Stress, Ionophoren oder hohe extrazelluläre ATP-Konzentrationen (Petrilli et al. 2007).

### Wechselwirkungen zwischen den TLRs und den NLRs und dem Inflammasom

Das Erkennungssystem von bakteriellen oder endogenen danger signals umfasst neben den bereits erwähnten TLRs und NLRs auch eine dritte Protein-Familie, die sogenannten Retinolsäure-induzierbare I (RIG-I)-ähnlichen Helicasen (RLHs; wie z.B. RIG-I und MDA5 für Melanom-Differenzierungs-assoziiertes Gen 5). Auch diese Helicasen können neben viraler RNA auch wirtseigene RNA binden.

Diese verschiedenen Erkennungssysteme für körperfremde oder stressassoziierte Substanzen interagieren auf verschiedene Weise miteinander: TLR-Liganden wie Flagellin oder einzelsträngige RNA (ssRNA) aktivieren nicht nur TLRs, sondern auch das Inflammasom (Kanneganti et al. 2006). TLR-Agonisten können nicht nur die Transkription von pro-IL-1, sondern auch die von NLRs (z.B. NALP3), von Caspase-1 oder Caspase-11 induzieren (Mariathasan et al. 2007; Kanneganti et al. 2006; Martinon und Tschopp 2004). Andererseits sind pro-inflammatorische Zytokine

wie IL-1 in der Lage, auch selber den NF- $\kappa$ B-Signaltransduktionsweg zu aktivieren. Weitergehend wurde schon gezeigt, dass Caspase-1 das wichtige TLR-assoziierte Adaptorprotein MAL (MyD88 adaptor like; bzw. TIRAP) schneiden kann, dessen Verlust einem kardialen Ischämiemodell protektiv war.

Aber auch auf anderem Weg interagieren einzelne NLRs (z.B. NOD-1,-2) mit TLR-Signalwegen: z.B. ist das Adaptorprotein RICK (RIP-like interacting CLARP kinase) in die Informationsverarbeitung beider Rezeptorgruppen – der TLRs und der NLRs – involviert (Kobayashi et al. 2002), obwohl diese Ansicht nicht unumstritten ist (Park et al. 2007). NOD2 wird durch TLRs induziert, moduliert TLR-vermittelte Signale und verursacht – genauso wie TLR2 – in einem Sepsismodell frühen neuronalen Zellschaden.

### Potenzielle Gefahrensignale bei akuter Neurodegeneration

Insbesondere weil neben den TLRs auch verschiedene NLRs und Inflammasom-Komponenten im ZNS exprimiert werden, kann man davon ausgehen, dass das Inflammasom eine wichtige Rolle bei der Entzündungsreaktion nach Hirnschädigung spielt. Verschiedene endogene von untergehenden Zellen freigesetzte Liganden kommen als Inflammasom-Aktivatoren bei neurodegenerativen Erkrankungen in Frage (Kanneganti et al. 2006): z.B. können RNA oder DNA nach ihrer Freisetzung aus nekrotischen Zellen sowohl TLRs als auch das Inflammasom aktivieren (Matzinger 2007; Martinon 2007) (Abbildung 2).

In Angesicht der Vielzahl von Inflammasom aktivierenden Substanzen kann man davon ausgehen, dass es wahrscheinlicher ist, dass die Aktivierung des Inflammasoms eher über einen gemeinsamen intrazellulären Botenstoff stattfindet, als durch eine direkte Interaktion mit dem Inflammasom. Möglicherweise spielt der Abfall der intrazellulären Kaliumkonzentration oder die Bildung von Harnsäure eine entscheidende Rolle (Petrilli et al. 2007). Geschädigte Zellen degradieren ihre Nukleinsäuren rasch und die dabei freigesetzten Purine werden in Harnsäure umgewandelt, welche Monosodium-Urat (MSU)- Kristalle bildet, die wiederum TLRs oder NALPs aktivieren, und so zur Caspase-1-Aktivierung bzw. IL-1 $\beta$ -Produktion führen (Martinon et al. 2006, 2007). Hohe Serum-Harnsäurespiegel sind mit einer schlechteren Prognose von Schlaganfall-Patienten korreliert.

Einen andere Gruppe endogener TLR-Liganden stellt die Familie der Hitze-Schock-

Proteine (HSP oder heat shock proteins) wie HSP-60,-70 oder -90 dar. Erst in jüngster Zeit sind diese auch als Inflammasom-Agonisten beschrieben wurden (Mayor et al. 2007). Die HSPs werden rasch von nekrotischen Zellen freigesetzt, aber nicht von apoptotischen Zellen. Obwohl sie als vorwiegend neuroprotektiv angesehen werden, können diese Proteine auch eine Inflammationsantwort auslösen (Dirnagl et al. 1999, 2003).

Erhöhtes extrazelluläres ATP und Kaliumausstrom repräsentieren weitere möglicherweise bei der zerebralen Ischämie entscheidende Mechanismen zur Erkennung des Gewebssresses. Beide, ATP und K<sup>+</sup>, sind wahrscheinlich maßgeblich bei der Entstehung des zerebralen Gewebsschadens involviert und führen zu einer Inflammasom-Zusammenlagerung und -Aktivierung (Gurcel et al. 2006).

Durch eine hohe extrazelluläre ATP-Konzentration kommt es zu einer P2X<sub>7</sub>-Rezeptor-Aktivierung, die über den assoziierten Halbkanal Pannexin-1 zum Kaliumausstrom und schließlich zu einem Abfall der intrazellulären Kaliumkonzentration führt, welche NALP-Inflammasome aktiviert (Petrilli et al. 2007). *In vitro*-Befunde belegen, dass die Konzentration des extrazellulären ATP bei ischämischen Stress mit dem Ausmaß des neuronalen Zelltodes und der Inflammationsantwort korreliert.

Obwohl die ATP-Konzentrationen unter Entzündungsbedingungen gewaltig steigen können, werden die für eine Aktivierung von Caspase-1 nötigen ATP-Konzentrationen im extrazellulären Milieu wahrscheinlich jedoch nicht erreicht (Dirnagl et al. 1999; Kanneganti et al. 2007). Und trotz aller Indizien, die für eine wichtige Rolle des beschriebenen P2X<sub>7</sub>-Systems für den neuronalen Zelltod beim Schlaganfall sprechen, muss man berücksichtigen, dass sich das Infarktvolume von P2X<sub>7</sub>-Knockout-Mäusen nicht signifikant von dem von Wiltyp-Vergleichstieren unterscheidet.

Das Komplementsystem könnte im Übrigen ebenso über einen K<sup>+</sup>-Ausstrom zur Caspase-1-Aktivierung beitragen, da bei der Entstehung des terminalen Membran-Komplexes ebenso die Zellmembran perforiert wird. Beide, sowohl die TLR-Familie, als auch das Komplementsystem, stellen zwei gut bekannte Arme des angeborenen Immunsystems dar und beide Systeme interagieren auch *in vivo* miteinander. Dennoch ist der genaue Beitrag, den das Komplementsystem zur Entstehung des neurodegenerativen Gewebsschadens liefert, noch umstritten (Del Zoppo 1999).

Heparansulfat, ein biologisch aktives Saccharid, welches während einer Ent-

zündung freigesetzt wird, ist in der Lage bestimmte Zellen genauso stark wie LPS zu aktivieren und repräsentiert damit ein weiteres potenzielles Gefahrensignal bei der zerebralen Ischämie. Heparansulfat kann wie die verwandte Hyaluronsäure an TLR4 binden. Mrp8 (myeloid related protein 8), ein weiterer TLR4-Agonist, stellt einen weiteren endogenen Gefahrenbotenstoff dar. Weitere endogene nach Hirnschaden induzierte Moleküle, die TLRs aktivieren, sind Fibronectin, gesättigte Fettsäuren und Hmgb1 (high mobility group box 1 protein). Das nukleäre Protein Hmgb1 ist normalerweise für die Transkriptionsregulation und die DNA-Faltung nötig. Es hat sich jedoch gezeigt, dass Hmgb1 zusätzlich zu seiner nukleären Rolle einen entscheidenden Entzündungsmediator darstellt. Hmgb1 wird von nekrotischen Zellen oder aktivierten Makrophagen, aber nicht von apoptotischen Zellen freigesetzt. Hmgb1 interagiert mit TLRs und dem RAGE (receptor for advanced glycation end products)-Rezeptor (Scaffidi et al. 2002). Auch für Hmgb1 hat sich gezeigt, dass dieses Protein neben seiner proinflammatorischen Funktion eine wichtige

Rolle bei der Gewebsreparatur und bei der Endothelregeneration beim ischämischen Gewebsschaden spielt.

#### **Aktivierung des Inflammasoms und neuroprotektives Potenzial**

Neben seiner Bedeutung für die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 $\beta$  hat sich gezeigt, dass das Inflammasom auch über die Aktivierung protektiver Mechanismen zur Verbesserung des zellulären Überlebens beitragen kann. So hat sich z.B. gezeigt, dass ein von einem Toxin verursachter K<sup>+</sup>-Ausstrom in humanen Fibroblasten über eine inflammasomvermittelte Induktion von bestimmten Lipid-Genen zu einer erhöhten Zellüberlebensrate führt (Gurcel et al. 2006).

Möglicherweise ist das Inflammasom aber nicht nur als zentrale Schaltstelle bei verschiedenen neuroprotektiven Vorgängen von Bedeutung, sondern könnte auch bei Phänomenen wie der ischämischen Präkonditionierung eine entscheidende Rolle spielen, und es ist bekannt, dass proinflammatorische Substanzen wie LPS oder

IL-1 $\beta$  eine Gewebstoleranz gegenüber einer Ischämie hervorrufen können (Dirnagl et al. 2003). Unter Präkonditionierung versteht man die Eigenschaft eines Gewebes, auf einen gering ausgeprägten, normalerweise schädigenden (oder pro-inflammatorischen) Stress-Stimulus mit der Aktivierung von protektiven Eigenschaften so zu reagieren, dass ein später verabreichter, normalerweise für die Zellen oder das Organ tödlicher Stimulus ohne größeren Schaden toleriert werden kann (Dirnagl et al. 2003).

#### **Modulation der Inflammasomaktivierung**

Das TLR-Signalsystem wird auf verschiedenen Ebenen reguliert und es sind heute mindestens fünf verschiedene Hemmprinzipien bekannt (Liew et al. 2005): So gibt es sogenannte extrazelluläre Decoy-Rezeptoren, intrazelluläre Inhibitoren, membranständige Inhibitoren sowie eine Regulation des TLR-Systems über einen beschleunigten TLR-Protein-Abbau oder eine TLR-induzierte Apoptose der jeweiligen Zelle. Die Liste der TLR-Regulatoren umfasst lösliche Spleißvarianten von TLRs, Kurzformen



**New Versions for 2008**

Visit us at FENS and discover...

## The leading tools in neuroscience research

At MBF, we are dedicated to providing you with the most comprehensive microscopy image analysis solutions and the best support in the industry. We invite you to view our latest product offerings, recently updated to provide even more of the research tools your lab requires.

- [NeuroLucida](#) > for Neuroanatomical Analysis
- [Stereo Investigator](#) > for Unbiased Stereology
- [AutoNeuron](#) > for Automated Neuron Tracing
- [Densita](#) > for Autoradiography
- [Virtual Slice](#) > for Full Slide Imaging



MicroBrightField Europe e.K.

**web:** [www.mbfbioscience.com](http://www.mbfbioscience.com) | **email:** [info@mbfbioscience.com](mailto:info@mbfbioscience.com) | **phone:** +49 (0)391 732 6989

*Providing trusted solutions to neuroscience researchers for more than 20 years*



der Adaptorproteine sowie diverse andere Proteine wie z.B. SIGIRR (single immunoglobulin interleukin-1-related receptor), TRAILR (tumour-necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor), RP105, IRAKM (interleukin-1 receptor-associated kinase-M), SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1), NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain protein2), PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase), TOLLIP (Toll-interacting protein), Bcl-3 (B cell leukaemia-3) oder A20 (Liew et al. 2005; Akira und Takeda 2004).

Im Gegensatz zum TLR-System gibt es bisher wenig Information über die Regulation des zyttoplasmatischen NLR-Systems.

Aufgrund ihres modulären Aufbaus können zumindest zwei Gruppen von Inflammasom-Modulatoren unterschieden werden. Die erste Gruppe besteht aus Proteinen, die eine sogenannte CARD-Domäne besitzen (z.B. COPs für CARD only proteins) und umfasst Kurzformen der Caspase-1 wie Iceberg, INCA (inhibitory caspase recruitment domain protein) oder die humane Caspase-12. Die zweite Gruppe ist durch das Vorhandensein einer PYD-Domäne charakterisiert und umfasst Proteine wie PYNOD (protein containing a PYD- and a NOD-domain) oder verschiedene POPs (pyrin only proteins) (Martinon et al. 2007; Chae et al. 2006). Diese Proteine greifen in die Interaktion der jeweiligen Domänen von ASC und NALP-Proteinen bei der Zusammenlagerung des Inflammasoms ein. Weitere NLR-Hemmer sind das Erbin (Erb2-interacting protein); NOD2S, eine Kurzform von NOD, sowie PI-9 (proteinase-inhibitor-9) sowie DASC (decoy ASC molecule). Allerdings besitzen humane COPs (CARD only proteins) und POPs (pyrin only proteins) keine entsprechenden Äquivalente in der Maus und können deshalb bei dieser Spezies nicht zur Inflammasom-Regulation beitragen (Stehlik et al. 2007).

Beim Menschen wird die klinische Relevanz dieser Proteine belegt durch den Effekt von Mutationen im Pyrin-Gen, welche das Familiäre Mittelmeerfieber (FMF) verursachen.

Medikamente, welche die Inflammasom-Zusammenlagerung beeinflussen befinden sich derzeit bereits in der Entwicklung und Caspase-1-Hemmer (z.B. Pralnacasan) sowie IL-1-antagonisierende Medikamente (z.B. IL-1Ra oder Anakinra) haben schon Einzug in die klinische Behandlung von systemischen Autoimmunerkrankungen wie der Gicht oder der rheumatoiden Arthritis gefunden (Braddock et al. 2004). Jüngste Ergebnisse einer Phase II-Studie zur IL-1Ra-Behandlung von Schlaganfall-

Patienten haben vielversprechende Resultate erbracht.

Die Regulation des Autoimmunsystems mit all den verschiedenen Interaktionen zwischen den membranständigen Rezeptoren für danger signals (z.B. TLRs), den zyttoplasmatischen (z.B. den NLRs), den verschiedenen Inflammasomen sowie den unterschiedlichen Regulatoren gibt aber noch viele Rätsel auf. Da diese Systeme jedoch in einer Vielzahl von Erkrankungen in unterschiedlichsten Organen eine große Bedeutung zu spielen scheinen, wird derzeit forciert an der Entwicklung entsprechender Therapeutika gearbeitet.

### Zusammenfassung

Obwohl die herausragende Rolle der Caspase-1-Aktivierung und IL-1 $\beta$ -Produktion beim akuten Hirnschaden seit vielen Jahren bekannt ist, ist erst kürzlich die Charakterisierung des Inflammasoms gelungen, welches nach seiner Zusammenlagerung als Multiprotein-Komplex für die Caspase-1-Aktivierung verantwortlich ist. Neben der über Caspase-1 vermittelten Prozessierung von IL-1 $\beta$  kann das Inflammasom unter bestimmten Bedingungen auch zum neuronalen Zelltod oder zum verbesserten zellulären Überleben beitragen.

Es hat sich mittlerweile gezeigt, dass spezifische Pathogene bzw. spezifische Gefahrensignale (danger signals) unterschiedliche Inflammasome aktivieren. Dennoch bleibt der exakte Beitrag jedes Inflammasoms bzw. der einzelnen Subkomponenten für die neurodegenerativen Erkrankungen noch zu klären. Dabei muss auch das zelluläre und zeitliche Expressionsmuster der einzelnen Komponenten entsprechende Berücksichtigung finden.

### Literatur

- Akira, S. und Takeda, K. (2004): Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol* 4: 499-511.
- Allan, S.M., Tyrrell, P.J. und Rothwell, N.J. (2005): Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol* 5: 629-40.
- Babcock, A.A., Wrenfeldt, M., Holm, T., Nielsen, H.H., Dissing-Olesen, L., Toft-Hansen, H., Millward, J.M., Landmann, R., Rivest, S., Finsen, B. und Owens, T. (2006): Toll-like receptor 2 signaling in response to brain injury: an innate bridge to neuroinflammation. *J Neurosci* 26: 12826-37.
- Beutler, B., Jiang, Z., Georgel, P., Crozat, K., Croker, B., Rutschmann, S., Du, X. und Hoebe, K. (2006): Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu Rev Immunol* 24: 353-89.
- Braddock, M. und Quinn, A. (2004): Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportuni-

ties for therapeutic intervention. *Nat Rev Drug Discov* 3: 330-9.

Chae, J.J., Wood, G., Masters, S.L., Richard, K., Park, G., Smith, B.J. und Kastner, D.L. (2006): The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1 $\beta$  production. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 9982-7.

del Zoppo, G.J. (1999): In stroke, complement will get you nowhere. *Nat Med* 5: 995-6.

Dirnagl, U., Iadecola, C. und Moskowitz, M.A. (1999): Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 22: 391-397.

Dirnagl, U., Simon, R.P. und Hallenbeck, J.M. (2003): Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci* 26: 248-254.

Gurcel, L., Abrami, L., Girardin, S. und Tschopp, van der Goot (2006): Caspase-1 activation of lipid metabolic pathways in response to bacterial pore-forming toxins promotes cell survival. *Cell* 126: 1135-45.

Hara, H., Friedlander, R.M., Gagliardini, V., Ayata, C., Fink, K., Huang, Z., Shimizu-Sasamata, M., Yuan, J. und Moskowitz, M.A. (1997): Inhibition of interleukin 1 $\beta$  converting enzyme family proteases reduces ischemic and excitotoxic neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 2007-12.

Kanneganti, T.D., Lamkanfi, M., Kim, Y.G., Chen, G., Park, J.H., Franchi, L., Vandenabeele, P. und Nunez, G. (2007): Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity* 26: 433-43.

Kanneganti, T.D., Ozoren, N., Body-Malapel, M., Amer, A., Park, J.H., Franchi, L., Whitfield, J., Barchet, W., Colonna, M., Vandenabeele, P., Bertin, J., Coyle, A., Grant, E.P., Akira, S. und Nunez, G. (2006): Bacterial RNA and small antiviral compounds activate caspase-1 through cryopyrin/Nalp3. *Nature* 440: 233-6.

Kobayashi, K., Inohara, N., Hernandez, L.D., Galan, J.E., Nunez, G., Janeway, C.A., Medzhitov, R. und Flavell, R.A. (2002): RICK/Rip2/CARDIAK mediates signaling for receptors of the innate and adaptive immune systems. *Nature* 416: 194-9.

Liew, F.Y., Xu, D., Brint, E.K. und O'Neill, L.A. (2005): Negative regulation of toll-like receptor-mediated immune responses. *Nat Rev Immunol* 5: 446-58.

Lin, Y.C., Chang, Y.M., Yu, J.M., Yen, J.H., Chang, J.G. und Hu, C.J. (2005): Toll-like receptor 4 gene C119A but not Asp299Gly polymorphism is associated with ischemic stroke among ethnic Chinese in Taiwan. *Atherosclerosis* 180: 305-9

Mariathasan, S. und Monack, D.M. (2007): Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* 7: 31-40.

Martinon, F., Pettrilli, V., Mayor, A., Tardivel, A. und Tschopp, J. (2006): Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440: 237-41.

Martinon, F. und Tschopp, J. (2007): Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell Death Differ* 14: 10-22.

Martinon, F., Burns, K. und Tschopp, J. (2002): The inflammasome: a molecular platform triggering





activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell* 10: 417-26.

Matzinger, P. (2007): Friendly and dangerous signals: is the tissue in control? *Nat Immunol* 8: 11-3.

Mayor, A., Martinon, F., De Smedt, T., Petrilli, V. und Tschopp, J. (2007): A crucial function of SGT1 and HSP90 in inflammasome activity links mammalian and plant innate immune responses. *Nat Immunol* 8: 497-503.

Park, J.H., Kim, Y.G., McDonald, C., Kanneganti, T.D., Hasegawa, M., Body-Malapel, M., Inohara, N. und Nunez, G. (2007): RICK/RIP2 mediates innate immune responses induced through Nod1 and Nod2 but not TLRs. *J Immunol* 178: 2380-6.

Petrilli, V., Papin, S., Dostert, C., Mayor, A., Martinon, F. und Tschopp, J. (2007): Activation of the NALP3 inflammasome is triggered by low intracellular potassium concentration. *Cell Death Differ* 14: 1583-9.

Scaffidi, P., Misteli, T. und Bianchi, M.E. (2002): Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 418: 191-5.

Stehlik, C. und Dorfleutner, A. (2007): COPs and POPs: Modulators of Inflammation Activity. *J Immunol* 179: 7993-8.

Stevens, S.L., Ciesielski, T.M., Marsh, B.J., Yang, T., Homen, D.S., Boule, J.L., Lessov, N.S., Simon, R.P. und Stenzel-Poore, M.P. (2008): Toll-like receptor 9: a new target of ischemic preconditioning in the brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. (im Druck)

Tang, S.C., Arumugam, T.V., Xu, X., Cheng, A., Mughal, M.R., Jo, D.G., Lathia, J.D., Siler, D.A., Chigurupati, S., Ouyang, X., Magnus, T., Camandola, S. und Mattson, M.P. (2007): Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 13798-803.

Trendelenburg, G. (2008): Acute Neurodegeneration and the Inflammasome: Central Processor for Danger Signals and the Inflammatory Response? *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 867-881.

Ziegler, G., Harhausen, D., Prinz, V., König, J., Schepers, C., Röhr, C., Hoffmann, O., Lehrach, H., Niefeld, W. und Trendelenburg, G. (2007): TLR has a detrimental role in mouse transient focal cerebral ischemia. *Biochem Biophys Res Commun* 359: 574-579.

### Kurzbiografie

**George Trendelenburg**, geb. 1966 in Homburg, studierte mit dem Abschluss Vordiplom bis 1987 Maschinenbau an der Universität Kaiserslautern. 1987 - 90 studierte er Humanmedizin an der Universität des Saarlandes und weiter zum 3. Staatsexamen im Jahr 1994 an der Freien Universität Berlin. Die medizinische Promotion fertigte er 1994 - 96 an der FU Berlin in der Abteilung für Gastroenterologie mit einem Stipendium der Maria-Sonnenfeld-Stiftung mit dem Thema „Expressionsanalyse einer Kolonkarzinom cDNA- Bibliothek und Identifizierung eines neuen A-Kinase-Ankerproteins (AKAP149) mit einer RNA-Bindungsdomäne“ an. Seit 1996 ist er wissenschaftlicher Assistent in der Neurologischen Klinik der Charité, Berlin (Direktor: Prof. Dr. K.M. Einhaupl) bzw. in der Abteilung für Experimentelle Neurologie (Direktor: Prof. Dr. U. Dirnagl). 2004 erhielt er die Facharztanerkennung (FA für Neurologie).

### Glossar/Abkürzungen und Acronyme

- Apaf1:** apoptotic protease activating factor 1
- ASC:** apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain
- ATP:** Adenosintriphosphat
- CARD:** Caspase-Rekrutierungs Domäne
- CARDINAL:** CARD inhibitor of NFκB-activating ligands (auch CARD8 bezeichnet)
- COP:** CARD-only protein
- DAMPs:** schadenassoziierte molekulare Muster (damage associated molecular patterns)
- DASC:** decoy-ASC molecule

## The "Swiss Army Knife" of Electrophysiology



### ELC-03XS

Suitable for **extracellular recordings** with high gain, **juxtosomal filling** of dyes or DNA, **intracellular recordings**, **whole-cell patch clamp** in true CC or VC mode, single cell stimulation and **electroporation**, amperometry and voltammetry, and iontophoresis

## Versatile Current Clamp Amplifier



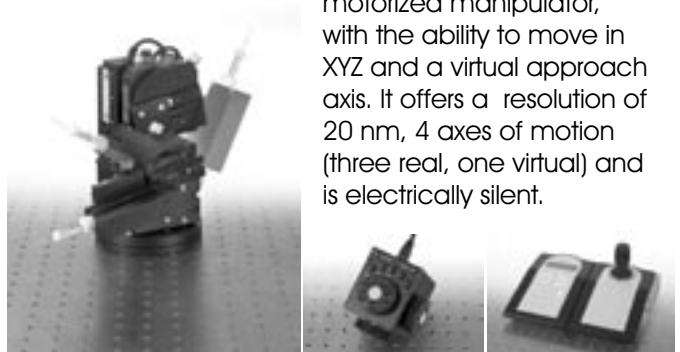
### BA-03X

Suitable for **intracellular recordings**, **extracellular recordings** with high gain and **electroporation**



### PatchStar

The PatchStar is a high precision, stable and motorized manipulator, with the ability to move in XYZ and a virtual approach axis. It offers a resolution of 20 nm, 4 axes of motion (three real, one virtual) and is electrically silent.



### Other npi electronic instruments

- Single Electrode voltage clamp amplifiers
- Two Electrode voltage clamp amplifiers
- Temperature control systems
- Bridge-/Intracellular amplifiers
- Extracellular amplifiers
- EPMS modular system, Bessel filters
- Drug application systems
- Data acquisition hard and software
- Voltammetric / amperometric amplifiers
- ALA Scientific perfusion systems and accessories
- EXFO Burleigh micropositioners and mounts
- Scientifica micropositioners and mounts

### npi electronic GmbH

Hauptstrasse 96, D-71732 Tamm, Germany  
 Phone +49 (0)7141-9730230; Fax: +49 (0)7141-9730240  
 support@npielectronic.com; http://www.npielectronic.com

## ► Grafische Gestaltungsregeln für wissenschaftliche Arbeiten



1. Aufl. 2008, 312 S. kart.  
€ (D) 29,95 / € (A) 30,79 / CHF 49,-  
ISBN 978-3-8274-1931-6

Katharina Hien / Steffen Rümpler

### Grafische Gestaltung in Naturwissenschaften und Medizin

**Gestalten Sie Ihre Vorträge, Poster und Veröffentlichungen grafisch ansprechend und professionell!**

Sie studieren, arbeiten oder forschen in der Medizin oder den Naturwissenschaften? Sie sind in der wissenschaftlichen Ausbildung tätig? Dann ist dies das richtige Buch für Sie! Mit guter Gestaltung können Sie Ihre Vorträge, Poster und Veröffentlichungen Ihrem Zielpublikum anschaulich näher bringen und Forschungsergebnisse optimal präsentieren.

Katharina Hien und Steffen Rümpler liefern Ihnen nützliche Gestaltungshinweise und praktische Produktionstipps, um Grafiken und Fotos, Poster und Vorträge, Abschlussarbeiten und andere Präsentationen ansprechend und präzise darzustellen. Sie erfahren, wie Sie Bilder effektiv erzeugen und einsetzen, geschickt mit Schrift umgehen, sinnvolle Farbkombinationen finden und auf diese Weise die Aufmerksamkeit Ihres Zielpublikums lenken. Mehr als 250 farbige Abbildungen veranschaulichen die angesprochenen Themen. Der Praxisteil vermittelt, wie Sie Ihre Erkenntnisse am Computer umsetzen können.

**Spektrum**  
AKADEMISCHER VERLAG

#### Bequem bestellen:

- direkt bei [www.spektrum-verlag.de](http://www.spektrum-verlag.de)
- per E-Mail: [SDC-bookorder@springer.com](mailto:SDC-bookorder@springer.com)
- telefonisch: + 49 6221 345-0
- per Fax: + 49 6221 345-4229

Alle Preise zzgl. Versandkosten (D: € 3,50 / A: € 3,90 / CH: SFR 6,20, jeweils pro Lieferung). Sämtliche Preise inkl. Mehrwertsteuer. Preise unter Vorbehalt. Der € (A)-Preis ist uns vom dortigen Importeur als Mindestpreis genannt worden. Der sFr-Preis ist eine unverbindliche Preisempfehlung.

**DISC:** death-inducing signaling complex  
**ERBIN:** erbinteragierendes Protein  
**FMF:** familiäres Mittelmeerfieber  
**GABA:**  $\gamma$ -Aminobuttersäure  
**HMGB1:** high-mobility group box 1 protein  
**HSP:** Hitze-Schock-Protein (heat shock protein)  
**INCA:** inhibitory caspase recruitment domain protein  
**IPAF:** ice protease-activating factor (auch als CARD12 bezeichnet)  
**IRAKM:** interleukin-1 receptor-associated kinase-M  
**LPS:** Lipopolysaccharid  
**LRR:** leucinreiche Repeats  
**MAL/TIRAP:** MyD88 adaptor-like (oder TIR domain-containing adaptor protein)  
**MAP:** mitogenaktivierte Proteinkinase  
**MDA-5:** melanoma differentiation associated gene-5  
**MDP:** Muramyl dipeptide  
**Mrp8:** myeloid-related protein-8  
**MSU:** monosodium urate  
**MyD88:** myeloid differentiation primary response gene 88  
**NACHT:** Nucleosid-Triphosphatase (NT-Pase) Domäne, die nach den Genen NAIP, CIITA, HET-E und TP1 benannte wurde  
**NALP:** NACHT-, LRR- und pryin-Domänen enthaltendes Protein  
**NLR:** nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor  
**NOD:** nucleotide-binding oligomerization domain protein  
**PAMPs:** pathogenassoziierte molekulare Muster (pathogen-associated molecular patterns)  
**PGE2:** Prostaglandin E2  
**PI-9:** Proteaseinhibitor 9  
**PI3K:** Phosphoinositol 3-Kinase

**PLA2:** Phospholipase A2  
**POP:** Pyrin-only protein  
**PYD:** Pyrin Domäne  
**PYNOD:** protein containing a PYD- and a NOD-domain  
**RAGE:** receptor for advanced glycation end products  
**RICK (or RIP2):** RIP-like interacting CLARP kinase (receptor-interacting protein 2)  
**RIG-I:** Retinolsäure induzierbares Gen I  
**RLH:** retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like Helicase  
**ROS:** reaktive Sauerstoffverbindungen (reactive oxygen species)  
**S100B:** S100 Kalzium bindendes Protein  
**SGT1:** suppressor of G2 allele of SKP1  
**SIGIRR:** single immunoglobulin interleukin-1-related receptor  
**SOCS1:** suppressor of cytokine signaling 1  
**ssRNA:** einzelsträngige RNA (single-stranded RNA)  
**TIR:** Toll/interleukin-1 (IL-1) receptor Domäne  
**TNF:** Tumor-Nekrose-Faktor  
**TLR:** Toll-like receptor  
**TOLLIP:** Toll-interacting protein  
**TRAILR:** Tumour-necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor  
**ZNS:** zentrales Nervensystem

#### Korrespondenzadresse

**Dr. George Trendelenburg**  
Experimentelle Neurologie  
Charité - Universitätsmedizin Berlin; CCM  
Charitéplatz 1, 10117 Berlin  
Tel.: + 49 (0) 30 450 560024  
Fax: +49 (0) 30 450 560942  
E-Mail: [george.trendelenburg@charite.de](mailto:george.trendelenburg@charite.de)

## Einladung zur Mitgliederversammlung während des FENS Forum 2008 in Genf (12. – 16. Juli 2008)



**Termin: Montag, 14. Juli 2008, 11:30 - 12:30 Uhr, Raum 1**

#### Vorläufige Tagesordnung:

1. Begrüßung durch den Präsidenten
2. Bestätigung des Protokolls der letzten Mitgliederversammlung
3. Bericht des Schatzmeisters
4. Mitteilungen
5. Bericht zur Göttinger Tagung

6. Aktivitäten der Gesellschaft  
7. Verschiedenes

Vorschläge für weitere Tagesordnungspunkte reichen Sie bitte **bis spätestens 1. Juli 2008** bei der Geschäftsstelle ein.

*Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.*  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC)  
Robert-Rössle-Str. 10, 13092 Berlin  
E-Mail: [gibson@mdc-berlin.de](mailto:gibson@mdc-berlin.de)

# Neuronale Entwicklung: Nikotinabhängige morphologische und funktionelle Veränderungen des Zentralnervensystems

Carina Wessels und Georg Winterer

## Zusammenfassung

Die somatischen Konsequenzen des Zigarettenrauchens und die resultierenden gesundheitsökonomischen Probleme sind bekannt, die Auswirkungen einer während der Gehirnentwicklung stattfindenden Nikotinexposition werden derzeit noch unterschätzt. Nikotinabhängigkeit sowie das ADHS (Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom) sind mit einem Nikotinkonsum der Mütter der Betroffenen während der Schwangerschaft assoziiert. Auch finden sich erste Hinweise darauf, dass Nikotinmissbrauch in der Jugend die Funktion des zerebralen Aufmerksamkeitsnetzwerkes und das Gedächtnis nachhaltig beeinträchtigen kann. Unklar ist hingegen bislang, welche Auswirkungen eine Nikotinexposition auf die Entstehung von psychiatrischen Erkrankungen hat. Tierexperimentelle und klinische Studien haben ergeben, dass eine Nikotinexposition während der Gehirnentwicklung - beginnend pränatal bis zur Adoleszenz - neben morphologischen Veränderungen zu einer persistierenden Beeinflussung neuronaler Transmissionssysteme führen kann. Es sollte mehr Aufklärung in der Bevölkerung erfolgen, um Nikotinkonsum bereits während der Schwangerschaft sowie bei Kindern und Jugendlichen zu vermeiden. Von entscheidender Bedeutung wird es außerdem sein, dass die zentralnervösen Nikotineffekte während der neuronalen Entwicklung noch besser verstanden werden. Unter anderem zu diesem Zweck wurde im vergangenen Jahr ein Schwerpunktprogramm der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) eingerichtet; Nikotin: Molekulare und physiologische Effekte im zentralen Nervensystem (SPP1226).

## Abstract

**Brain development: nicotine-dependent morphological and functional changes of the central nervous system.**

Nicotine exposure during early neurodevelopment (prenatally up to adolescence) causes morphological changes of the central nervous system and persistent alterations of neurotransmission systems. Maternal smoking on one hand and nicotine dependency as well as ADHD (attention deficit hyperactivity disorder) in the offspring on the other hand are significantly associated. There is even some evidence, that nicotine abuse during adolescence may result in deficits of the attentional network of the brain. In contrast, any effects of nicotine exposure on the development of different psychiatric diseases are still unclear. The somatic consequences of smoking and the resulting economic problems are well known. The effects of nicotine on neurodevelopment are still underestimated, more public awareness training and medical education is required to avoid nicotine abuse in pregnant women, children and adolescents.

**Key words: nicotine; pregnancy; brain development; nicotine dependency; ADHS**

## Einleitung

Die somatischen Konsequenzen des Zigarettenrauchens bei Erwachsenen und die daraus resultierenden gesundheitsökonomischen Probleme sind weithin bekannt. Den Auswirkungen einer Nikotinexposition während der Gehirnentwicklung wurde

bislang wenig Aufmerksamkeit geschenkt, obwohl es eindeutige Hinweise dafür gibt, dass eine Nikotinexposition während der Gehirnentwicklung von pränatal bis in das Jugendalter zu Veränderungen im Zentralnervensystem führt.

Trotz ausgiebiger Warnungen rauchen circa 25% aller schwangeren Frauen in

Deutschland. Eine nikotinbedingte Plazenta-insuffizienz führt postnatal durchschnittlich bei 50% der Neugeborenen zu zerebralen Anomalien und bei 28% zu intrazerebralen Blutungen.

Möglicherweise von noch viel größerer sozioökonomischer Bedeutung ist, dass Nikotinexposition in utero multiple Neurotransmittersysteme und synaptische Verschaltungen beeinflusst.

Vermutlich kommt es sogar zu einer dauerhaften Beeinflussung der Ansprechbarkeit einer Zelle auf Nikotin. Mütterlicher Nikotinkonsum erhöht wahrscheinlich das Risiko, dass Kinder im späteren Lebensverlauf unter Lernschwierigkeiten, Verhaltensauffälligkeiten und dem ADHS leiden. Darüber hinaus bedingt eine pränatale Nikotinexposition bei den Nachkommen eine gesteigerte Vulnerabilität für Nikotinabhängigkeit im späteren Lebensalter. Diese Übersichtsarbeit soll einen Überblick über die bisher gewonnenen und aktuellen Erkenntnisse über den Einfluss von Nikotin auf die Gehirnentwicklung des Feten bis hin zum jungen Erwachsenen geben. Damit möglicherweise im Zusammenhang stehende kognitive Störungen bei Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen sollen aufgezeigt werden. Es soll die Gefahr resultierender individueller sowie allgemeiner gesundheitsökonomischer Probleme verdeutlicht und mögliche Strategien zur Vermeidung dargestellt werden.

## Nicotinkonsum in der Schwangerschaft

Die Konzentration von Nikotinrezeptoren auf der fetalen Seite der Plazenta ist durchschnittlich 15 % höher als bei der Mutter. Dies hat zunächst zur Folge, dass Neugeborene von Müttern, die während der Schwangerschaft geraucht haben, häufig ein Nikotinentzugssyndrom mit zentralen Symptomen (gesteigerte Irritabilität, Tremor) erleiden.

Als eine weitere Konsequenz pränataler Nikotinexposition wird die erhöhte perinatale Sterblichkeit durch das SIDS (sudden infant death syndrome) diskutiert. Während einige Autoren die Ursache in der verminderten Sekretion von Katecholaminen im peripheren Nervensystem bei den Neugeborenen durch die nikotinerge Stimulation bei regelmäßigem Tabakkonsum der Mütter sehen, fanden Robinson et al. (2002) in einer tierexperimentellen Studie an Mäusen eine reduzierte zentrale nikotinerge Modulationsfähigkeit des Nervus hypoglossus.

In den zurückliegenden Jahren konnten auf der Basis tierexperimenteller Untersu-



chungen eine Reihe weiterer Effekte pränataler Nikotinexposition auf das zentrale Nervensystem identifiziert werden. In einer Untersuchung mit trächtigen Sprague-Dawley-Ratten, denen Nikotin appliziert wurde, konnten Muneoka et al. (1997) bei den Nachkommen eine persistierende Reduktion des Dopaminmetabolismus im Frontalhirn sowie eine Reduktion des Serotoninmetabolismus in Medulla, Pons und Mittelhirn, im Frontalhirn und im Zerebellum beobachten. Basierend auf demselben Tiermodell konnten Navarro et al. (1989) nachweisen, dass Nikotinapplikation bei trächtigen Ratten im zerebralen Kortex der embryonalen Rattengehirne eine stark verminderte Acetylcholintransferase-Aktivität verursacht, was zu einer Unterbrechung der fetalen ZNS-Entwicklung führte und zwar bei Nikotindosierungen, die noch keine Beeinträchtigung der Lebensfähigkeit oder eine Wachstumsretardierung zur Folge hatten. Diese vorzeitige Beendigung der Zelldifferenzierung mit Untergang von Gehirnzellen über die pränatale Stimulation von Acetylcholinrezeptoren konnte kürzlich in einem *in-vivo*-Ratten-Modell nochmals durch Slikker et al. (2005) bestätigt werden. Roy et al. (1998) beschrieben darüber hinaus teratogene Nikotineffekte im sich entwickelnden Gehirn in einem *in-vitro*-Modell. Durch Inkubation embryonaler neuroepithelialer Kulturen von der Ratte mit Nikotin konnten zytoplasmatische Vakuolen, eine Vergrößerung der Interzellularräume sowie Zunahme von pyknotischen bzw. apoptotischen und mitotischen Zellen induziert werden.

In einer Reihe von zum Teil aufeinander aufbauenden Tierversuchen an der Ratte mit Nikotinapplikation trächtiger Muttertiere erarbeitete die Arbeitsgruppe von Slotkin (u.a. Slotkin et al. 2001), dass Hirnzellschädigung beim Fetus durch Nikotin verursacht wird. Als Indikator der Zellschädigung bestimmten sie die Ornithin-Decarboxylase-Aktivität, die *c-fos*-Aktivität durch Überexpression des Protoonkogens *c-fos*, welche Apoptose induziert und bestätigten auf diese Weise die Hypothese, dass Nikotin an nikotinerge Acetylcholinrezeptoren im fetalen Gehirn bindet und auf diesem Wege die Zellproliferation und -differenzierung nachhaltig verändert.

Ein gemeinsames Problem dieser Tiermodelle ist, dass die durch Nikotin bedingten indirekten Auswirkungen auf die zerebrale Entwicklung durch die vasokonstriktorische Wirkung des Nikotins nicht auszuschalten sind. Die Möglichkeiten, die mit diesen zellulären und molekularen Veränderungen einhergehenden funktionellen Defizite bei

jungen Nagetieren zu erfassen, sind sehr eingeschränkt. Funktionelle Testungen der Versuchstiere in den Studien fielen meist ohne signifikante Ergebnisse aus. Es bleibt also zunächst unklar, ob die beobachteten Veränderungen in den tierexperimentellen Untersuchungen die in klinischen Studien beschriebenen Langzeitfolgen bei Kindern und Jugendlichen nach pränataler Nikotinexposition erklären können. In einer Übersichtsarbeit fassten Eskenazi und Castorina (1995) 17 epidemiologische Studien über diese Thematik zusammen und sie schlussfolgerten, dass eine Assoziation zwischen Defiziten der intellektuellen Fähigkeiten und Verhaltensauffälligkeiten sicher besteht, aber der konkrete Zusammenhang und die Bedeutung des mütterlichen Nikotinkonsums im Vergleich zu anderen Umweltfaktoren unklar bleibt.

Deutliche Hinweise existieren mittlerweile aber im Hinblick auf einen Zusammenhang zwischen mütterlichem Nikotinkonsum in der Schwangerschaft und kindlichen ADHS (Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom). Dafür spricht unter anderen eine Untersuchung von Milberger et al. (1996). Hier ergab eine anamnestiche Erfragung des mütterlichen Nikotinkonsums während der Schwangerschaft bei insgesamt 360 Kindern und Jugendlichen, dass bei 22% der hyperaktiven Kinder und nur bei 8% der Kontrollgruppe ein mütterlicher Nikotinkonsum pränatal bestanden hatte. Darüber hinaus fand sich im Kollektiv der Kinder mit Müttern, welche während der Schwangerschaft geraucht hatten, ein statistisch signifikant niedriger Intelligenzquotient. Unklar ist hierbei allerdings, ob ADHS und Intelligenzminderung als Folge des maternalen Tabakkonsums zu betrachten sind, oder ob umgekehrt Rauchen während der Schwangerschaft das Resultat z.B. eines relativ niedrigen Intelligenzniveaus oder von Verhaltensauffälligkeiten der Mütter darstellt, welches sie an ihre Nachkommen weiter vererbten. Von besonderem Interesse sind daher Zwillingsstudien. Thapar et al. (2003) konnten eine Assoziation zwischen ADHS und mütterlichem Nikotinkonsum während der Schwangerschaft belegen, die über genetische Effekte hinausging (s.u.).

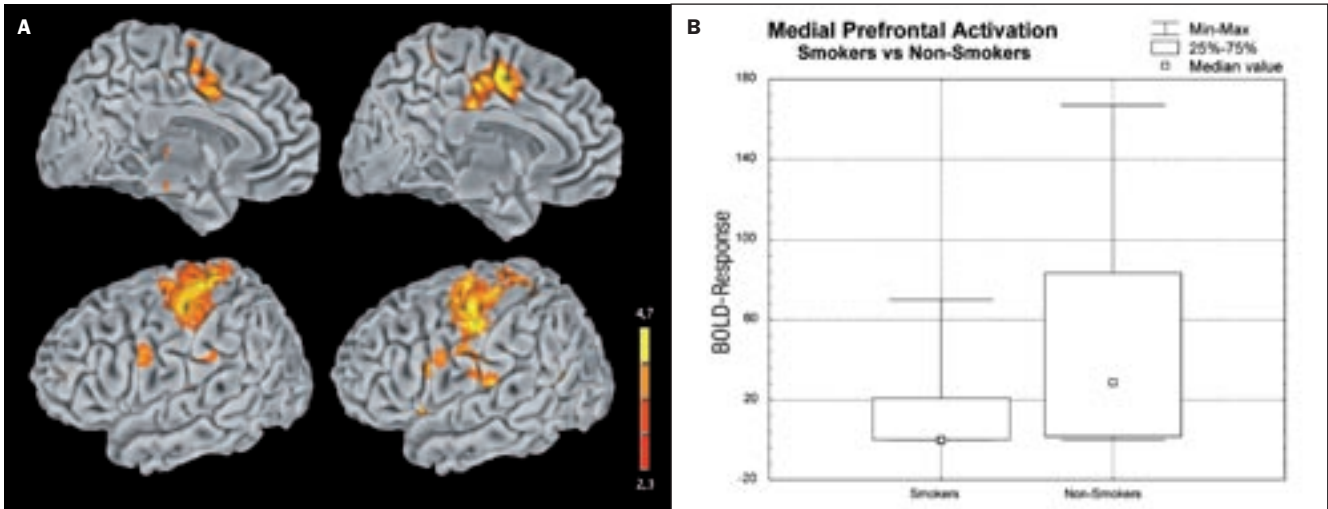
Aufgrund klinisch-pharmakologischer Untersuchungen geht man davon aus, dass beim ADHS eine Störung der biogenen Amine Dopamin und Noradrenalin und von Serotonin vorliegt. In Verbindung mit den im vorangegangenen Abschnitt zitierten tierexperimentellen Studien zu den Auswirkungen einer pränatalen Nikotinexposition auf die zerebrale Entwicklung liegt die

Schlussfolgerung nahe, dass Störungen in diesen Neurotransmissionssystemen bei ADHS zumindest teilweise die Folge pränataler Nikotinexposition sein könnten.

Die aufgezeigten Zusammenhänge zwischen Nikotinexposition und Folgewirkungen auf die zerebrale Entwicklung machen deutlich, wie wichtig eine Nikotinabstinenz in der Schwangerschaft und darüber hinaus für die Gehirnentwicklung des Kindes ist. Da erst im zweiten und dritten Trimester einer Schwangerschaft eine deutliche Zunahme der Nikotinrezeptorbindungsstellen beim Feten zu beobachten ist, wird davon ausgegangen, dass Nikotin als teratogene Substanz entgegen der allgemeinen Meinung erst dann besonders schädlich ist. Falls also eine absolute Nikotinabstinenz während der Schwangerschaft nicht sofort gelingt, könnte eine Nikotinentwöhnungsbehandlung, z.B. auch unter Verwendung von Nikotinplastern, zu einem frühen Zeitpunkt während der Schwangerschaft mit dem Ziel der späteren Nikotinabstinenz sinnvoll sein.

#### **Auswirkungen von Nikotin auf die kindliche Entwicklung des Zentralnervensystems**

Da der Nikotingehalt von Muttermilch bis zu drei Mal so hoch ist wie im mütterlichen Blut, ist die Säuglingsperiode eine weitere kritische Phase im Hinblick auf neurotoxische Effekte von Nikotin. Auch hier beruhen die gewonnenen Erkenntnisse überwiegend auf tierexperimentellen Untersuchungen. In dieser frühen Lebensphase bewirkt Nikotinexposition wiederum neurotoxische Effekte wie eine Reduktion der DNA-Synthese mit Hemmung der Zellreplikation und -differenzierung. Dies geht einher mit einer erhöhten Konzentration von Apoptosemarkern und einer reaktiven Gliose sowie einer reduzierten Expression von Nikotinrezeptoren. Slawewski et al. (2000) untersuchten erstmals die Einflüsse neonataler Nikotinexposition auf die Elektrophysiologie des adulten Rattengehirns. Bei der Ableitung des Elektroenzephalogramms und akustisch evozierter Potentiale konnte im Hippocampus eine signifikante Erniedrigung der 1-2-Hz-Frequenzen bei den mit Nikotin behandelten Tieren sowie eine Verminderung der Amplitude des akustisch evozierten Potentials P300 gemessen werden. Die Autoren werteten diese Ergebnisse als Folge einer nikotin-induzierten synaptischen Desorganisation des Hippocampus, welche bis in das Erwachsenenalter persistierte. Von potenziellem Interesse in diesem Zusammenhang ist, dass Strukturen



**Abb. 1a und 1b:** Ereigniskorreliertes funktionelles Magnetresonanztomogramm bei jungen erwachsenen Rauchern (links) und Nichtrauchern (rechts). Es zeigt eine signifikante Reduktion des BOLD (Blood Oxygen Level Dependency)-Signals im Supplementär-motorischen Kortex mit Ausdehnung in den anterior cingulären, den dorsolateralen präfrontalen sowie parietalen Kortex, was einer verminderten Aktivierung des Aufmerksamkeitsnetzwerkes entspricht.

des Hippocampus an zerebralen Aufmerksamkeitsprozessen als Reiz filterndes System beteiligt sind, so dass Läsionen dieser Hirnregion zu Aufmerksamkeitsstörungen beitragen können, wie bei nikotinexponierten Kindern beschrieben ist.

Es existieren bislang nur wenige tierexperimentelle Studien, die zur Beurteilung des Effektes einer postpartalen Nikotinexposition auf das Verhalten von Versuchstieren durchgeführt wurden. Die erzielten Ergebnisse sind dabei häufig widersprüchlich


oder nicht signifikant. Ein Problem ist, dass die bei Versuchstieren beobachteten Verhaltensauffälligkeiten nicht unmittelbar auf den Menschen zu übertragen sind, da zahlreiche genetische und Umgebungsfaktoren zur Intelligenzentwicklung, Lernen, Kognition und Verhalten beitragen.

Im Jahr 2003 fassten Linnert et al. (Linnert et al. 2003) die Ergebnisse von insgesamt 24 seit 1973 erschienen klinischen Studien zusammen, die den Einfluss eines mütterlichen Nikotinkonsums auf die Ausbildung

eines ADHS in der Nachkommenschaft untersuchten. Es wurde die schlechte Qualität der Arbeiten, deren geringe Anzahl, die überwiegende Retrospektivität und eine mangelnde Anwendung eindeutiger diagnostischer Kriterien für das ADHS und eine fehlende Berücksichtigung der elterlichen Psychopathologie kritisiert. In der Zusammenschau der Befunde fanden sich jedoch Hinweise dafür, dass eine Assoziation zwischen mütterlichem Nikotinkonsum und ADHS bestehen könnte. Aufgrund der

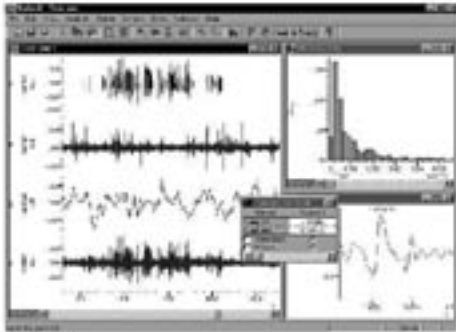
**SCIENCE PRODUCTS GmbH**  
*for Research and Therapy*

**SCIENCE PRODUCTS GmbH offers the newest CED soft- and hardware**



**Hardware:**

- The **micro 1401 mk II** with USB 2.0. A low-cost versatile data acquisition unit.
- The **power 1401** with USB 2.0. CED's latest high performance data acquisition interface. (most powerful science laboratory interface in the world).



**Software:**

- **Spike 2 Version 6** delivers powerful data capture and analysis, stimulus sequencing and experimental control.
- **Signal Version 3** delivers powerful sweep-based data capture and analysis, stimulus generation and control using one of the CED 1401 data acquisition peripherals.

**SCIENCE PRODUCTS GmbH**  
Hofheimer Str. 63 - 65719 Hofheim  
Tel.: 00192/901396 - Fax: 00192/901398 info@science-products.com  
www.science-products.com



Vorläufigkeit dieser Schlussfolgerung ist es daher von besonderer Bedeutung, dass dies durch die bereits oben erwähnte Zwillingsstudie von Thapar et al. (2003) bestätigt werden konnte. Bei Nikotinexposition während der Schwangerschaft fand sich eine statistisch signifikante Assoziation mit dem ADHS der Kinder sowie ein summierender Effekt dieses Umweltfaktors und genetischer Faktoren, während sich keine statistisch signifikanten Zusammenhänge mit der elterlichen Psychopathologie, deren Alkohol- oder Drogenmissbrauch, mit dem Geburtsgewicht, dem Intelligenzquotienten sowie ihrem sozialen Status ergaben. Ungeklärt bleibt, ob die beschriebenen Zusammenhänge zwischen Nikotinexposition einerseits und funktionellen bzw. morphologischen Veränderungen des Zentralnervensystems andererseits kausaler Natur sind, und welche Beziehung dabei zu ADHS-spezifischen Symptomen besteht. Beispielsweise können diese Studien auch nicht die Frage beantworten, ob der mütterliche Nikotinkonsum bereits auf eine Veranlagung der Mütter zu ADHS zurückzuführen ist, und somit die bei den Nachkommen beobachteten morphologischen Veränderungen und Symptome genetischer Natur wären. Dies ist nicht ganz unwahrscheinlich, da mittlerweile Hinweise existieren, dass Nikotin zur „Selbstmedikation“ von Aufmerksamkeitsdefiziten verwendet wird. Bei jungen Erwachsenen, bei denen in der Kindheit ein ADHS diagnostiziert worden war, konnte gezeigt werden, dass diese früher als eine

altersentsprechende Kontrollgruppe einen regelmäßigen täglichen Nikotinkonsum betrieben und im Erwachsenenalter 42% der Betroffenen im Vergleich zu 26% der Kontrollpersonen Raucher waren.

#### **Effekt von Nikotin auf das adoleszenzte Gehirn**

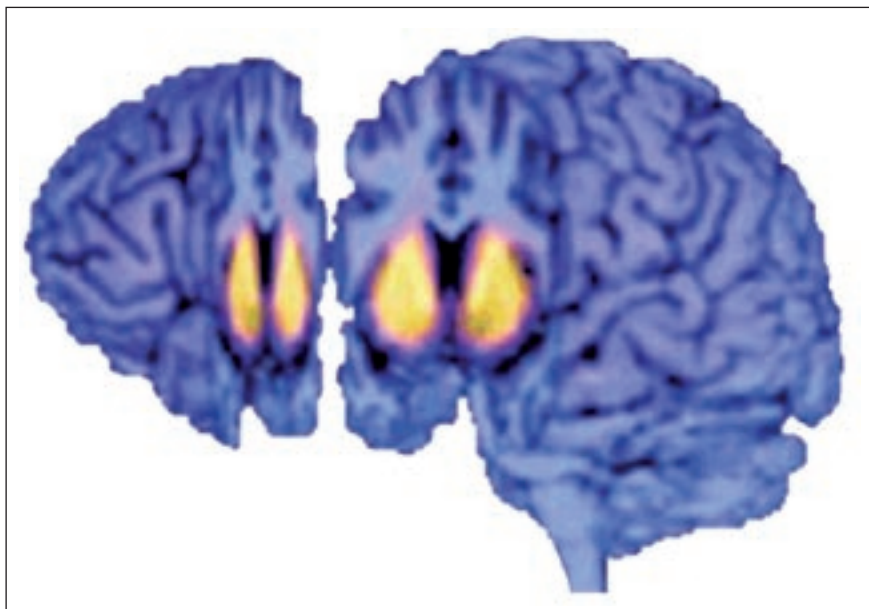
Mittlerweile finden sich Hinweise, dass sich die kritische Phase für nikotininduzierte zerebrale Veränderungen bis in das Jugendalter hin anhält. So beschrieben Slotkin et al. (2001) in einer tierexperimentellen Studie, dass die Adoleszenz im Vergleich zur Neugeborenenphase und zum Erwachsenenalter sogar eine besonders vulnerable Phase darstellt. Sie beobachteten nach einmaliger Nikotinadministration bei adolescenten Ratten eine persistierende gesteigerte Expression von Nikotinrezeptoren im ZNS. Außerdem wurden neurochemische Veränderungen der cholinergen, noradrenergen, dopaminergen und serotoninergen Neurotransmission beschrieben, die aber von transientem Charakter waren. Auch die in den vorangegangenen Abschnitten bei pränataler und frühkindlicher Exposition erläuterte Neurotoxizität des Nikotins besteht offenbar auch noch bei Nikotinexposition in der Adoleszenz. Mütterlicher Nikotinkonsum scheint das Risiko des Nikotinabusus bei deren jugendlichen Nachkommen zu erhöhen, wobei die Effekte von Nikotin auf das ZNS pränatal und in der Adoleszenz offenbar in additiver Wechselwirkung stehen.

Diese tierexperimentell beschriebenen Effekte einer Nikotinexposition pränatal sowie in der Adoleszenz werden durch klinische Studien bestätigt. Die Arbeitsgruppe von Jacobsen an der Universität Yale hat in den Jahren 2005 (Jacobsen et al. 2005) und 2006 (Jacobsen et al. 2006) die Ergebnisse verschiedener klinischer Studien über die Auswirkungen von Nikotin auf spezielle Hirnfunktionen bei Jugendlichen publiziert. Untersucht wurden unter anderem die Effekte von Nikotinentzug auf das visuell-räumliche Gedächtnis bei rauchenden Jugendlichen, die pränatal Nikotin exponiert waren, im Vergleich zu jugendlichen Rauchern ohne pränatale Nikotinexposition. Bei den insgesamt 61 Probanden fand sich bei der Gruppe mit pränatalem Nikotinkonsum ein größeres Defizit des visuell-räumlichen sowie des verbalen Gedächtnisses. Die verminderte Gedächtnisleistung korrelierte dabei mit einer kernspintomographisch gemessenen gesteigerten Aktivierung des linken Gyrus parahippocampalis sowie des bilateralen Hippocampus. Die Arbeitsgruppe schloss aus diesen Ergebnissen auf eine durch pränatale Nikotinexposition bedingte beeinträchtigte Funktion des medialen Temporallappens.

In einer kürzlich von Musso et al. 2007 publizierten funktionell kernspintomographischen Untersuchung aus unserer Arbeitsgruppe konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die Dauer des vorangegangenen Nikotinmissbrauchs in der Adoleszenz mit funktionalen Defiziten im frontalen Aufmerksamkeitsnetzwerk korreliert ist. Die Ergebnisse wurden von uns dahingehend diskutiert, dass Nikotin zwar akut die Aufmerksamkeit verbessern kann, was mittlerweile in zahlreichen Untersuchungen nachgewiesen wurde, andererseits aber bei chronischem Missbrauch im jugendlichen Alter die Funktion des Aufmerksamkeitsnetzwerkes eher geschädigt wird.

Völlig ungeklärt ist bislang, wie sich Nikotinexposition pränatal sowie in früher Kindheit und Jugend neben dem ADHS auf anderweitige psychiatrische Erkrankungen auswirkt, bei denen eine erhöhte Prävalenz der Nikotinabhängigkeit bekannt ist wie z.B. bei der Schizophrenie. Einerseits ist denkbar, dass Nikotin von den Betroffenen zur „Selbstmedikation“ präexistierender kognitiver Defizite eingesetzt wird. Die „Selbstmedikation“ würde damit zur Initiierung und Aufrechterhaltung der Nikotinabhängigkeit bei den Betroffenen beitragen.

Der chronische Nikotinmissbrauch könnte aber auch bei den Betroffenen zu einer weiteren Verschlechterung der bestehenden kognitiven Defizite führen,



**Abb. 2: Dopaminerges Belohnungssystem (Striatum): Drogen inclusive Alkohol und Nikotin aktivieren das striatäre Belohnungssystem und erzeugen dadurch ein Wohlgefühl. Störungen in diesem System wurden mit Depression in Zusammenhang gebracht**

zumal wenn der Nikotinmissbrauch in der Adoleszenz betrieben wird. Jedenfalls legen diese Überlegungen unsere eigenen Befunde nahe. (Musso et al. 2007) Denkbar ist damit, dass chronische Nikotinexposition zu nachhaltigen Aufmerksamkeitsdefiziten führt, die dann wiederum durch akuten Nikotinkonsum „selbstmediziert“ werden und somit einen *circulus vitiosus* in Gang setzen. Zum besseren Verständnis dieser Zusammenhänge sind noch weiterführende klinische Studien erforderlich.

### Zusammenfassung

Die Auswirkungen einer Nikotinexposition während kritischer Phasen der Gehirnentwicklung werden zurzeit noch unterschätzt. Eine pränatale und frühkindliche Nikotinexposition sowie eine entsprechende Exposition im Kindes- und Jugendalter führt bereits bei geringen Nikotindosierungen zum Teil zu persistierenden Veränderungen im Zentralnervensystem. Diese beeinflussen verschiedene Neurotransmissionssysteme sowie die Expression nikotinerger

Azetylcholinrezeptoren. Darüber hinaus wurden neurotoxische Effekte von Nikotin beobachtet. Klinische Untersuchungen legen nahe, dass mütterliche Nikotinabhängigkeit sowie das ADHS assoziiert sind. Nikotinabusus sollte auf dem Boden der gewonnenen Erkenntnisse möglichst früh in der Schwangerschaft eingestellt werden, falls keine Abstinenz gelingt, damit ab dem zweiten Trimester, wenn eine Zunahme der Nikotinrezeptorbindungsstellen erfolgt, spätestens eine vollständige Nikotinabstinenz besteht.

Nikotinmissbrauch besitzt darüber hinaus auch noch in der Jugend und im frühen Erwachsenenalter einen nachhaltigen und schädigenden Einfluss auf die Entwicklung des Gehirns.

Kinder und Jugendliche sollten an den Schulen über die Nikotinfolgewirkungen aufgeklärt werden – insbesondere über die möglichen Auswirkungen auf deren Gehirnentwicklung. Die Zahl rauchender Schwangerer und Jugendlicher ist alarmierend und sie spricht dafür, dass in der Bevölkerung kein ausreichendes Bewusstsein für die

nachhaltig schädlichen Effekte des Nikotins vorhanden ist.

Es sind dringend weitere klinische Studien erforderlich, die die konkreten kausalen Zusammenhänge zwischen Nikotin und Gehirnentwicklung klären.

### Literatur

- Slotkin, T.A. et al. (2001) Perinatal exposure to environmental tobacco smoke induces adenylyl cyclase and alters receptor-mediated cell signaling in brain and heart of neonatal rats. *Brain Res.* 898: 73-81.
- Linnet, K.M. et al. (2003) Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am. J. Psychiatry* 160: 1028-1040.
- Jacobsen, L.K. et al. (2005) Effects of smoking and smoking abstinence on cognition in adolescent tobacco smokers. *Biol. Psychiatry* 57: 56-66.
- Jacobsen, L.K. et al. (2006) Visuospatial memory deficits emerging during nicotine withdrawal in adolescents with prenatal exposure to active maternal smoking. *Neuropsychopharmacology* 31: 1550-1561.

# WORLD PRECISION INSTRUMENTS



**MEET US AT THE FENS  
GENEVA, SWITZERLAND  
JULY 12-16, 2008**



**PRECISION STEREOTAXIC  
INSTRUMENTS**

AVAILABLE IN DIFFERENT  
CONFIGURATIONS AND  
WITH MANY ACCESSORIES FOR  
USE WITH A WIDE VARIETY OF  
SMALL ANIMALS - ALSO AVAIL-  
ABLE AS TAXIC SYSTEM WITH  
OUR UMP3 MICROINJECTION  
PUMP

**SINGLE OR DUAL MANIPULATORS**

**MANIPULATOR WITH DIGITAL READOUT**

FOR MORE DETAILS PLEASE SEE **WWW.WPI-EUROPE.COM**

WORLD PRECISION INSTRUMENTS      LIEGNITZER STR. 15      10999 BERLIN  
TEL +49 30 6188845      FAX +49 30 6188670      E-MAIL WPIDE@WPI-EUROPE.COM



Musso, F. et al. (2007) Smoking impacts on prefrontal attentional network function in young adult brains. *Psychopharmacology (Berl)* 191(1):159-69.

Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

### Kurzbiografien

**Carina Wessels:** geb. Röttger, geb. 1975. Studium der Humanmedizin in Aachen (1994-2001). 2001-2003 Ärztin im Praktikum an der Neurologischen Universitätsklinik Heidelberg und in der Neurologie der Rheinischen Kliniken Bonn. 2002 Promotion. 2003 bis 2006 wissenschaftliche Assistentin und Facharztzubereitung an der Neurologischen Klinik Gießen. Seit 15.01.2006 Assistenzärztin der Psychiatrischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Mitarbeiterin der Arbeitsgruppe Prof. Dr. med. G. Winterer.

**Georg Winterer:** geb. 1961. Studium der Humanmedizin und Philosophie an der Freien Universität Berlin (1981-1989). 1990-1992 Assistenzarzt in der Neurologischen Klinik der Landesklinik Brandenburg. 1992-1995 wissenschaftlicher Mitarbeiter und von 1995-1998 wissenschaftlicher Assistent in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Freien Universität Berlin. Facharzt für Psychiatrie und Psychotherapie 1995/1997. 1998-2003 Fogarty Stipendiat an den National Institutes of Mental Health (Bethesda, USA). 2003-2005 Oberarzt in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz. Seit 2006 W2-Professor und leitender Oberarzt in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Heinrich-Heine Universität-Düsseldorf.

### Korrespondenzadressen

**Dr. med. Carina Wessels**  
 Psychiatrische Klinik  
 Heinrich-Heine-Universität  
 Bergische Landstraße 2  
 40629 Düsseldorf  
 Tel.: + 49 (0) 211 9223 492  
 Fax: + 49 (0) 211 9223 498  
 E-Mail: carina.wessels@uni-duesseldorf.de

**Prof. Dr. med. Georg Winterer**  
 Psychiatrische Klinik  
 Heinrich-Heine-Universität  
 Bergische Landstraße 2  
 40629 Düsseldorf  
 Tel.: + 49 (0) 211 9223 463  
 Fax: + 49 (0) 211 9223 498

# Gehirn-Computer-Schnittstellen (Brain-Computer Interfaces): Anwendungen und Perspektiven

Andrea Kübler und Christa Neuper

### Zusammenfassung

**Brain-Computer Interfaces (BCI)** verbinden das menschliche Gehirn mit einem externen System. Die Aktivität des Gehirns kann nicht-invasiv mithilfe des Elektroenzephalogramms, Magnetoenzephalogramms und bildgebender Verfahren oder invasiv mittels des Elektrokortikogramms und intrakortikal erfasst werden. In einem Rückkopplungsprozess erhalten Probanden visuelle, auditorische oder taktile Echtzeitrückmeldung der Aktivität des Gehirns (Neurofeedback) und können so lernen, die entsprechende Aktivität zu regulieren. Mittlerweile wurde vielfach nachgewiesen, dass schwerstgelähmte Patienten, z.B. nach Schlaganfall oder im Endstadium neurodegenerativer Erkrankungen, denen kaum noch eine willentliche Muskelkontraktion bleibt, mit einem BCI kommunizieren können. Neurofeedback wurde auch erfolgreich eingesetzt, um kognitive und motorische Leistungen zu verbessern und emotionale Reaktionen zu beeinflussen. So konnte z.B. bei Kindern mit Aufmerksamkeits-Hyperaktivitätsstörung eine Verbesserung der Symptomatik erzielt werden. Auch wenn es noch diverse technische Probleme zu lösen und der Einfluss psychologischer Variablen, wie Motivation, Attributionsstile und Vorstellungskraft auf die BCI-Leistung aufzuklären gilt, halten wir die Zeit für gekommen, BCI vermehrt im klinischen Alltag einzusetzen.

### Abstract

**Brain-Computer Interfaces: Applications and perspectives.**

**Brain-computer interfaces (BCI)** connect the living human brain with an external system. The neuronal activity of the brain can be recorded non-invasively with electroencephalography, magnetoencephalography, and imaging technology as well as invasively with electrocorticography or intracortically with single electrodes or multiple electrode arrays. Within a closed loop, users are provided with visual, auditory, or tactile feedback of a specific component of brain activity which enables them to regulate this activity. In many studies it has been shown that patients with severe motor impairment can learn to communicate by means of a BCI. Patients after stroke or in the end-stage of neurodegenerative disease may even be in the so-called locked-in state, with only residual muscular movement for communication, such as eye blinks. Locked-in patients were also able to communicate with BCI. Neurofeedback has been used successfully to improve motor and cognitive performance and to influence emotional reaction. For example, after neurofeedback training children with attention deficit hyperactivity syndrome were better in focusing their attention and scored higher in intelligence tests. There are still several technical problems to overcome to broaden the field of BCI application and the influence of psychological variables such as motivation, mental imagery, or attributional styles on BCI performance remains to be elucidated. Despite these challenges we believe that the time has come for clinical application of BCI.

**Key words:** Brain-Computer Interfaces (BCI); neurofeedback; electroencephalography

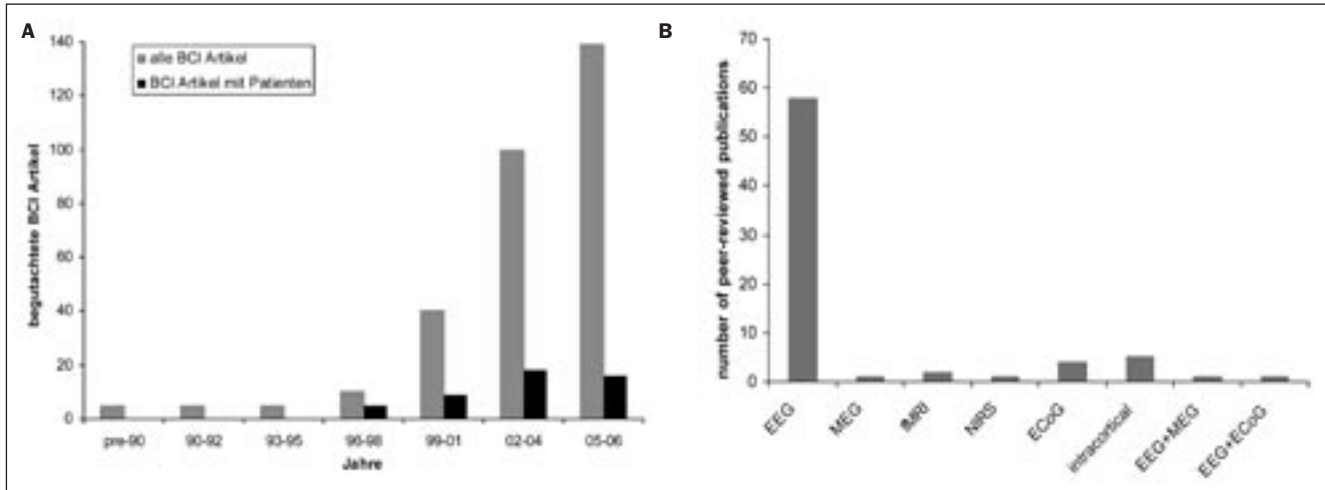
### Einleitung

Allein durch Kraft der Gedanken zu handeln war einst Stoff für Science Fiction. So war einer der Hauptfiguren in der ersten Folge von Raumschiff Enterprise (1964, die aber erst in der zweiten Staffel der 80er Jahre ausgestrahlt

wurde (www.trekkiesworld.de), ein Mann, der vollständig gelähmt war und nur durch seine Gedanken ein Lichtsignal einmal (für Ja) oder zweimal (für Nein) blinken lassen konnte.

Moderne Technologien zur direkten oder indirekten Messung der neuronalen Aktivität





**Abb. 1: (A) Ergebnisse einer Medline-Suche nach englischen BCI-Publikationen im Zeitraum 01.01.2005 bis 31.12.2006. Die Ergebnisse von vor den 90er Jahren bis 02-04 sind mit freundlicher Genehmigung von J.R. Wolpaw, Wadsworth Center, NY State Department of Health, Albany, USA. Die Suchworte waren „brain-computer interface“ und „brain-machine interface“; für die Jahre 2005-06 wurden zusätzlich die Suchworte „cortex“ AND „array“ AND „interface“ eingegeben. Graue Balken: alle BCI Artikel; schwarze Balken: BCI Artikel mit Patienten. (B) Originalartikel über BCI sortiert nach der Aufnahmetechnologie. Nur englische, zwischen 01.01.2006 und 13.6.2007 veröffentlichte Artikel wurden berücksichtigt. Das Elektroenzephalogramm (EEG) als Eingangssignal dominiert ganz offensichtlich in der BCI Forschung. ECoG, electrocorticogram; fMRI, functional Magnetic Resonance Imaging; MEG, magnetoencephalography; NIRS, near-infrared spectroscopy. (Aus Kübler, A. und Kotchoubey, B. (2007): Brain-computer interfaces in the continuum of consciousness. *Curr. Opin. Neurol.* 20 (6): 643-649, Abbildungen 2 und 3, S. 644/45, mit Genehmigung).**

des Gehirns machten aus dieser einstigen Vision Realität. Mittels nicht-invasiver Messverfahren, wie Elektroenzephalografie (EEG), Magnetoenzephalografie (MEG), funktionelle Magnetresonanztomografie (fMRI) oder Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) und invasiver Methoden, wie Elektrokortikografie (ECoG) oder intrakortikal implantierte Elektroden, wird die Aktivität einzelner oder weniger Neuronen oder vernetzter Neuronenverbände erfasst, in Echtzeit verarbeitet und in Steuerbefehle übersetzt. Auf diese Weise können Geräte gesteuert werden, die an einen Computer angeschlossen sind, etwa Neuroprothesen, Rollstühle, oder andere Hilfen für schwerstgelähmte Menschen. Gleichzeitig erfolgt eine unmittelbare Rückmeldung der neuronalen Aktivität (Neurofeedback), durch die Probanden lernen können, spezifische Hirnaktivität unter willentliche, d.h. kortikale Kontrolle zu bringen. Die Verbindung zwischen Gehirn und dem zu steuernden Computer wird als Gehirn-Computer-Schnittstelle (englisch: brain-computer interface, BCI) bezeichnet. BCI erleben in den letzten Jahren einen beachtlichen Zuwachs an Forschungsinteresse (Abbildung 1A).

Ein BCI kann als eine Aneinanderreihung funktionaler Komponenten dargestellt werden (Kübler und Neumann 2005; Mason und Birch 2003) (Abbildung 2). Der Anfangspunkt ist der BCI-Benutzer<sup>1</sup>, dessen Intention in der neuronalen Aktivität seines Gehirns codiert ist (input). Der Endpunkt ist das System, das

durch die Hirnaktivität gesteuert wird (output) und dem Benutzer Rückmeldung (Feedback) über seine Hirnaktivität gibt.

Der Begriff der Rückmeldung bzw. Rückkopplung stammt aus der Kybernetik und bezieht sich auf einen Prozess, der aufgrund seines vorübergehenden Zustandes reguliert wird. Solche geschlossenen (closed-loop) Systeme versorgen die Steuerungseinheit mit Information über den aktuellen Zustand des zu steuernden Parameters, die dann mit dem Zustand, der erreicht werden soll, verglichen werden kann. So kann die Steuerungseinheit Korrekturen vornehmen, sollten sie nötig sein (Mulholland 1977). Biofeedback macht sich diesen Prozess zunutze, indem eine Person Rückmeldung über einen autonomen, physiologischen Parameter erhält und es ihr dadurch ermöglicht, diesen Parameter entsprechend einer gestellten Aufgabe, wie Blutdruck oder den alpha-Rhythmus des Gehirns erhöhen bzw. erniedrigen, zu verändern und Strategien gegebenenfalls zu korrigieren. Wird neuronale Aktivität zurückgemeldet spricht man von Neurofeedback.

Verschiedene Methoden zur Erfassung der neuronalen Aktivität des Gehirns werden für BCI verwendet: *Invasive Messverfahren* erlauben die Aufzeichnung (1) von Aktionspotenzialen einzelner Neurone, wobei neurotrophe Faktoren enthaltende Elektroden

verwendet werden, die Nervenwachstum in die Glasspitze der Elektrode induzieren (Kennedy und Bakay 1998); (2) von Mustern neuronaler Aktivität mit Elektrodengittern (arrays), die wenige oder viele Elektroden enthalten können (Hochberg et al. 2006; Nicoletis et al. 2003); (3) lokaler Feldpotenziale (Hochberg et al. 2006; Schalk et al. 2007); und (4) des Elektrokortikogramms (ECoG), bei dem jedoch nicht in kortikales Gewebe eingedrungen wird (Felton, Wilson, Williams und Garell 2007; Hill et al. 2006). Alle invasiven Methoden erfordern kleinere oder größere operative Eingriffe in den Schädel bzw. das Gehirn (intrakortikale Verfahren). Von den *nicht-invasiven Messverfahren* wird die Elektroenzephalografie (EEG) am häufigsten angewandt (Abbildung 1B). Spezifisch werden dabei vor allem langsame kortikale Potenziale (Gleichstrompotenziale mit Frequenzen bis zu 0,01 Hz; Birbaumer et al. 1999; Kübler et al. 2001), sensomotorische Rhythmen im alpha- und beta-Band (8-12 Hz mit den entsprechenden Oberwellen im beta-Band (14-30 Hz): McFarland, Miner, Vaughan und Wolpaw 2000; Neuper und Pfurtscheller 2001) und ereigniskorrelierte Potenziale, die durch visuelle, auditorische oder taktile Stimulation ausgelöst werden. Hier ist vor allem die sogenannte P300, ein positiver Ausschlag im EEG ca. 300 ms nach Präsentation eines

<sup>1</sup>) Wegen des Leseflusses wird auf die Nennung weiblicher Formen verzichtet; angesprochen sind selbstverständlich immer beide Geschlechter.



## Exkurs 1

### Klassifikation neuronaler Aktivität

Das Ziel eines BCI ist es, Gehirnaktivität unmittelbar in Kommandos zu übersetzen. Dazu muss das System - auf jeden einzelnen Anwender abgestimmt - trainiert werden und „lernen“, die verschiedenen Gehirnmuster einer Person auf Basis charakteristischer Signalmerkmale zu unterscheiden. Prinzipiell gibt es dafür drei verschiedene methodische Ansätze, (a) die Klassifikation, (b) die Regression und (c) die Schätzung der Verteilungsdichtefunktion. Am häufigsten werden Klassifikationsmethoden verwendet, bei denen verschiedene Gehirnmuster bestimmten Klassen zugeordnet werden. Um eine optimale Trennbarkeit der Gehirnsignale zu erzielen, müssen die Merkmalsextraktion und Klassifikation optimal aufeinander abgestimmt werden. Kritische Aspekte bei der Auswahl geeigneter Merkmale sind das Signal-Rausch-Verhältnis, die Dimensionalität des Merkmalraumes, die Nichtstationarität von Gehirnsignalen und die im Allgemeinen zu geringe Anzahl von verfügbaren Trainingsdaten. Auch

beim Klassifikator gilt es, die richtige Wahl zu treffen: Bayes-Klassifikatoren (z.B. Lineare Diskriminanzanalyse) beschreiben Klassen durch statistische Prozesse und sagen die wahrscheinlichste Klasse voraus, Nächste-Nachbar-Klassifikatoren ordnen die Klasse des nächsten Nachbarpunktes zu, Supportvektormaschinen suchen Hyperebenen, die die Klassen „maximal stabil“ trennen, d.h. einen maximalen Abstand zwischen den Klassen erreichen. Ziel des Trainings des Klassifikators ist es, einen möglichst hohen Generalisierungsgrad (d.h. eine Verallgemeinerung der Merkmale) zu erreichen, damit das BCI in der Lage ist, neue, noch nie gesehene Daten richtig zu klassifizieren. Kreuzvalidierung und Bootstrapping-Methoden helfen, den wahren Klassifikationsfehler des Systems zu schätzen und die Parameter der einzelnen Methoden optimal anzupassen. Für die Auswahl der optimalen Parameter stehen spezielle Suchalgorithmen zur Verfügung; häufig werden Evolutionäre Algorithmen oder künstliche neuronale Netze für diese Aufgaben herangezogen.

seltenen Zielreizes in einem Strom von Standardstimuli, zu nennen (Farwell und Donchin 1988; Hoffmann, Vesin, Ebrahimi und Diserens, 2008). Mit visuell oder taktil evozierten „stabilen“ Potenzialen (steady state evoked potentials), die durch höherfrequente Stimulation (6-24 Hz) über den entsprechenden sensorischen Arealen ausgelöst werden, wird zunehmend experimentiert (Gao, Xu, Cheng und Gao 2003; Müller-Putz, Scherer, Neuper und Pfurtscheller 2006).

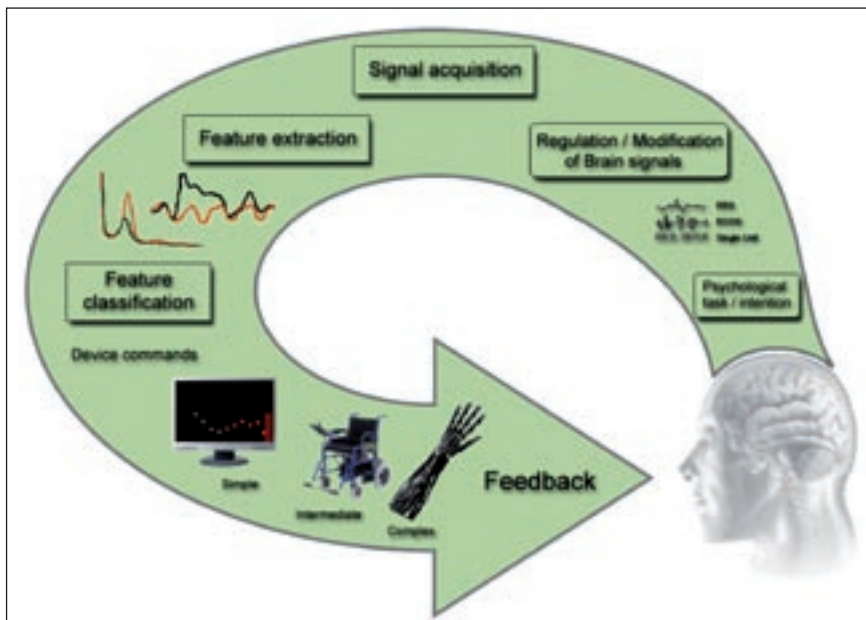
Die abgeleiteten Signale werden digitalisiert und einer Reihe von Prozeduren, wie räumliche Filterung, Amplitudemessung, spektrale Analyse oder Trennung einzelner Neurone, unterzogen (Wolpaw, Birbaumer, McFarland, Pfurtscheller und Vaughan 2002) (Exkurs 1). Im nächsten Schritt wandelt ein spezifischer Algorithmus die ausgewählten Komponenten in Befehle um, die die Intention des Benutzers widerspiegeln. Diese Befehle können Anwendungen, wie einen Roboterarm direkt steuern oder indirekt über Bewegungen eines Cursors auf einem Bildschirm, wodurch „Schalter“ für die Interaktion mit der Umgebung aktiviert und Symbole, Buchstaben oder Wörter eines Kommunikationsprogramms ausgewählt werden können; das Surfen im Internet ist ebenfalls möglich (Karim et al. 2006; Mugler et al. 2008).

Die willentliche Kontrolle über die Hirnaktivität und direkt vom Gehirn ausgehende Steuerung kann zu unterschiedlichen Zwecken genutzt werden. Dieser Artikel stellt Anwendungen von BCI zur Kommunikation bei schweren neurologischen Störungen, Ansteuerung von Neuroprothesen, Verbesserung kognitiver und motorischer Leistungen und Beeinflussung der Symptomatik von Krankheiten, wie Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung, dar und schließt mit einem Ausblick in die Zukunft.

Bevor wir die Anwendungsmöglichkeiten von BCI näher beschreiben, führen wir aus, wie Probanden mithilfe von Neurofeedback erlernen können, ein BCI zu steuern.

### BCI-Steuerung mittels Neurofeedback

Zentrale Elemente der BCI-Steuerung sind (1) die Rückmeldung der Hirnaktivität des Probanden in Echtzeit und (2) das Erlernen der willentlichen Kontrolle über die Hirnaktivität mittels operanter – im weitesten Sinne – Konditionierung, die häufig durch erprobte kognitive Strategien, beispielsweise motorische Vorstellungen, unterstützt wird. Die Rückmeldung kann im einfachsten Fall über die Bewegung eines grafischen Signals auf dem Bildschirm (Cursor) oder komplexer, etwa in Form eines Computerspiels, gegeben werden. Die Aufgabe der Probanden ist zum



**Abb. 2: Schematische Darstellung einer Gehirn-Computer-Schnittstelle (brain-computer interface, BCI). Neuronale Aktivität wird aufgenommen und beinhaltet Information über die Intention der Benutzer. Durch den geschlossenen Rückmeldekreislauf (Feedback) lernen die Benutzer, spezifische Aktivität des Gehirns willentlich zu steuern. Die Signale des Gehirns werden aufgenommen, relevante Komponenten werden herausgefiltert, klassifiziert und in Kommandos übersetzt, mit denen Anwendungen gesteuert werden können. (Aus Kübler, A. und Kotchoubey, B. (2007): Brain-computer interfaces in the continuum of consciousness. Curr. Opin. Neurol. 20 (6): 643-649, Abbildung 1, S. 644, mit Genehmigung).**

Beispiel, einen Cursor in eines von zwei auf dem Bildschirm präsentierten Ziele zu steuern. In einem auf sensomotorischen Rhythmen (SMR) beruhenden BCI müssen die Probanden dazu die Amplitude der Rhythmen erhöhen, was durch gedankliche „Entspannung“ (an Nichts denken), bzw. erniedrigen, was durch Bewegungsvorstellung erreicht werden kann (Neuper, Müller, Kübler, Birbaumer und Pfurtscheller 2003). Auch Bewegungsvorstellungen verschiedener Gliedmaßen, die zu spezifischen Veränderungen der rhythmischen EEG-Aktivität über der sensomotorischen Hirnrinde führen, können zur Cursorsteuerung verwendet werden, wobei speziell für Vorstellungen von Bewegungen mit der rechten versus linken Hand unterscheidbare Muster gefunden wurden (Neuper, Schlögl und Pfurtscheller 1999; Pfurtscheller, Neuper, Ramoser und Müller-Gerking 1999). Wird der Cursor in das vorgegebene Ziel gesteuert, wird der Proband z.B. mit einem lächelnden Gesicht belohnt. In klassischen operanten BCI (Kübler et al. 1999) starten die Probanden auf dem Zufallsniveau, d.h. sie haben keine Kontrolle über die Cursorbewegung auf dem Bildschirm. Werden SMR genutzt, kann die Instruktion zur Bewegungsvorstellung – insbesondere wenn die Vorstellung nicht nur visuell, sondern mit kinesthetischen Empfindungen gekoppelt ist – dazu führen, dass die Probanden unmittelbare, aber durch Training durchaus verbesserbare, Kontrolle über diese Hirnaktivität haben (Neuper, Scherer, Reiner und Pfurtscheller 2005). Moderne Verfahren der Signalverarbeitung und Klassifikation (Mustererkennung) erlauben vielen (gesunden) Probanden schon nach kurzer Datenaufnahme (ca. 1 Stunde) und Training eines sogenannten Klassifikators (Exkurs 1) eine nahezu 100%ige Treffergenauigkeit (Blankertz, Dornhege, Krauledat, Müller und Curio 2007; Blankertz et al. 2006; Guger et al. 2001).

### BCI zur Kommunikation

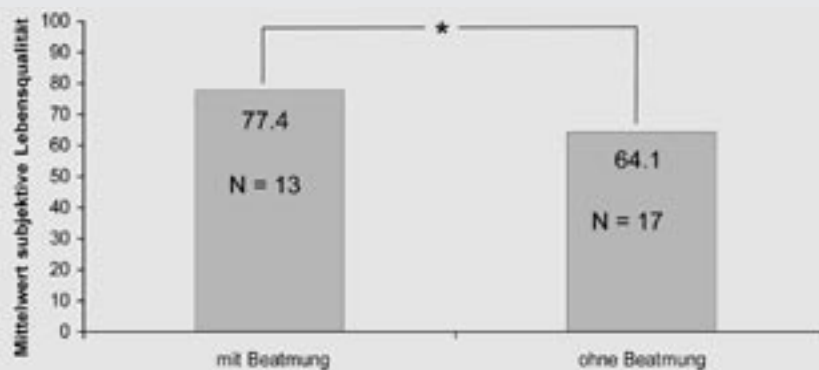
Nachdem schon hinreichend bekannt war, dass Menschen in der Lage sind, ihre Hirnaktivität willentlich zu beeinflussen, wurden Mitte der 90er Jahre die Bemühungen intensiviert, diese Fähigkeit des Menschen zur Steuerung von Kommunikationsprogrammen zu nutzen (Abbildung 1). Verschiedene neurologische Erkrankungen, wie Schlaganfall oder amyotrophe Lateralsklerose (Exkurs 2), können zu schwerer oder gar vollständiger Lähmung des motorischen Systems führen. Dies bedeutet für die Patienten, dass sie nur noch mithilfe einzelner Bewegungen, wie Blinzeln oder Zucken mit dem Mundwinkel, kommunizieren können. Daher wird der Zustand solcher Patienten als „eingeschlos-

## Exkurs 2

### Amiotrophe Lateralsklerose (ALS)

Die ALS ist eine Erkrankung, die zur Degeneration vor allem der 1. und 2. Motoneurone führt. Folge dieser Degeneration ist zunehmende körperliche Lähmung. Die Inzidenz liegt bei 1,5-2 / 100.000. Die Ursachen der sporadisch auftretenden ALS (90-95% der Fälle) sind weitgehend unbekannt und nur für 5-10% der erblichen Form konnte eine Genmutation, die zu einer Fehlfunktion des Enzyms Superoxiddismutase führt, nachgewiesen werden (Mitchell und Borasio 2007). Mit der ALS einher geht ein erhöhter Spiegel erregender Neurotransmitter im Gehirn, wie Glutamat, der zu vermehrtem Einstrom von Natrium, Wasser und Kalzium in die postsynaptische Zelle und damit zu deren Depolarisation führt. Ein erhöhter Kalziumspiegel führt über mehrere Kaskaden letztendlich zum Zelltod (Ludolph, Meyer und Riepe 2000). Die bislang unheilbare Krankheit führt bei 50% der Patienten innerhalb von drei Jahren zum Tod durch Schwächung der Atemmuskulatur (Mitchell und Borasio 2007), sofern keine lebenserhaltenden Maßnahmen ergriffen werden. Im Jahr 2007 geriet die ALS

durch den Tod des Malers und Leiters der staatlichen Kunstakademie in Düsseldorf, Jörg Immendorff, in die Medien. Entgegen der gängigen Meinung sind ALS-Patienten nur selten depressiv (Hammer et al. 2008) und können trotz fortschreitender Krankheit eine hohe Lebensqualität erleben (Young und McNicoll 1998). In einer unserer Patientenstichproben, die nur Patienten enthielt, deren Diagnose mehr als ein halbes Jahr zurücklag und deren Anteil an schwerer betroffenen Patienten vergleichsweise hoch war, fanden wir sogar eine positive Korrelation zwischen subjektiver Lebensqualität und dem Ausmaß körperlicher Beeinträchtigung. Eine genauere Analyse der Daten ergab, dass Patienten, die nicht-invasiv oder invasiv beatmet wurden, eine signifikant höhere Lebensqualität erlebten als Patienten, die nicht künstlich beatmet waren (s. Abbildung), was auf die Folgen chronischer Sauerstoffunterversorgung, wie Müdigkeit und Konzentrationsschwäche, zurückgeführt werden könnte. Mit Fortschreiten der Erkrankung wird die Aufrechterhaltung der Kommunikation zunehmend wichtig und immer schwieriger; ALS-Patienten sind daher einer der im Mittelpunkt stehenden Zielgruppen für BCI zur Kommunikation.



**Abb. zu Exkurs 2: Die subjektive Lebensqualität (gemessen mit dem Schedule for the Evaluation of Individual Quality of Life) für beatmete und nicht-beatmete ALS-Patienten. Die Werte beatmeter Patienten liegen im Bereich gesunder Menschen zwischen 19 und 51 Jahren und diejenigen nicht-beatmeter im Bereich von Patienten mit Reizdarm oder Magengeschwür (McGee et al. 1991). Der maximal erreichbare Wert ist 100%.**

sen“ bezeichnet (engl.: locked-in state, LIS); kann gar kein Muskel mehr aktiviert werden, spricht man vom vollständigen Eingeschlossenensein (complete locked-in state, CLIS). Für solche Patienten wurden Kommunikationsprogramme, die allein durch die Aktivität des Gehirns gesteuert werden, entwickelt (Kübler, Kotchoubey, Kaiser, Wolpaw und Birbaumer 2001). Im Jahre 1999 konnte die erste Nachricht, die allein mithilfe eines BCI verfasst wurde, veröffentlicht werden (Birbaumer

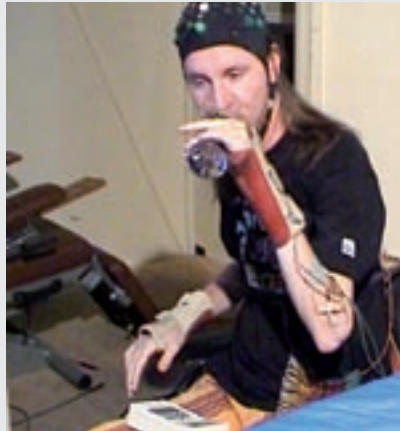
et al. 1999). Damals erfolgte die Buchstabenauswahl durch Regulation langsamer kortikaler Potenziale und die Mindestzeit für eine Buchstabenauswahl aus dem Alphabet, die in mehreren sukzessiven Auswahlritten erfolgte, betrug 20 Sekunden (Birbaumer et al. 1999; Kübler et al. 2001). Heute erlauben Systeme mit verbesserter Buchstabenauswahl auf Basis motorischer Vorstellungen Übertragungsraten von etwa sechs bis acht Buchstaben pro Minute (Müller et al. 2008).



## Exkurs 3

### Neuroprothesen zur Wiederherstellung der Handfunktion

Läsionen des zentralen Nervensystems, wie Querschnittslähmungen und Schlaganfall, ziehen den teilweisen oder vollständigen Verlust motorischer und sensorischer Funktionen der betroffenen Körperteile nach sich. Da die Muskulatur und die peripheren motorischen Neurone weiterhin intakt sind, können durch gezielte elektrische Stimulation Muskelkontraktionen und damit gewünschte Bewegungsabläufe herbeigeführt werden. Neuroprothesen können z.B. die Greiffunktion einer gelähmten Hand wieder herstellen. Ein Beispiel für eine implantierbare Neuroprothese ist das sogenannte „Freehand“-System der Arbeitsgruppe Peckhams in den USA (Davis, Mulcahey und Smith 1998). Aber auch mit einer nicht-invasiven, über Stimulationselektroden auf der Hautoberfläche herbeigeführten funktionellen Elektrostimulation (FES) kann eine gezielte Aktivierung der



**Ein Proband mit hoher Querschnittslähmung (auf Höhe C4 /C5) kann mithilfe von BCI-gesteuerter funktioneller Elektrostimulation ein auf dem Tisch stehendes Glas ergreifen und festhalten. Durch verbleibende Aktivität des linken Bizepses kann er das Glas heben und zum Mund führen.**

Muskulatur realisiert werden, um entsprechende Bewegungsphasen zu erreichen (Abbildung).

Eine Alternative zu den bisher beschriebenen Ansätzen sind BCI, die nicht auf Neurofeedback, sondern auf externer Stimulation beruhen. Aufgrund ihrer Effizienz in der Buchstabenauswahl sind diese BCI mittlerweile die Methode der Wahl zur Kommunikation.

*BCI-Steuerung mittels ereigniskorrelierter Potenziale (EKP).* Die ersten Versuche hierzu wurden bereits 1988 von Farwell und Donchin veröffentlicht, aber erst seit Anfang dieses Jahrhunderts fand dieser BCI-Ansatz intensive Beachtung (Donchin, Spencer und Wijesinghe 2000). Das mit Abstand am meisten genutzte ereigniskorrelierte Potenzial ist die sogenannte P300-Komponente. Im klassischen Paradigma des P300-BCI betrachten die Probanden eine Buchstabenmatrix, z.B. bestehend aus sechs Reihen und sechs Spalten; in jeder der 36 Zellen befindet sich ein Buchstabe oder andere für den Probanden relevante Zeichen (Abbildung 3). Die Reihen und Zeilen werden in schneller Folge erleuchtet (visuelle Stimulation), wobei in jedem Durchgang jede Zeile und jede Spalte einmal aufleuchtet. Aufgabe der Probanden ist es zu zählen, wie oft der Buchstabe, den sie auswählen möchten, aufblitzt. Der Zielbuchstabe stellt im Vergleich zur Gesamtheit aufleuchtender Spalten und Zeilen einen seltenen Reiz in einem Strom von Standardreizen dar und löst somit eine P300 aus, die vom System erkannt werden kann (Nijboer et al., im Druck; Sellers, Kübler und Donchin 2006;

Sellers und Donchin 2006). Mit einem derartigen BCI ist die Auswahl von bis zu zehn Buchstaben pro Minute möglich (Nijboer et al., im Druck), womit BCI mit marktüblichen Kommunikationsprogrammen, die mittels eines Schalters bedient werden, Schritt halten können.

Menschen im Locked-in-Zustand können solche BCI mit hoher Genauigkeit bedienen. Schreitet die Krankheit jedoch zum vollständigen Locked-in-Zustand fort, können die betroffenen Patienten ihren Blick nicht mehr fokussieren. Deshalb werden zunehmend BCI mit nicht-visueller, d.h. auditorischer oder taktiler, Stimulation entwickelt (Furdea et al., eingereicht; Hill, Lal, Bierig, Birbaumer und Schölkopf 2005; Hinterberger et al. 2004; Müller-Putz, Scherer, Neuper und Pfurtscheller 2006; Nijboer et al. 2008) und mittlerweile auch mit Personen im Locked-in-Zustand erprobt (Kübler et al., im Druck).

### BCI zur Wiederherstellung von Bewegungen

Eine Vision der BCI-Forschung besteht darin, eine direkt vom Gehirn gesteuerte Neuroprothese (Exkurs 3) zu realisieren, also eine direkte Verbindung („closed-loop“) zwischen der Gehirnaktivität (motorische Zentren) und der ausführenden Extremität (Nicoletis 2003). Ein wesentliches Ziel ist beispielsweise, Menschen mit einer Querschnittslähmung im

Halswirbelbereich wieder eine selbstständige Greiffunktion zu ermöglichen. Die Realisierung einer EEG-basierten Handorthesensteuerung an einem tetraplegischen Patienten wurde erstmals 2000 berichtet und erbrachte den Nachweis, dass die Steuerung der Greiffunktion der gelähmten Hand durch ein BCI erreicht werden kann (Pfurtscheller, Guger, Müller, Krausz und Neuper 2000). Nach einer Trainingsperiode von ca. vier Monaten war der Patient in der Lage, mithilfe des BCI und Bewegungsvorstellungen die Handorthese mit nahezu hundertprozentiger Sicherheit zu bewegen, d.h. zu öffnen und zu schließen. In einem nächsten Schritt wurde die erfolgreich eingesetzte elektro-mechanische Orthese durch eine nicht-invasive funktionelle Elektrostimulation (FES) ersetzt. Dabei wurden für das Auslösen der Greiffunktion Oberflächenelektroden am Unterarm der gelähmten Hand angebracht und mittels Elektrostimulator verschiedene Greifmuster eingestellt. Die durch Bewegungsvorstellungen des Patienten hervorgerufenen Veränderungen im EEG wurden mittels Klassifikation und Schwellenwertdetektor extrahiert und damit eine Umschaltung zwischen verschiedenen Phasen der Greiffunktion ermöglicht (Abbildung Exkurs 3). Die BCI-gesteuerte FES ist auch bei implantierbaren Neuroprothesen einsetzbar. So konnte bei einem weiteren Patienten mit ähnlicher Läsion, der eine sogenannte Freehand-Neuroprothese implantiert und mit einem Schulterjoystick in Verwendung hatte, ebenfalls eine Steuerung mit dem BCI realisiert werden (Müller-Putz, Scherer, Pfurtscheller und Rupp 2005; Neuper, Müller-Putz, Scherer und Pfurtscheller 2006).

### BCI zur Leistungsverbesserung

Bei den bisher beschriebenen BCI diente die mittels Elektroenzephalografie (EEG) gemessene Hirnaktivität als Eingangssignal. Das EEG hat den Vorteil der hohen zeitlichen Auflösung (schnelle Kommunikation!) und der einfachen Anwendung, auch bei Patienten zu Hause. Nachteile, die durch bildgebende Verfahren überwunden werden können, sind jedoch die geringe räumliche Auflösung und der fehlende Zugang zu kortikalen und subkortikalen Arealen, die im Innern des Gehirns liegen, wie Orbitofrontalkortex, Insula, Thalamus oder Amygdala. Der Nachteil funktioneller Magnetresonanztomografie (fMRT) liegt im hohen apparativen und finanziellen Aufwand und die Bindung ans Labor oder an die Klinik. Hier könnte in Zukunft die weniger aufwendige funktionelle Nahinfrarotspektroskopie Abhilfe schaffen; bereits in mehreren Studien wurde die Eignung dieses Signals für die Detektion von Bewegungsvorstellungen

und Echtzeitrückmeldung nachgewiesen (Coyle, Ward, Markham und McDarby 2004; Sitaram et al. 2007; Wriessnegger, Kurzmann und Neuper 2008).

Studien mit Feedback langsamer kortikaler Potenziale und sensomotorischer Rhythmen, gemessen mit EEG, und der BOLD-Antwort (BOLD = blood oxygene level dependent), gemessen mit fMRT, ergaben verschiedene Effekte der Aktivitätsregulation auf das Verhalten: Nach selbst induzierter Erhöhung der neuronalen Aktivität des kontralateralen motorischen Kortex war sowohl mit EEG als auch mit fMRT die Reaktionszeit in einer motorischen Aufgabe verringert (Rockstroh, Elbert, Lutzenberger und Birbaumer 1982; Weiskopf et al. 2004). Ebenso konnten lexikalische Entscheidungsaufgaben durch Rückmeldung langsamer kortikaler Potenziale über linkshemisphärischen Spracharealen beschleunigt (Pulvermüller, Mohr, Schleicher und Veit 2000) und die Gedächtnisleistung nach Verringerung des BOLD-Signals im parahippokampalen Platzareal verbessert werden (Weiskopf et al. 2004). In diesen Beispielen ist die Verbindung zwischen Verhalten und zugrunde liegendem Gehirneareal offensichtlich. Unspezifischere Lerneffekte konnten beeindruckend in Studien mit Musikstudenten und Tänzern nachgewiesen werden. Nach fünf Wochen, in denen zehn Sitzungen mit Rückmeldung von Alpha- und Thetaaktivität stattfanden, war der künstlerische Ausdruck der Musikstudenten, nach Bewertung verblindeter Experten, signifikant verbessert (Egner und Gruzelić 2003). Eben solche Verbesserung der technischen Leistung, des Ausdrucks und der Gesamtdarstellung wurde bei Tänzern nach Alpha-Theta-Feedback nachgewiesen (Raymond, Sajid, Parkinson und Gruzelić 2005; Gruzelić, Egner und Vernon 2006).

Eine weitere Anwendung von Neurofeedback eröffnet sich in der Rehabilitation nach Schlaganfall (in Europa erleiden jedes Jahr 1,1 Millionen Menschen einen Schlaganfall). Im Rahmen laufender Forschungsarbeiten wird untersucht, ob es möglich ist, mittels Bewegungsvorstellungen gekoppelt mit BCI-Feedbacktraining die neuronale Plastizität betroffener kortikaler Neuronennetzwerke und damit die Rehabilitation zu verbessern (Birbaumer et al. 2006; Pfurtscheller und Neuper 2006). Das Grundkonzept dieser neuen Therapie besteht darin, dass durch wiederholte Bewegungsvorstellungen der gelähmten Hand, die betroffenen neuronalen Netzwerke in den motorischen Kortexregionen angeregt werden können (Sharma, Pomeroy und Baron 2006; Buch et al. 2008). Wenn die mentale Vorstellung der Handbewegung zu einer bewegungsspezifischen Aktivierung führt, kann dies mithilfe des BCI detektiert und



**Abb. 3:** Ein BCI-Benutzer mit amyotropher Lateralsklerose während einer Sitzung mit dem P300-BCI. Die Aufgabe des Benutzers ist hier, das vorgegebene Wort „Franz“ zu kopieren. Die Buchstaben FRA wurden bereits korrekt aus der 6x6 Buchstabenmatrix ausgewählt. Spalten und Reihen blitzen in schneller Abfolge auf und der Benutzer muss zählen, wie oft der Zielbuchstabe – hier im nächsten Durchgang „N“ – aufleuchtet. Je nach Klassifizierbarkeit der P300 Komponente muss der Buchstabe 10 bis 30-mal aufblitzen, bevor eine Auswahl erfolgt.

direkt dem Patienten rückgemeldet werden. Der Vorteil dieses Ansatzes liegt darin, dass ein auf motorischen Vorstellungen und Neurofeedback beruhendes Training auch bei stark eingeschränkter oder gänzlich fehlender Funktionalität der Extremität möglich ist.

### BCI zur Behandlung klinischer Störungen

Die Basis für die Anwendung von BCI bei klinischen Störungen ist das Wissen über deren neurobiologische Korrelate. Ist die Störung mit einer Hyper- oder Hypoaktivität in spezifischen Arealen (gemessen mit fMRT) oder bestimmten Frequenzbändern (gemessen mit EEG) verbunden, so liegt die Idee, diese Fehlaktivität mittels Neurofeedback zu beeinflussen bzw. zu korrigieren, auf der Hand. Dies wird im Folgenden beispielhaft für die Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung dargestellt.

*Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS).* Mit einer Prävalenz von 3-5% ist ADHS die häufigste neurologische Verhaltensstörung unter Kindern im Schulalter. Die Störung verläuft chronisch und 30-70% betroffener Kinder zeigen die Störung auch im Erwachsenenalter. Zentrale Symptome sind gestörte Aufmerksamkeit, gesteigerte Aktivität und Impulsivität, die man auch kurz als Defizite exekutiver Kontrolle, bedingt durch Fehlregulation fronto-striataler

Netzwerke zusammenfassen kann (Bradshaw 2001). Ein konsistentes Ergebnis von Studien mit bildgebenden Verfahren ist die Unteraktivierung des rechten anterioren Zingulums, eines Areals, das in den rechts-dominanten Zirkel der Verhaltenshemmung bestehend aus mittlerem und inferiorem frontalen Gyrus, frontalen limbischen Strukturen, anteriorer Insula und inferiorem Parietallappen eingebunden ist (Garavan, Ross und Stein 1999; Kelly et al. 2004). Elektrophysiologische Studien berichten von frontal verlangsamtem EEG mit erhöhter Aktivität im Theta- und verringerter Aktivität im Betaband, die sowohl bei Ruhe als auch kognitiver Aktivität beobachtet werden kann, was zur Annahme führte, dass die Symptome auf einer mangelnden Erregbarkeit (von Teilen) des Gehirns beruhen.

Entsprechend dieser neurophysiologischen Befunde, zielen Neurofeedbacktherapien darauf ab, die kortikale Aktivität zu erhöhen. In einer aktuellen, gut kontrollierten Studie mit 8 – 13-jährigen Kindern mit ADHS konnten Strehl und Kollegen die Wirksamkeit von Feedback langsamer kortikaler Potenziale und der Aktivität im Theta- und Betaband nachweisen (Strehl et al. 2006). Innerhalb von mehreren Sitzungen lernten die Kinder, die entsprechende kortikale Aktivität zu kontrollieren. Kinder beider Gruppen zeigten nach dem Training verbesserte Aufmerksamkeitsleistung als auch einen erhöhten Intelligenzquotienten. Eltern und Lehrer be-



richteten über verhaltensmäßige und kognitive Verbesserungen, die auch noch ein halbes Jahr später nachweisbar waren. Für die Kinder, die trainiert wurden, ihre langsamen kortikalen Potenziale zu steuern, konnte ein korrelativer Zusammenhang der Verhaltensvariablen mit der Regulationsleistung nachgewiesen werden (Leins et al. 2007).

Kürzlich konnte von der Arbeitsgruppe um Birbaumer bei gesunden Probanden die Fähigkeit zur Regulation der BOLD-Antwort – gemessen mit funktioneller Magnetresonanztomografie (fMRT) – im anterioren Zingulum nachgewiesen werden. Gesunde Probanden wurden mit einer Go-NoGo-Aufgabe konfrontiert, in der auf eine hohe Anzahl von Stimuli, die in schneller Abfolge präsentiert werden, eine motorische Reaktion (z.B. Knopfdruck) erfolgen muss; nur bei einer geringen Anzahl muss die motorische Reaktion unterdrückt werden (Antwortunterdrückung – response inhibition). In diesem Paradigma bedarf es besonderer Anstrengung, die präpotente Reaktion zu unterdrücken und sie dient daher als Maß für die Fähigkeit, bereits eingeleitetes Verhalten zu hemmen. Bei sechs gesunden Probanden war nach willentlicher Aktivierung des anterioren Zingulums die Anzahl verfehlter Reaktionsunterdrückungen verringert (Kübler, im Druck). Damit ist der Weg geebnet, auch das fMRT-Neurofeedback auf seine Wirkung bei Probanden mit ADHS zu testen.

### Perspektiven

Die willentliche Beeinflussung spezifischer Hirnareale und des damit verbundenen Verhaltens über direkte Gehirn-Computer-Schnittstellen wurde in den letzten Jahren hinreichend nachgewiesen. Bislang haben auf Neurofeedback basierende Trainingsmethoden und Therapien jedoch kaum Eingang in die klinische Routine gefunden und das, obwohl sie die wahrgenommene Selbsteffizienz steigern und völlig nebenwirkungsfrei sind. Wir führen dies auf die bislang eher aufwendige Technologie und lange Trainingszeit zum Erlernen der Kontrolle über die kortikale Aktivierung zurück. Mittlerweile wurden jedoch große Fortschritte in der Signalverarbeitung erzielt, sodass Trainingszeiten drastisch – bis auf weniger als eine Stunde – verkürzt werden konnten (Blankertz et al. 2007; Blankertz et al. 2006). Die Verwendung von EEG-Kappen, deren Elektroden mit Gel gefüllt werden müssen, wird von vielen Probanden als unangenehm empfunden und stellt vor allem für schwerstgelähmte Patienten, die auf Pflege angewiesen sind, eine große Belastung dar. Hier ist die Entwicklung sogenannter Trockenelektroden vielversprechend (Popescu et al. 2007). Ein weiteres Ziel für die Zukunft ist die Integration

verschiedener Steuerungsmöglichkeiten, wie Sprache, Muskelkontraktion, EEG-Aktivität, in einem System, sodass – je nach Bedarf und aktueller Möglichkeit – zwischen verschiedenen Steuerungsmodi gewechselt werden kann. Für schwerstgelähmte Patienten könnte dies bedeuten, dass sie ein Kommunikationssystem durch Muskelaktivität steuern – z.B. durch Zungenbewegung – und bei Ermüdung der Muskulatur auf EEG-Steuerung umschalten. Ebenso zielt aktuelle Forschung darauf ab, verschiedene Anwendungsbereiche, wie sprachliche Kommunikation, Steuerung von Vorrichtungen in der Umgebung der Patienten oder die Nutzung von Internetdiensten in einem System zu integrieren. Neue klinische Anwendungsbereiche, in denen BCI verstärkt zum Einsatz kommen könnten, sind z.B. Reduktion chronischer Schmerzen (deCharms et al. 2005), Wiederherstellung von Bewegungen nach Schlaganfall (Buch et al. 2008) oder Minimalkommunikation bei Störungen des Bewusstseins (Kübler und Kotchoubey 2007). Wir sind optimistisch, dass mit vereinfachter und variabler Signalaufnahme, Weiterentwicklung der Signalverarbeitung, und integrierter Anwendungssteuerung, BCI in Zukunft – vor allem zum Wohle schwerstkranker Menschen – vermehrt eingesetzt werden können.

### Literatur

- Birbaumer, N., Weber, C., Neuper, C., Buch, E., Haapen, K. und Cohen, L. (2006): Physiological regulation of thinking: brain-computer interface (BCI) research. *Prog. Brain Res.* 159: 369-391.
- Kübler, A. und Kotchoubey, B. (2007): Brain-computer interfaces in the continuum of consciousness. *Curr. Opin. Neurol.* 20 (6): 643-649.
- Leins, U., Goth, G., Hinterberger, T., Klinger, C., Rumpf, N. und Strehl, U. (2007): Neurofeedback for children with ADHD: a comparison of SCP and Theta/Beta protocols. *Appl. Psychophysiol. Biofeedback* 32 (2): 73-88.
- Neuper, C., Müller-Putz, G. R., Scherer, R. und Pfurtscheller, G. (2006): Motor imagery and EEG-based control of spelling devices and neuroprostheses. *Prog. Brain Res.* 159: 393-409.
- Wolpaw, J. R., Birbaumer, N., McFarland, D. J., Pfurtscheller, G. und Vaughan, T. M. (2002): Brain-computer interfaces for communication and control. *Clin Neurophysiol* 113 (6): 767-791.

Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autorinnen angefordert werden.

### Kurzbiografien

**Andrea Kübler:** Nach dem Studium der Biologie promovierte Andrea Kübler bei Prof. Birbaumer am Institut für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie der Universität Tübingen über die Entwicklung

von Gehirn-Computer-Schnittstellen zur Kommunikation für Locked-in-Patienten, während sie gleichzeitig Psychologie studierte. Während der Promotion absolvierte sie einen Gastaufenthalt bei Prof. Gruzeliy am Imperial College of Science, Technology and Medicine in London. Es folgte ein zweijähriger Postdoktorandaufenthalt am Department of Psychology and Institute of Neuroscience, Trinity College Dublin, Irland, unter der Betreuung von Prof. Garavan und Prof. Robertson. Während dieser Zeit beschäftigte sie sich mit exekutiven Funktionen bei Süchtigen und funktioneller Bildgebung. Sie habilitierte sich bei Prof. Birbaumer auf einer Assistentenstelle und erhielt im Jahr 2005 an der Fakultät für Informations- und Kognitionswissenschaften der Universität Tübingen die *venia legendi* für das Fach Psychologie (Betreuer Prof. Hautzinger). Zurzeit ist Andrea Kübler als Senior Lecturer an der School of Human and Life Sciences, Roehampton University in London in der Arbeitsgruppe von Prof. Vögele.

**Christa Neuper:** Christa Neuper studierte an der Universität Graz Psychologie und promovierte 1984 an der Naturwissenschaftlichen Fakultät. Nach einer anschließenden Familienpause begann sie 1990 ihre Forschungs- und Lehrtätigkeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Pfurtscheller an der Technischen Universität Graz. Sie habilitierte sich 2002 für Psychologie an der Universität Graz und wurde dort 2005 zur Professorin für Neuropsychologie bestellt. Seit 2006 leitet sie zudem das Institut für Semantische Datenanalyse (mit dem Brain-Computer Interface Labor) an der Fakultät für Informatik der Technischen Universität Graz. Der Bereich der direkten Gehirn-Computer-Kommunikation bildet seit Jahren einen wesentlichen Schwerpunkt ihrer Arbeit. Zu weiteren Forschungsschwerpunkten zählen die neuronalen Grundlagen kognitiver und sensomotorischer Informationsverarbeitung, die Dynamik von Gehirnoszillationen sowie neue Anwendungsmöglichkeiten der BCI-Technologie im Kontext kognitionspsychologischer Ansätze.

### Korrespondenzadresse

**PD Dr. Andrea Kübler**  
 Clinical and Health Psychology Research  
 Centre, School of Human and Life Sciences  
 Roehampton University  
 London SW15, UK  
 Tel.: + 44 (0) 20 8392 3878  
 Fax: + 44 (0) 20 8392 3610  
 E-Mail: a.kuebler@roehampton.ac.uk

## ARTIKEL DES QUARTALS

Vorgestellt von Josef P. Rauschecker, Department of Physiology and Biophysics, Georgetown University School of Medicine, Washington DC, USA

### A voice region in the monkey brain

Christopher I. Petkov, Christoph Kayser, Thomas Steudel, Kevin Whittingstall, Mark Augath und Nikos K. Logothetis

Erschienen in *Nature Neuroscience*, März 2008; 11(3): 367-74

#### Funktionelle Magnetresonanztomografie beim Rhesusaffen: Eine Stimmregion im vorderen Temporallappen

Wie bestimmt unser Gehirn die Identität eines Anrufers, wenn wir seine Stimme am Telefon hören? Gesprochene Sprache enthält außer den semantischen Informationen, die uns den Sinngehalt eines Satzes angeben, noch mehrere andere Ebenen, die wir gleichzeitig auswerten: Die Emotion (Freude, Trauer, Erregung, Zorn), mit der ein Satz gesprochen wird; das Geschlecht des Sprechers, seine Herkunft (z. B. aufgrund eines Akzentes) und sein ungefähres Alter; ja, wir können sogar eine bestimmte Person an ihrer Stimme erkennen, wenn wir sie zuvor schon öfters gehört haben, und können sie als diese identifizieren, auch wenn sie einmal heiser ist. Obwohl die auditorische Hirnforschung noch recht weit davon entfernt ist, die einzelnen Merkmale („Features“) zu kennen, die bei diesen Prozessen eine Rolle spielen, beginnt sie die Hirngebiete zu identifizieren, die dabei aktiv sind.

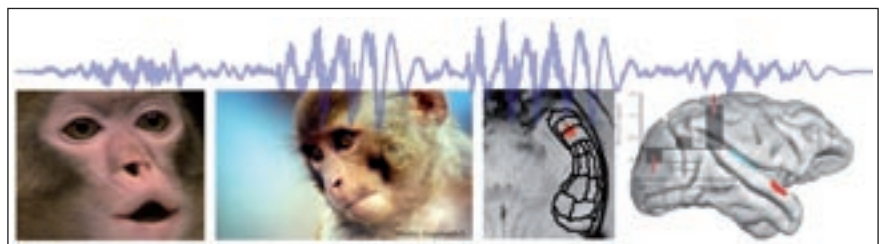
Beim Hören, genau wie beim Sehen und anderen Sinnessystemen auch, können wir zwei fundamentale Funktionen unterscheiden: Wir wollen wissen, woher ein Geräusch kommt (räumliche Analyse; „wo?“) und welches Objekt oder Lebewesen möglicherweise dieses Geräusch erzeugt hat (Objektidentifikation; „wer oder was?“). Beim Sehvorgang ist diese funktionelle Unterscheidung seit Längerem bekannt und unterschiedlichen Hirnregionen zugeordnet. Zum Beispiel kann man Rhesusaffen darauf trainieren, eine Unterscheidung von visuell dargebotenen Reizen aufgrund ihrer Gestalt (Identität) oder aufgrund des Ortes im Gesichtsfeld (oder in Relation zu anderen Objekten) zu erlernen. Wird durch eine Läsion ein Gebiet im Parietallappen zerstört, so kann der Affe die räumliche Unterscheidung nicht mehr machen; wird dagegen ein Gebiet im unteren vorderen Temporallappen lädiert, kann der Affe die Objekte nicht mehr aufgrund ihrer Form unterscheiden.

Zwei analoge Verarbeitungszweige für Lokalisation und Identifikation wurden mit elektrophysiologischen und neuroanatomischen Methoden auch im kortikalen Hörsystem des Rhesusaffen nachgewiesen (Rauschecker und Tian, PNAS, 2000) und kürzlich auch bei der Katze in Ausschaltversuchen bestätigt (Lomber und Malhotra 2008). Beim Menschen wurde die Existenz dieser dualen Systeme (sowohl im visuellen als auch im auditorischen System) mit funktioneller Magnetresonanztomografie (fMRT), Magnetoenzephalografie (MEG) und anderen bildgebenden Methoden ebenfalls bestätigt. Eine neue Arbeit von Petkov und Kollegen am Max-Planck-Institut für Biologische Kybernetik in Tübingen schlägt nun die Brücke zwischen den invasiven Studien beim Affen und den Ergebnissen der Bildgebung am Menschen, indem es fMRT-Studien am Rhesusaffen durchführte (Petkov et al., *Nature Neurosci.*, 2008). Diese Technik wurde in den letzten Jahren am gleichen Institut von Logothetis weitgehend selbst entwickelt und perfektioniert und kann nun zur Beantwortung fundamentaler Fragen wie der eingangs gestellten verwendet werden.

Eine Stimmregion beim Menschen wurde schon vor ein paar Jahren auf der Grundlage von fMRT-Untersuchungen von einer Gruppe in Montreal postuliert. Sie befindet sich im Sulcus temporalis superior (STS), ebenfalls im vorderen oberen Temporallappen. Diese Hirnregion antwortet mit erhöhter Durchblutung bzw. erhöhtem Sauerstoffverbrauch nicht nur auf das Ertönen menschlicher Sprachlaute, sondern auch auf von Menschen erzeugten anderen Stimmlauten, wie Lachen oder Weinen, aber nicht auf Tierstimmen oder Maschinengeräusche.

Die von Petkov und Kollegen entdeckte Hirnregion beim Affen reagiert ebenfalls hochselektiv auf artspezifische Laute und ist ebenfalls nicht auf die Art der Vokalisation beschränkt, sondern identifiziert den Rufer unabhängig von dem genauen Typ des Lautes. Zwar liegt die Stimmregion beim Affen etwas höher im Temporallappen als die entsprechende Region beim Menschen, sie befindet sich jedoch in derselben generellen Gegend im Primatengehirn, nämlich im vorderen oberen Temporallappen. Dies zeigt, dass verschiedene Primatenarten im Laufe der Evolution bis hin zum Menschen die gleiche Hirnregion zum Zweck der auditorischen Objekterkennung verwenden und dass Stimmenerkennung ein ähnlich hoch spezialisierter Vorgang ist wie die Gesichtererkennung im visuellen Bereich.

Einzelzelleableitungen bei wachen Affen müssen nun zeigen, wie sich einzelne Neurone in diesem Hirngebiet verhalten. Entsprechende Untersuchungen am National Institute of Mental Health in Bethesda, Maryland und an der Georgetown-Universität in Washington DC sind bereits im Gange und zeigen eine hohe Selektivität der Zellen für artspezifische Laute (im Vergleich zu artifiziellen oder maschinenartigen Geräuschen). Diese



**Primaten erkennen ihre Artgenossen anhand von Ruf Lauten, genau so, wie wir Menschen andere Personen an ihrer Stimme erkennen, und das Gehirn beider Spezies verwendet dabei die gleichen Areale. Die Arbeit von Dr. Petkov und Kollegen belegt, dass die Fähigkeit des Gehirns Stimmen zu erkennen und Individuen zuzuordnen nicht auf Menschen beschränkt ist, und lässt vermuten, dass sich die Grundlagen zur Verarbeitung von Sprache sich aus diesen einfacheren Strukturen entwickelt haben. Kurz gesagt, dass die neuronalen Grundlagen zur Stimm- und Spracherkennung nicht einzigartig, und auf Evolutionsebene im Menschen neu entstanden sind, sondern sich langsam aus den entsprechenden Arealen in unseren Vorfahren entwickelt haben. Die Magnetresonanztomografien oben zeigen die primäre Hörrinde (blau, ganz rechts) sowie die Position der neu entdeckten Stimmregion (rot).**



**Thomas Steudel, Christopher Petkov, Nikos Logothetis, Mark Augath, Christoph Kayser und Kevin Whittingstall (von links nach rechts)**

Selektivität nimmt von der primären Hörrinde ausgehend innerhalb des oberen Temporalappen nach anterior stetig zu. Injektion von anterograden und retrograden Tracern in die so identifizierten kortikalen Gebiete wird außerdem zeigen, woher diese selektiven Regionen ihre Eingänge bekommen. Viel spricht dafür, dass die Musterverarbeitung im Hörsystem auf diesem Niveau ähnlich verläuft wie im visuellen System, nämlich in Form einer Konvergenz auf mehreren hierarchischen Ebenen. Diese Verschaltung führt letztendlich zu hoher Selektivität einerseits und zu hoher Invarianz gegenüber Störeinflüssen andererseits.

Assoziation zwischen gehörter und gesehener Information führt schließlich dazu, dass wir das Gesicht unseres Freundes förmlich vor uns sehen, wenn wir seine Stimme am Telefon hören.

#### Literatur

Rauschecker, J.P. und Tian, B. (2000): Mechanisms and streams for processing of "what" and

"where" in auditory cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 11800-11806.

Lomber, S.G. und Malhotra, S. (2008): Double dissociation of 'what' and 'where' processing in auditory cortex. *Nat Neurosci.* 2008 May; 11(5): 609-616.

#### Kurzbiografien

**Christopher Petkov** ist Neurowissenschaftler und führt vergleichende Studien zum Hörsystem durch, mit dem Ziel, die evolutionären Grundlagen unserer vokalen Fähigkeiten wie der Spracherkennung zu verstehen. Er machte seinen Abschluss (PAD) in Neurowissenschaften an der Universität von Kalifornien Davis, wo er untersuchte wie Zellen im Hörsystem eine stabile Wahrnehmung trotz einer sich ändernden und verrauschten Umgebung erzeugen. Momentan arbeitet er als Wissenschaftler am Max-Planck-Institut für Biologische Kybernetik in Tübingen, wo er in der Abteilung von Prof. Logothetis moderne bildgebende Methoden mit neurophysiologischen Ansätzen kombiniert. Dabei wurde er durch Stipendien der Alex-

ander- von-Humboldt- und der Max-Planck-Gesellschaft unterstützt. Im Herbst 2008 wird er an das Neurowissenschaftliche Institut der Universität von Newcastle ziehen, wo seine Arbeitsgruppe die neurobiologischen und evolutionären Grundlagen der Kommunikation weiter verfolgen wird.

**Nikos K. Logothetis** ist Direktor der Abteilung „Physiologie kognitiver Prozesse“ am Max-Planck-Institut für Biologische Kybernetik in Tübingen. Er machte einen Abschluss in Mathematik an der Universität von Athen und in Biologie an der Universität von Thessaloniki. Seine Doktorarbeit in menschlicher Neurobiologie führte ihn an die Ludwig-Maximilians-Universität in München. Nach einer Zeit am Massachusetts Institute of Technology zog er 1990 an das Baylor College of Medicine in Houston, Texas, wo er an den neuronalen Grundlagen der bewussten visuellen Wahrnehmung und der Objekterkennung arbeitete. Sieben Jahre später wurde er Direktor am MPI in Tübingen, wo er seine Arbeit an den Grundlagen der Wahrnehmung mittels Kombination von bildgebenden und neurophysiologischen Verfahren fortsetzte. Prof. Logothetis erhielt die DeBaKey-Medaille, den Golden Brain Award der Minerva-Stiftung, den Louis-Jeantet-Prize für Medizin, sowie den Zülch- und den IPSEN-Preis.

#### Korrespondenzadresse

##### **Christopher Petkov**

Max-Planck-Institut für Kybernetik  
Spemannstraße 38, 72076 Tübingen

Tel.: + 49 (0) 7071 601 659

Fax: + 49 (0) 7071 601 652

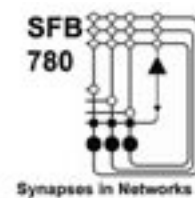
E-Mail: [chris.petkov@tuebingen.mpg.de](mailto:chris.petkov@tuebingen.mpg.de)

## SFB 780: Synaptische Mechanismen neuronaler Netzwerkfunktion (Synaptic mechanisms of neuronal network function)

Peter Jonas

Seit dem Beginn des Jahres 2008 fördert die Deutsche Forschungsgemeinschaft den neuen Sonderforschungsbereich „Synaptische Mechanismen neuronaler Netzwerkfunktion“ („Synaptic mechanisms of neuronal network function“) in Freiburg im Breisgau. Der Son-

derforschungsbereich wird im Wesentlichen durch Arbeitsgruppen der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg getragen. Dabei kommen die Teilprojektleiter aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie, dem Physiologischen Institut, dem Institut für Experimentelle und



Klinische Pharmakologie und Toxikologie, der Neurologischen Universitätsklinik, der Neurochirurgischen Universitätsklinik, der Radiologischen Uni-

versitätsklinik, den Instituten für Biologie I und III, dem Zentrum für Neurowissenschaften (ZfN), dem klinischen Neurozentrum und dem „Bernstein Center for Computational Neuroscience“ (BCCN) in Freiburg. Darüber hinaus ist eine Arbeitsgruppe aus dem Friedrich-Miescher-Institut in Basel beteiligt. Derzeit besteht der Sonderforschungsbereich aus 16 Teilprojekten und einem Zentralprojekt.

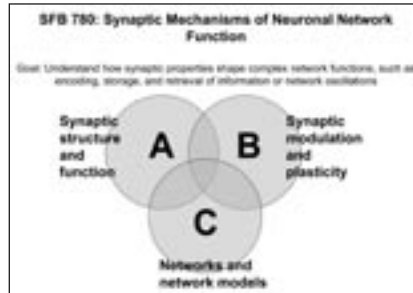
Ziel des neuen Sonderforschungsbereiches ist es, ein detailliertes und quantitatives Bild



von Struktur und Funktion zentraler Synapsen zu erhalten. Insbesondere möchte der neue Sonderforschungsbereich verstehen, wie die Eigenschaften synaptischer Kommunikation komplexe neuronale Netzwerkfunktionen bestimmen. So wollen die Teilprojektleiter analysieren, wie Codierung, Speicherung und Wiederabrufen von Informationen in neuronalen Netzwerken realisiert werden oder wie oszillatorische Aktivität in neuronalen Netzwerken generiert wird. Um diese Ziele zu erreichen, legt der Sonderforschungsbereich 780 ein Forschungsprogramm vor, das in drei Projektbereiche aufgeteilt ist (Abbildung 1, Abbildung 2). Projektbereich A (Synaptische Struktur und Funktion) untersucht die Mechanismen synaptischer Übertragung, insbesondere im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen strukturellen und funktionellen Aspekten. Projektbereich B (Synaptische Modulation und Plastizität) charakterisiert die Mechanismen synaptischer Modulation (z. B. durch den Neuromodulator Dopamin) und die Prinzipien synaptischer Plastizität (z. B. von „spike timing“-abhängigen Plastizitätsformen). Projektbereich C (Netzwerke und Netzwerkmodelle) untersucht, wie aus der Synapsenfunktion heraus komplexe Funktionen neuronaler Netzwerke erklärt werden können. Während die Untersuchungen im Projektbereich A und B hauptsächlich auf *in vitro*-Experimente fokussiert sind, untersucht Projektbereich C neuronale Netzwerkaktivität an *in vivo*-Modellen bis hin zum Menschen. Außerdem entwickelt der Projektbereich C detailgetreue Netzwerkmodelle.

Viele der Projekte des neuen Sonderforschungsbereiches beschäftigen sich mit dem Hippokampus. Diese Wahl des Modellsystems hat unterschiedliche Gründe. Einerseits hat der Hippokampus eine klare Schichtenstruktur, die die Zellidentifizierung und die systematische Analyse der Synapsenfunktion vereinfacht. Andererseits ist der Hippokampus ein neuronales Netzwerk, das für Lernen und Gedächtnis von besonderer Bedeutung ist. Damit ist diese Gehirnstruktur für die Untersuchung der molekularen und zellulären Mechanismen höherer Gehirnfunktionen prädestiniert.

Um die Funktion zentraler Synapsen zu charakterisieren, kommen im neuen Sonderforschungsbereich zahlreiche moderne Methoden zum Einsatz. Die verwendeten Techniken beinhalten proteomische Verfahren (z. B. Massenspektrometrie), genetische Techniken, elektronenmikroskopische Methoden einschließlich Gefrierbruchtechniken und Hochdruckgefrieren von unfixiertem Gewebe, Patch-Clamp-Ableitungen von präsynaptischen Elementen, Simultanablei-



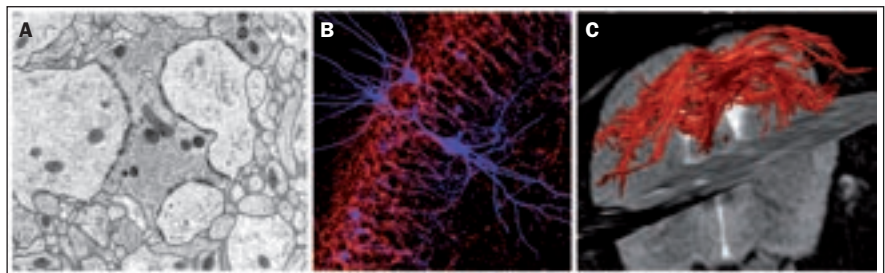
**Abb. 1: Ziele und Struktur des SFB 780. Der SFB besteht aus drei Projektbereichen, die unterschiedliche Ebenen der Funktion von neuronalen Netzwerken abdecken (molekular, zellulär und systemisch).**

tungen von synaptisch gekoppelten Zellen, funktionelles Magnetresonanz-Imaging (fMRI) zur Untersuchung globaler Netzwerkaktivität, Diffusions-Tensor-Imaging (DTI) zur Analyse des dreidimensionalen Verlaufs von axonalen Traktsystemen, *in vivo*-Ableitetechniken und ein Spektrum von Methoden aus dem Feld der „Computational Neuroscience“. Dabei sind die hauptsächlich verwendeten Modellsysteme Ratte, Maus, Zebrafisch, *C. elegans* und, soweit möglich, der Mensch. Zurzeit beschäftigen sich zwei Teilprojekte des Sonderforschungsbereiches mit synaptischer Übertragung im menschlichen Gehirn.

Der Sonderforschungsbereich verfolgt sowohl „bottom up“ – als auch „top down“ – Strategien. Die Langzeitvision ist es, zu einer Konvergenz der beiden Ansätze und damit zu einem ganzheitlichen Verständnis neuronaler Netzwerkfunktion zu gelangen. Die Ergebnisse werden nicht nur für die Grundlagenforschung von Bedeutung sein,

sondern auch für die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien. Da die synaptische Kommunikation bei vielen Erkrankungen des Gehirns gestört zu sein scheint, sind zentrale Synapsen vielversprechende Angriffspunkte für eine moderne Therapie neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen.

Um die im Forschungsprogramm definierten Ziele zu erreichen, ist ein interdisziplinärer Forschungsansatz erforderlich, in dem mehrere Teilprojekte ihre Expertise zur Lösung eines gemeinsamen wissenschaftlichen Problems einbringen. Ein Beispiel hierfür ist die Untersuchung der Mechanismen der Transmitterfreisetzung und der Integration synaptischer Signale (Abbildung 3). Im neuen Sonderforschungsbereich untersuchen Norbert Klugbauer und Bernd Fakler die Eigenschaften der präsynaptischen  $Ca_{v2+}$ -Kanäle und der durch sie gebildeten Proteinkomplexe. Peter Jonas arbeitet an den funktionellen Aspekten der Kopplung zwischen präsynaptischen  $Ca_{v2+}$ -Kanälen und  $Ca_{v2+}$ -Sensoren der Exozytose während der synaptischen Transmission. Akos Kulik und Michael Frotscher sind an der Lokalisation prä- und postsynaptischer Proteine interessiert. Schließlich untersuchen Josef Bischofberger, Jakob Wolfart und Carola Haas die Mechanismen der Integration synaptischer Signale auf der postsynaptischen Seite, d. h. im Dendriten der Zielzelle. Diese Aktivitäten werden zu einem Gesamtbild der Mechanismen der synaptischen Kommunikation führen. Ein besonderes Anliegen des Sonderforschungsbereiches ist die Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses. Dies geschieht in enger Zusammenarbeit mit den Ausbildungsplattformen des Graduiertenkol-



**Abb. 2: Forschungsthemen ausgewählter Teilprojekte im SFB 780. (A) Untersuchung von Synapsenstruktur. Das Bild zeigt die hippokampale Moosfasersynapse, eine Schlüsselsynapse im trisynaptischen Schaltkreis des Hippokampus. Die elektronenmikroskopische Aufnahme wurde mithilfe eines neuen Hochdruckgefrierverfahrens gewonnen. Aus: Teilprojekt A4 (Frotscher und Jonas). (B) Untersuchung von Synapsenfunktion. Mit Paarableitungen von synaptisch verbundenen Nervenzellen kann synaptische Kommunikation in definierten Mininetzwerken charakterisiert werden. Im dargestellten Beispiel wurde die Synapse zwischen einem inhibitorischen Interneuron (einer Korbzelle) und einem Prinzipalneuron (einer Körnerzelle) im Hippokampus untersucht. Aus: Teilprojekt A5 (Jonas). (C) Beispiel der Charakterisierung des dreidimensionalen Verlaufs axonaler Verbindungen mit der Methode des „Diffusions-Tensor-Imaging“ (DTI). Aus: Teilprojekt C1 (Staiger und Hennig).**



## Ausblick

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

### Die Zytomatrix an der präsynaptisch aktiven Zone: Molekulare Organisation und Funktion

Susanne Schoch, Tobias Mittelstaedt

### Mitochondriale Erkrankungen: von der schweren kindlichen Enzephalomyopathie bis zur alterassozierten Neurodegeneration

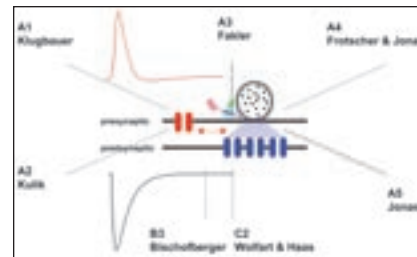
Thomas Klopstock

### M. Parkinson - Zukünftige Therapieoptionen aus der Grundlagenforschung

Vincent Ries, Candan Depboylu, Oscar Arias-Carrión, Wolfgang H. Oertel, Günter U. Höglinger

### Die Rolle der Histon-Acetylierung für Lernen und Gedächtnis

Steffen Benjamin Eggert Wolff und Kerry L. Tucker



**Abb. 3:** Interaktiver und interdisziplinärer Forschungsansatz des SFB 780. Als Beispiel für die enge Kooperation zwischen den Teilprojekten ist die gemeinsame Untersuchung der Kopplung zwischen präsynaptischen  $Ca^{2+}$ -Kanälen und Transmitterfreisetzung gezeigt. Auf der präsynaptischen Seite ist ein  $Ca^{2+}$ -Kanal (rot) und ein mit Transmitter gefülltes synaptisches Vesikel zu erkennen. Auf der postsynaptischen Seite sind die Transmitterrezeptorkanäle (blau) gezeigt. Die rote Kurve (links oben) zeigt den Zeitverlauf eines präsynaptischen Aktionspotenzials. Die schwarze Kurve (links unten) stellt den Zeitverlauf des postsynaptischen Stroms dar. Die verschiedenen Teilprojektleiter bearbeiten unterschiedliche Aspekte einer gemeinsamen wissenschaftlichen Frage.

legs 843 „Mechanismen neuronaler Signaltransduktion: Vom Molekül zu Netzwerk“ und der „Spemann Graduate School of Biology and Medicine“ (SGBM), die im Rahmen der Exzellenzinitiative gegründet wurde.

### Literatur

- Bartos, M., Vida, I. und Jonas, P. (2007): Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nature Reviews Neuroscience* 8: 45-56.
- Bucurenciu, I., Kulik, A., Schwaller, B., Frotscher, M. und Jonas, P. (2008): Nanodomain coupling between  $Ca^{2+}$  channels and  $Ca^{2+}$  sensors promotes fast and efficient transmitter release at a cortical GABAergic synapse. *Neuron* 57: 536-545.
- Schmidt-Hieber, C., Jonas, P. und Bischofberger, J. (2004): Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 429: 184-187.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. Peter Jonas**  
Sprecher des SFB 780  
Physiologisches Institut, Abteilung I  
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg  
Hermann-Herder-Str. 7, 79104 Freiburg i. Br.  
Tel.: +49 (0) 761 203 5150  
Fax: +49 (0) 761 203 5204  
E-Mail: peter.jonas@physiologie.uni-freiburg.de, www.sfb780.uni-freiburg.de

### Impressum

#### Herausgeber:

Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V.  
Bankverbindung: Berliner Bank AG,  
BLZ 100 200 00, Kto.-Nr. 810 505 1800  
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./Fax: 030 9406 3133 /-3819  
E-Mail: gibson@mdc-berlin.de

#### Redaktionsgremium:

Ad Aertsen, Freiburg  
Mathias Bähr, Göttingen  
Niels Birbaumer, Tübingen  
Ulrich Dirnagl, Berlin  
Andreas Draguhn, Heidelberg  
Ulf Eysel, Bochum  
Michael Frotscher, Freiburg  
Eckart Gundelfinger, Magdeburg  
Hanns Hatt, Bochum  
Hans-Peter Hartung, Düsseldorf  
Klaus-Peter Hoffmann, Bochum  
Uwe Homberg, Marburg  
Sigismund Huck, Wien  
Sigrun Korsching, Köln  
Georg W. Kreutzberg, Heidelberg  
Wolfgang H. Oertel, Marburg  
Hans-Joachim Pflüger, Berlin  
Rainer Schwarting, Marburg  
Petra Störig, Düsseldorf  
Herbert Zimmermann, Frankfurt/M.

**Verlag:** Spektrum Akademischer Verlag  
GmbH (Spektrum Akademischer Verlag ist  
ein Unternehmen von Springer Science &  
Business Media)  
Slevogtstr. 3-5, 69126 Heidelberg  
Tel.: 06221/9126-300  
Fax: 06221/9126-370  
http://www.spektrum-verlag.de

#### Geschäftsführer:

Dr. Ulrich Vest

#### Anzeigen:

top-ad Bernd Beutel  
Hammelbächerstr. 30, 69469 Weinheim  
Tel./Fax: 06201/29092-0 /-20  
E-Mail: info@top-ad-online.de

#### Satz und Layout:

polycom Media Service  
Brunnenstr. 128, 13355 Berlin  
Tel./Fax: 030/264 921-30 /-11

#### Druck und Auslieferung:

Stürtz GmbH, Würzburg

#### Abo-Service:

Springer Distribution Center GmbH  
Haberstraße 7, 69126 Heidelberg  
Tel./Fax: 06221/345 4304 /-4229  
E-Mail: subscriptions@springer.com

#### Titelgestaltung:

Eta Friedrich, Berlin  
Erscheinungsweise viermal im Jahr.  
**Neuroforum** ist das Publikationsorgan der  
Neurowissenschaftlichen Gesellschaft.

Bezugspreise: Jahresabonnement (4 Hefte)  
Einzelperson Inland EUR 49,10, Ausland  
EUR 51,20; Firmen, Bibliotheken Inland EUR  
93,10, Ausland EUR 95,20; Studenten (bei  
Vorlage der Immatrikulationsbescheinigung  
o. ä.) Inland EUR 19,10, Ausland EUR 21,20.  
Einzelheft Inland EUR 26,20. Alle Preise inkl.  
Versandkosten (Abonnement: Inland EUR  
4,10, Ausland EUR 6,20; Einzelheft: Inland  
EUR 1,20) und MwSt. Eine Abonnement-  
Bestellung kann innerhalb von zwei Wochen  
schriftlich beim Abo-Service in Jena widerrufen  
werden. 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 Nicht-  
lieferung aus Gründen, die nicht vom Verlag  
zu vertreten sind, besteht kein Anspruch auf  
Nachlieferung o. Erstattung vorauszahlter  
Bezugsgelder. Gerichtsstand, Erfüllungs- u.  
Zahlungsort ist Heidelberg.

## Beitrittserklärung:

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

### Eintrag in das Mitgliederverzeichnis:

Name \_\_\_\_\_

Vorname \_\_\_\_\_

Titel \_\_\_\_\_

### Dienstadresse

Universität/Institut/Firma \_\_\_\_\_

Straße \_\_\_\_\_

PLZ, Ort \_\_\_\_\_

Tel./Fax/eMail \_\_\_\_\_

### Privatadresse

Straße \_\_\_\_\_

PLZ, Ort \_\_\_\_\_

Tel./Fax \_\_\_\_\_

Datum/Unterschrift des neuen Mitglieds

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

Datum/Unterschrift

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

Datum/Unterschrift

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

D-13092 Berlin

### Ich optiere für folgende 2 Sektionen: (bitte ankreuzen)

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

### Ich bin Student

(Bescheinigung anbei)

ja  nein

### Jahresbeitrag:

(bitte ankreuzen)

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

### Überweisung:

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

### Einzug über VISA-Kreditkarte:

### Einzug über EUROcard:

Kartennummer \_\_\_\_\_

Exp.Date \_\_\_\_\_

Betrag \_\_\_\_\_

Name \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

### BANKEINZUGSERMÄCHTIGUNG

Ich ermächtige die Neurowissenschaftliche Gesellschaft e.V. von meinem

Konto Nr. \_\_\_\_\_

bei der Bank \_\_\_\_\_

BLZ \_\_\_\_\_

einmal jährlich den Mitgliedsbeitrag in Höhe von € \_\_\_\_\_ einzuziehen

Ort, Datum \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

Kontoinhaber \_\_\_\_\_

Anschrift \_\_\_\_\_

# Sophisticated Life Science Research Instrumentation

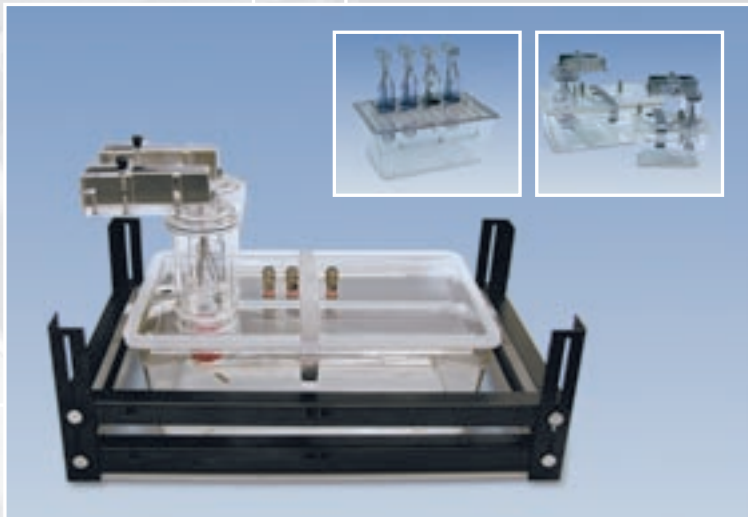


## In-Vivo Phenotyping

State-of-the-art behavioral and physiological animal research systems for a wide variety of scientific investigations

- Learning & Memory
- Anxiety & Depression
- Conditioning
- Active & Passive Avoidance
- Startle Response / PPI
- Drug Addiction
- Activity & Motor Function
- Metabolism

■ **LabMaster** – Integrated Modular Monitoring System



New



■ **MultiConditioning System**



■ **Fear Conditioning System**

New



■ **PhenoMaster** – Fully Automated High Throughput Multi-Dimensional Phenotyping System



■ **Startle Response / PPI System**

**TSE Systems GmbH**

a member of the TSE Systems International Group

USA Toll Free: Phone 1-866-466-8873 • Fax 1-866-467-8873, Germany: Phone +49-(0)6172-789-0 • Fax +49-(0)6172-789-500

**info@TSE-Systems.com • www.TSE-Systems.com**

Neuroscience – Phenotyping – Drug Screening