

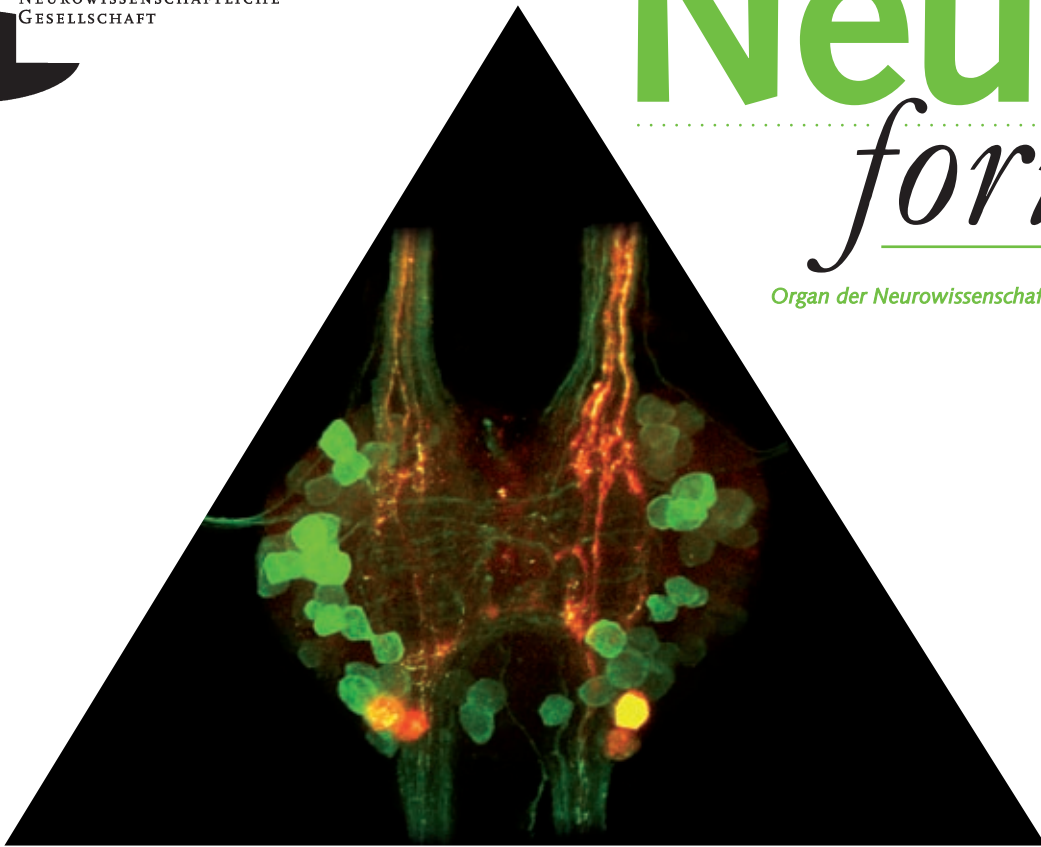
1.09

Perspektiven der Hirnforschung



Neuro forum

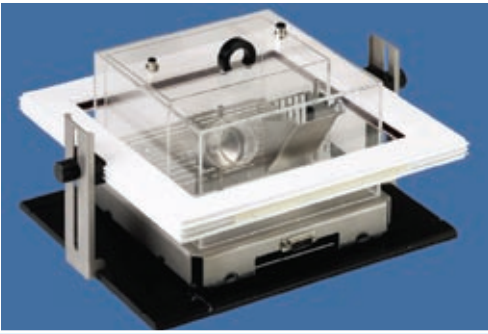
Organ der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft



NO als Regulator neuronaler Motilität und Regeneration in einfachen Nervensystemen

Genetisch kodierte optische Sensoren des neuronalen Membranpotenzials

Epigenetik: Nadelöhr neuronaler Erkrankungen?



Panlab | HARVARD APPARATUS



Physiocage

Kombiniertes System zur Messung von:

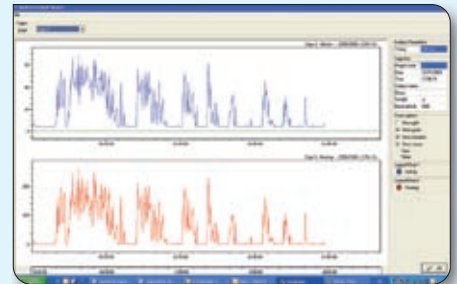
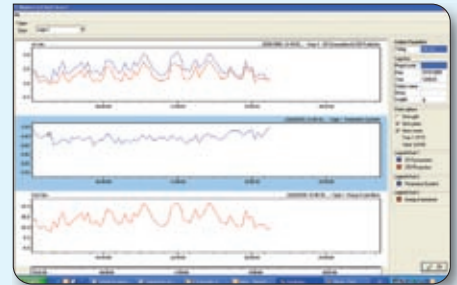
- Atem-Stoffwechsel
- Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme
- Aktivität und Rearing

Panlab Physiocage ist ein modulares System, das die Kombination der Messungen von Atem-Stoffwechsel (O_2 Verbrauch / CO_2 Produktion), Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme, Aktivität und Rearing in speziell angepassten Käfigen ermöglicht.

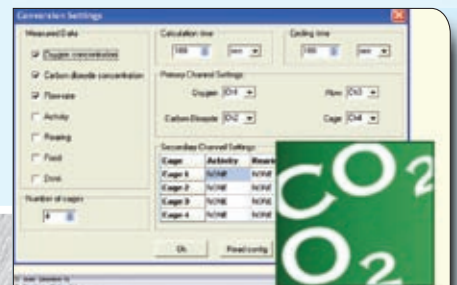
Dank seiner richtungweisenden Technologie kann das System problemlos auf eine Vielzahl von Anwendungen erweitert werden.

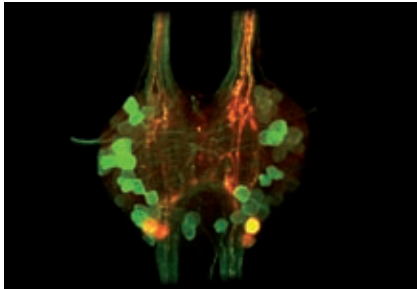
Die wichtigsten Highlights auf einen Blick:

- Problemlos erweiterbares System in verschiedensten Konfigurationen **bis zu 32 Physiocages**
- Hoch empfindliche und stabile Sensoren für O_2 und CO_2
- Die Bestimmung der Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme sowie der Aktivität erfolgt durch die neuartige Wäge-Technologie. Dies gewährleistet eine besonders hohe Genauigkeit und Stabilität
- Ein externer Nahrungs- und Flüssigkeitsdispenser vermeidet unerwünschte Artefakte und jeden Einfluss auf den Lebensraum des Tieres
- Mit Hilfe von speziell angepassten Systemen werden Aufnahme und Verwertung von Nahrung und Flüssigkeit registriert
- Mit einem zusätzlichen Infrarot-Rahmen kann das Rearing gemessen werden



Time	O2	CO2	...
10:00:00	21.00000000	0.00000000	...
10:00:05	20.99999999	0.00000000	...
10:00:10	20.99999999	0.00000000	...
10:00:15	20.99999999	0.00000000	...
10:00:20	20.99999999	0.00000000	...
10:00:25	20.99999999	0.00000000	...
10:00:30	20.99999999	0.00000000	...
10:00:35	20.99999999	0.00000000	...
10:00:40	20.99999999	0.00000000	...
10:00:45	20.99999999	0.00000000	...
10:00:50	20.99999999	0.00000000	...
10:00:55	20.99999999	0.00000000	...
10:01:00	20.99999999	0.00000000	...
10:01:05	20.99999999	0.00000000	...
10:01:10	20.99999999	0.00000000	...
10:01:15	20.99999999	0.00000000	...
10:01:20	20.99999999	0.00000000	...
10:01:25	20.99999999	0.00000000	...
10:01:30	20.99999999	0.00000000	...
10:01:35	20.99999999	0.00000000	...
10:01:40	20.99999999	0.00000000	...
10:01:45	20.99999999	0.00000000	...
10:01:50	20.99999999	0.00000000	...
10:01:55	20.99999999	0.00000000	...
10:02:00	20.99999999	0.00000000	...





Zum Titelbild: Konfokale Aufnahme einer Doppel-Färbung gegen Serotonin und cGMP nach Simulation mit einem NO-Donor (s. Artikel Bicker und Stern S. 4)



**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	3
HAUPTARTIKEL	
Gerd Bicker und Michael Stern	4
NO als Regulator neuronaler Motilität und Regeneration in einfachen Nervensystemen	
Walther Akemann und Thomas Knöpfel	12
Genetisch codierte optische Sensoren des neuronalen Membranpotenzials: Was sind die Perspektiven für die hochauflösende Messung elektrischer Signale in kortikalen Hirnstrukturen?	
Andre Fischer	21
Epigenetik: Nadelöhr neuronaler Erkrankungen?	
ARTIKEL DES QUARTALS	29
Marc Tittgemeyer und Markus Ullsperger	
Connectivity-based segregation of the human striatum predicts personality characteristics	
NACHRUF	
Hansjürgen Matthies (1925 -2008)	31
INTERVIEW	
Neurologe und Hirnforscher – ein Job für 30-Stunden-Tage?	32
Ein Interview mit Rosemarie Grantyn	
PREISE	
Gertrud-Reemtsma-Promovendenpreis	37
Preis der Dargut und Milena Kemali Stiftung für Klinische und Grundlagenforschung in den Neurowissenschaften	37
Tom Wahlig Advanced Scholarship	38
NACHRICHTEN AUS DER NEUROWISSENSCHAFTLICHEN GESELLSCHAFT	
Einladung zur Mitgliederversammlung auf der 8. Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft (26. – 29. März 2009)	28
Ergebnisse der Wahl zum Vorstand der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft für die Amtsperiode 2009 – 2011	38
Programmübersicht der 8. Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft vom 25. – 29. März 2009	39
Stipendien für die Göttinger Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2009	40
BÜCHER	
Der Fackellauf des Wissens „Nur Wissen kann Wissen beherrschen: Macht und Verantwortung der Wissenschaft“	41
AUSBLICK	42
IMPRESSUM	42



NO als Regulator neuronaler Motilität und Regeneration in einfachen Nervensystemen

Gerd Bicker und Michael Stern

Zusammenfassung

Stickstoffmonoxid (NO) ist als gasförmiger Botenstoff im Nervensystem bekannt. Es spielt eine Rolle bei synaptischer Plastizität, aber auch bei neuronalen Entwicklungs- und Regenerationsvorgängen. Wir untersuchen die Funktion von NO und seiner Signalkaskade über zyklisches GMP am Heuschreckenembryo. Dessen sich entwickelndes Nervensystem ist sehr gut für pharmakologische Manipulationen in Gewebekultur geeignet. Wir analysieren die zellulären Mechanismen der NO-Wirkung an drei Beispielen: 1. im peripheren Nervensystem beim Auswachsen von Pionierneuronen in der Antenne, 2. im zentralen Nervensystem bei der axonalen Regeneration serotonerger Interneurone nach Axotomie und 3. im enterischen Nervensystem bei der Migration von Neuronen, die den Darm-Nervenplexus bilden. In allen Fällen dient intern freigesetztes Stickstoffmonoxid bzw. die Synthese von zyklischem GMP als ein permissives Signal für den jeweiligen Entwicklungsvorgang. Kohlenstoffmonoxid (CO) moduliert als ein weiterer gasförmiger Botenstoff antagonistisch zu NO die Wanderung der Darmneurone. Experimente mit humanen Modellneuronen in Zellkultur weisen darauf hin, dass NO auch bei der Bildung des menschlichen Nervensystems Aspekte der Zellmigration reguliert.

Abstract

Nitric oxide (NO) is known as a gaseous messenger in the nervous system. It plays a role in synaptic plasticity, but also in neural development and regeneration. We study the function of NO and its signalling cascade via cyclic GMP in the grasshopper embryo. Its developing nervous system is well suited for pharmacological manipulations in tissue culture. We analyse cellular mechanisms of NO action in three examples: 1. in the peripheral nervous system during antennal pioneer axon outgrowth, 2. in the central nervous system during axonal regeneration of serotonergic neurons after axotomy, and 3. in the enteric nervous system during migration of neurons forming the midgut nerve plexus. In each case, internally released NO or NO-induced cGMP synthesis acts as a permissive signal for the developmental process. Carbon monoxide (CO), as a second gaseous messenger, modulates enteric neuron migration antagonistic to NO. Experiments on human model neurons in cell culture indicate that NO regulates cell migration also during human brain development.

Keywords: growth cone; insect embryo; cGMP; protein kinase G; carbon monoxide

Ein gasförmiger Botenstoff und sein Rezeptor

Stickstoffmonoxid (NO) ist ein reaktives Gas, das im Organismus als membranpermeabler Botenstoff von Zelle zu Zelle signalisieren kann. Es wurde zuerst als Endothelium-derived Relaxing Factor (EDRF) beschrieben, der nach einer Freisetzung aus Endothelzellen die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur bewirkt. Die Entdeckung dieses atypischen Transmitters auch im Gehirn vor etwa 20 Jahren stellte eine der größeren Überraschungen in den

Neurowissenschaften dar. Eine Informationsübertragung durch ein Gas, das auf Bedarf von einer Zelle produziert wird, durch die Membran diffundiert und die Funktion einer anderen Zelle reguliert, repräsentiert ein vollständig neuartiges Signalisierungsprinzip in dem durch seine strikten anatomischen Verbindungen charakterisierten Nervensystem. Die prominente Rolle von NO bei der Modulation synaptischer Plastizität und bei der Pathologie neuronaler Erkrankungen wurde bereits von Wolf (1997) in einem Neuroforumartikel dargestellt.

NO wird in Neuronen von einer Ca^{2+} /Calmodulin stimulierten NO-Synthase (NOS) gebildet (Abbildung 1). Einer der Signaltransduktionswege dieses reaktiven Gases ist seine Bindung an die Häm-Gruppe der löslichen Guanylylcyclase (Garthwaite 2008). Die resultierende Aktivierung löslicher Guanylylcyclasen (sGC) reguliert zelluläre Funktionen über die Synthese von cGMP (Abbildung 1). Da die Aktivierung der sGC durch NO im nanomolaren Bereich erfolgt, stellt die NO/cGMP-Signaltransduktion eine hochempfindliche Signalkaskade der zellulären Kommunikation dar (Garthwaite 2008).

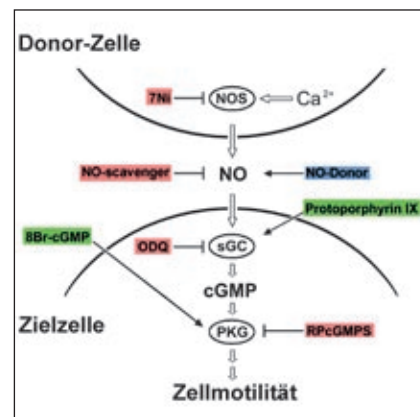


Abb. 1: Schema des transzellulären NO/cGMP Signalweges.

Neuronale Aktivität der Donor-Zelle führt zum Einstrom von Kalzium, das zur Aktivierung der NO-Synthase (NOS) führt. NOS katalysiert die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO), welches durch die Zellmembran diffundiert und in der Zielzelle an die lösliche Guanylylcyclase (sGC) bindet. Die Stimulation von sGC durch NO führt zur Bildung des sekundären Botenstoffs zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP), welches wiederum die Proteinkinase G (PKG) aktiviert. Über weitere Zwischenschritte wird schließlich die Motilität von Zellen und Wachstumskegeln reguliert. In embryonaler Gewebekultur ist es möglich, an unterschiedlichen Stellen pharmakologisch in die Signalbahn einzugreifen, sei es durch Applikation von externem NO (blau), durch andere Aktivatoren der Signalbahn (grün) oder durch Inhibitoren (rot).

Zyklisches GMP aktiviert eine Vielzahl von Effektorproteinen einschließlich der Proteinkinase G (PKGI und PKGII), Phosphodiesterasen und durch zyklische Nucleotide regulierte Ionenkanäle (Lucas et al. 2000). Obwohl NO als ein unkonventioneller Transmitter durch die Zellmembran diffundieren kann, wird die Spezifität der zellulären Kommunikation über die aktivitätsabhän-

gige Synthese und eine diskrete Verteilung des Rezeptorproteins (sGC) erhalten. Da die NO-Synthase NADPH als Kofaktor benötigt, lassen sich NO synthetisierende Zellen mit der NADPH-Diaphorase-Histochemie (Wolf 1997) auf mild fixierten Gewebeschnitten darstellen. Eine weitere Darstellungsmöglichkeit der NO-Donorzellen erfolgt mit Antikörpern gegen NO-Synthase. Die Zielzellen des NO-Signals können über eine NO-induzierte cGMP-Synthese im lebenden Gewebe mit einer immunzytochemischen Methodik identifiziert werden.

Auch Insekten nutzen das NO/cGMP-System. Vor etwa 15 Jahren konnte die Freisetzung dieses Moleküls durch eine Ca^{2+} /Calmodulin stimulierte NOS in neuronalen Primärkulturen nachgewiesen und die cGMP synthetisierenden Zielzellen in einem Insektengehirn zytologisch dargestellt werden (Müller und Bicker 1994; Bicker et al. 1996). Inzwischen sind eine Reihe von zellulären Wirkungen der NO/cGMP-Signaltransduktion bei der Modulation neuronaler Plastizität in den übersichtlichen Schaltkreisen von Insektennervensystemen



Abb. 2: Wanderheuschrecke auf Papyrusblüte. Ausschnitt aus einem Wandbild in der Grabkammer des Horemhab aus dem 15. Jh. v. Chr.

beschrieben worden. So wirkt NO zum Beispiel als retrograder Botenstoff bei der Lichtadaptation im visuellen System der Heuschrecke (Schmachtenberg und Bicker

1999) oder es stimuliert die Freisetzung von Neurotransmittervesikeln an der neuromuskulären Synapse von Drosophila-Larven (Wildemann und Bicker 1999).

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.
2128 Bellmore Avenue
Bellmore, New York 11710-5606
USA
phone +1 516 882 1155
fax +1 516 467 3125
eMail ussales@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

HEKA



NO als essenzieller Entwicklungsregulator

Da die neuronale Expression von NOS im Wirbeltiernervensystem bei Entwicklungs- und Regenerationsprozessen dynamisch reguliert wird, kann man NO nicht nur eine Rolle bei der Modulation synaptischer Plastizität, sondern vermutlich auch bei Entwicklungsmechanismen zuschreiben. Als Beispiel seien nur die Entwicklungsprozesse der Neurogenese, der neuronalen Migration und des Neuritenwachstums genannt, die durch experimentelle Änderungen in der NO-Konzentration moduliert werden können (Hess et al. 1993; Packer et al. 2003; Moreno-Lopez et al. 2004). Es stellt sich nun die Frage, ob NO ein essenzieller Faktor für die Entwicklung ist. Dazu wurde bei der genetisch zugänglichen Taufliede *Drosophila*, deren Genom nur ein einziges NOS-Gen (dNOS) enthält, mehrere Punktmutationen isoliert, die zu einem Ausfall der Enzymaktivität des mutierten NOS-Proteins führten (Regulski et al. 2004). Fliegen, die für eine der Punktmutationen homozygot sind, sterben während der embryonalen oder frühen larvalen Entwicklung. Natürlich lässt sich aus dieser Untersuchung noch kein Mechanismus ableiten, wie NO die Em-

tenarten besitzen ein relativ übersichtliches zentrales Nervensystem, das aus individuell identifizierten Vorläuferzellen, Neuroblasten, entsteht, die sich im Stammzellmodus teilen. Seit einem Jahrhundert wird die Biologie der Heuschrecke intensiv erforscht, um Strategien zur Bekämpfung dieses schwarmbildenden Schadinsekts zu entwickeln, das bereits durch seine Bedrohung der Ernten im alten Ägypten (Abbildung 2) zum Symbol für eine biblische Plage wurde. Ironischerweise stellte sich bei der Forschung heraus, dass das Heuschreckennervensystem ein einfaches wie robustes neurophysiologisches Präparat für die Analyse komplexer sensomotorischer Integrationsprozesse ist. Die Bildung morphologisch eindeutig identifizierbarer Neurone aus den Neuroblasten ließen den Heuschreckenembryo außerdem zu einem Modellorganismus für das Studium zellulärer Mechanismen der axonalen Wegfindung werden. Im Lebenszyklus dieses hemimetabolen Schadinsekts legen die Weibchen die Eier als Gelege im Boden ab, die durch ein schaumartiges Sekret zusammengehalten werden. Der Embryo ernährt sich im Ei vom Dotter, schlüpft dann als wurmförmige Larve und entwickelt sich über fünf frei bewegliche Grashüpferstadien, die bereits eine große Ähnlichkeit zum erwachsenen Tier zeigen,

Wegfindung in Gewebekultur nachgewiesen (Kolodkin et al. 1992).

NO/cGMP-Signaltransduktion reguliert das Auswachsen von Pionierneuronen

Das Auswachsen der Nervenzellen während der Entwicklung wird von sogenannten Wachstumskegeln ermöglicht, die als bewegliche Zellstrukturen an der Spitze von neuronalen Fortsätzen sitzen. Pionierneurone legen die ersten axonalen Bahnen bei der Entwicklung des Nervensystems. Später auswachsende Axone können über Mechanismen der Zell-Zelladhäsion den bereits bestehenden Bahnen nachfolgen. Diese Strategie der axonalen Navigation wurde exemplarisch an Extremitätenanlagen des Heuschreckenembryos nachgewiesen, in denen identifizierbare Paare von Pionierneuronen die frühen axonalen Wege von Sinneszellen zum Zentralnervensystem festlegen, wenn die zu überbrückenden Distanzen noch kurz sind (Bate 1976; Bentley und O'Connor 1992). In der Extremitätenanlage befindet sich zwischen einem ektodermalen Epithel und lockerem mesodermalem Gewebe eine Basallamina, auf der die Axone von Sinneszellen und Motoneuronen auswachsen.

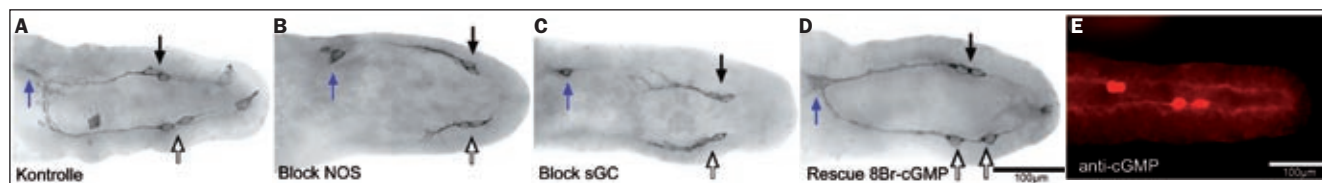


Abb. 3: Stickstoffmonoxid fördert das Auswachsen antennaler Pionierneurone im Heuschreckenembryo. (A-D) Antennenspitzen von 32% Embryonen, nach 24h in Kultur, in denen ein neuronenspezifischer Marker immunzytochemisch dargestellt ist. Je zwei Paar Pionierneurone (schwarze und weiße Pfeile) sowie eine Wegweiserzelle an der Basis der Antenne (blaue Pfeile) sind angefärbt. In Kontrollversuchen (A) erreichen die Pionier-Axone während der Kulturdauer die Wegweiserzelle. Bei Blockierung der NOS durch Zugabe von 500 µM 7NI (B) oder Blockierung der sGC durch 200 µM ODC (C) wird die Wegweiserzelle nicht erreicht. Im Rescue-Experiment wird diese hemmende Wirkung von 200 µM ODC durch gleichzeitige Zugabe von 500 µM 8Br-cGMP vollständig wieder aufgehoben (D). Die cGMP-Produktion in den antennalen Pionierneuronen lässt sich nach Stimulation mit dem NO-Donor-Nitroprussid (SNP) in Gegenwart des Phosphodiesterase-Inhibitors IBMX mit einem Antiserum gegen cGMP nachweisen (E).

bryonalentwicklung reguliert. Die Letalität der NOS-Mutationen zeigt jedoch, dass bei *Drosophila* NO als ein essenzieller Entwicklungsregulator angesehen werden muss. Bei Säugetieren könnten die Auswirkungen von NOS-Defekten auf die Entwicklung durch die kompensatorische Wirkung mehrerer NOS-Isoformen maskiert werden.

Um einen zellulären Zugang zur Rolle von NO bei der neuronalen Entwicklung zu bekommen, haben wir uns auf die Untersuchung der Wanderheuschrecke und der afrikanischen Wüstenheuschrecke (*Locusta migratoria*, *Schistocerca gregaria*) konzentriert. Diese sehr ähnlich gebauten Insek-

zum adulten Insekt. Der Heuschreckenembryo lässt sich relativ leicht aus dem Ei herauspräparieren und intakt in Gewebekultur halten. Ein weiterer experimenteller Vorteil liegt darin, dass sich die ca. 50 Eier eines Geleges in unterschiedliche experimentelle und Kontrollgruppen gleichen Alters aufteilen lassen, die in Gewebekultur mit bioaktiven „small molecule“ Verbindungen oder blockierenden Antikörpern behandelt werden können. So wurde zum Beispiel am Heuschreckenembryo das erste Mitglied der Semaphorine, einer prominenten Familie von Zellerkennungsmolekülen identifiziert und seine kausale Funktion bei der axonalen

Die Wachstumskegel der Pionierneurone navigieren dabei entlang von sezernierten Semophoringradienten. Weitere Leitsignale sind von epithelialen Zellen exprimierte transmembranständige Semaphorine und Wegweiserzellen, an denen sich die Filopodien entlang der Segmentgrenzen orientieren können. Abbildung 3 zeigt das Auswachsen zweier Paare von Pionierneuronen von einer distalen Region in der Antennenknospe in proximaler Richtung zum Cerebralganglion im Kopf. In späteren Entwicklungsstadien schließen sich die Axone von weiteren Sinneszellen an, die sich im ektodermalen Epithel differenzieren.

Zum Auffinden von Embryonalstadien, in denen NO/cGMP gesteuerte Entwicklungsprozesse ablaufen, haben wir eine einfache zytochemische Technik eingesetzt, die von De Vente et al. (1987) erfunden wurde. Intakte Embryonen werden mit einem NO-Donor inkubiert, der die Bildung von cGMP in Zielzellen mit funktionell aktivierbaren sGC-Enzymen stimuliert. Der schnelle enzymatische Abbau des cGMP wird durch Gabe von Phosphodiesterase-Inhibitoren verhindert. Nach Fixierung des Gewebes kann das gebildete cGMP mit einem Antikörper in diskreten Zellen nachgewiesen werden. Typischerweise tritt die cGMP-Immunreaktivität oftmals nur in bestimmten Entwicklungsstadien vorübergehend auf. Ein Beispiel für Zielzellen, die eine NO-induzierte cGMP-Immunreaktivität beim axonalen Auswachsen zeigen, sind die zwei Paare von Pionierneuronen an der Antennenspitze (Abbildung 3E). Da die epithelialen Zellen an der Basallamina den NOS-Marker NADPH-Diaphorase exprimieren, vermuten wir, dass NO als ein endogener Botenstoff freigesetzt wird,

der als transzelluläres Signal auf die Pionierneurone einwirkt. Eine Inhibition der NO-Synthese durch einen NOS-Blocker (Abbildung 1) führt dosisabhängig zu einer Reduktion bis zur Verhinderung des Wachstums der Pionieraxone (Abbildung 3) (Seidel und Bicker 2000). Ein ähnlicher Effekt wird durch Hemmung der sGC erzielt. Um unspezifische Effekte der Enzyminhibitoren auf die Zellchemie des Embryos auszuschließen, konnten wir den Block der NOS durch 7NI und der sGC durch ODQ (Abbildung 1) durch eine gleichzeitige Applikation mit dem membranpermeablen cGMP-Analogen 8Br-cGMP vollständig aufheben (Abbildung 3D). Diese „Rescue-Experimente“ zeigen zudem, dass das cGMP-Signal nicht gerichtet auf den Wachstumskegel wirken muss, sondern eine homogene Badapplikation in der Gewebekultur ausreichend ist, um das vollständige Auswachsen der Pionieraxone zu gewährleisten (Seidel und Bicker 2000). Vermutlich wirkt zumindest in dem frühen Entwicklungsabschnitt an der Spitze der Antennenanlage die NO/cGMP-Kaskade

als ein permissives und nicht als ein instruktives Signal für das axonale Wachstum. Weiterführende Untersuchungen zeigen, dass die Wachstumsregulation der Antennenpioniere kein Spezialfall ist, sondern auch bei anderen Pionierneuronen die Steuerung des axonalen Wachstums über NO/cGMP erfolgt (Pätschke und Bicker 2007).

NO fördert Regeneration im Zentralnervensystem

Wir fragten uns nun, ob die Wachstumsregulation durch NO auf das periphere Nervensystem beschränkt ist, oder ob sich ähnliche Vorgänge auch im Zentralnervensystem abspielen. Da die frühembryonale Entwicklung des Zentralnervensystems nur unter Schwierigkeiten in Gewebekultur nachvollzogen werden kann, haben wir diese Fragestellung mithilfe eines Regenerationsparadigmas untersucht (Stern und Bicker 2008). Die Regeneration des geschädigten Nervensystems steht seit jeher im Mittelpunkt medizinischen und neurobiologischen

Visit us in Göttingen 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, including our new multi-channel confocal stereology system.

NeuroLucida® > Neuroanatomical Analysis

Stereo Investigator® > Unbiased Stereology

AutoNeuron® > Automated Neuron Tracing

Virtual Slice™ > Full-Slide Imaging



MicroBrightField Europe e.K.

web www.mbfbioscience.com | email info@mbfbioscience.com | phone +49 (0)391 732 6989

Providing solutions to neuroscience researchers for over 18 years

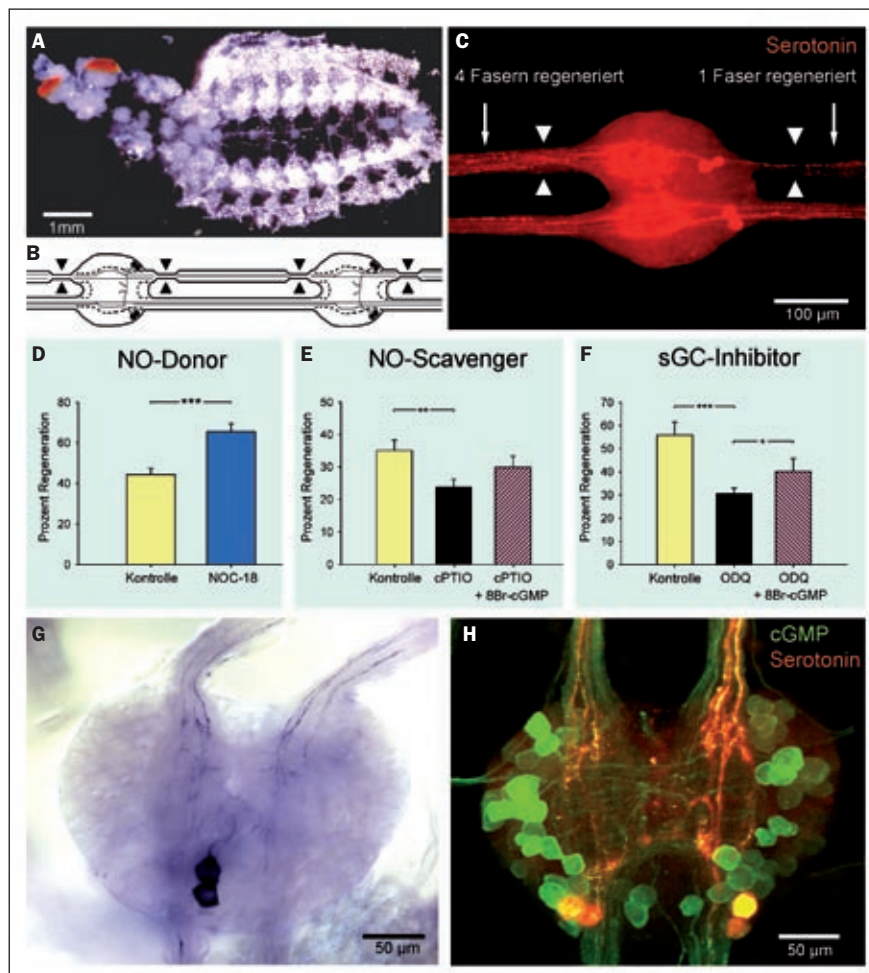


Abb. 4: Stickstoffmonoxid fördert die Regeneration serotonerger Axone im Heuschreckenembryo. (A) Filetpräparat eines zu 65% entwickelten Heuschreckenembryos in Kultur. Das Zentralnervensystem ist freigelegt. (B) Eines der beiden Konnektive zwischen zwei Abdominalganglien wird an zwei Stellen gequetscht (Pfeilspitzen). Danach wird das Präparat für 48 h bei 30°C kultiviert. (C) Fluoreszenzfärbung der vier in jedem Ganglion vorhandenen intersegmentalen serotonerger Interneurone, 48 h nach dem Quetschen. (D) Unter Kontrollbedingungen regenerieren nach 48 h ca. 40% der gequetschten Axone, in Gegenwart des NO-Donors NOC-18 (500 μ M) mehr als 60%. (E) Abfangen von intern produziertem NO mit dem Scavenger cPTIO reduziert die Regeneration, dies lässt sich im Rescue-Versuch mit membranpermeablem cGMP (8Br-cGMP) teilweise aufheben. (F) Inhibition der NO-abhängigen sGC mit ODQ (200 μ M) reduziert Regeneration, dies wird im Rescue mit 8Br-cGMP wieder aufgehoben. Daten in (D-F) sind Mittelwerte aus mindestens zehn Embryonen. (G) NADPH-Diaphorase-Färbung zeigt, dass zu diesem Zeitpunkt NO produzierende Neurone vorhanden sind. (H) Konfokale Aufnahme einer Doppelfärbung gegen Serotonin und cGMP nach Stimulation mit einem NO-Donor. Viele Neurone antworten auf NO mit cGMP-Produktion, die serotonerger sind auch darunter.

Interesses. Während periphere Nerven nahezu problemlos regenerieren, ist zumindest bei höheren Wirbeltieren Regeneration im Zentralnervensystem (ZNS) nur sehr eingeschränkt möglich. Darum steht die Suche nach regenerationsfördernden Faktoren im Fokus aktueller Forschung. Dazu bietet es sich an, mit Wirbellosen zu arbeiten, bei denen Regeneration auch im ZNS möglich ist. Wir konnten bereits zeigen, dass Axone

im adulten Heuschrecken-ZNS prinzipiell regenerieren (Pätschke et al. 2004). Noch besser lässt sich die Regeneration an einem Embryo-Kultursystem untersuchen. Dazu wird der späte Embryo geöffnet und mit freigelegtem ZNS in Kultur genommen (Abbildung 4A). Quetschen eines der paarigen Nerven, die die Ganglien des Bauchmarks verbinden, zerstört die darin verlaufenden Axone (Abbildung 4B). Mit

immunzytochemischen Methoden kann man die Regeneration einzelner (z.B. serotonerger) Axone verfolgen (Abbildung 4C) und quantifizieren. Innerhalb von zwei Tagen regenerieren ca. 40% der Axone über die Quetschstelle hinaus.

Appliziert man Substanzen, die NO freisetzen, erhöht sich dieser Prozentsatz signifikant (Abbildung 4D). Nicht nur extern zugefügtes Stickstoffmonoxid, sondern auch intern produziertes kann Regeneration fördern: Fängt man intern produziertes NO mit einem NO-Scavenger ab, ist die Regeneration reduziert (Abbildung 4E). Als interne NO-Quelle kommen neben Hämocyten vor allem NOS exprimierende Neurone in Frage, die mit der NADPH-Diaphorase-Technik sichtbar gemacht werden können (Abbildung 4G). Deren Axone könnten durch die Quetschung zur NO-Produktion angeregt werden. Wie im peripheren Nervensystem erfolgt auch im ZNS die Wirkung von NO über cGMP. Wird die sGC inhibiert, ist die Regeneration reduziert, lässt sich aber im Rescue-Versuch durch Zugabe von 8Br-cGMP teilweise wiederherstellen (Abbildung 4F). Die serotonerger Interneurone selbst, die hier als Beispiel betrachtet wurden, wie auch eine Vielzahl anderer Zellen vermag auf NO-Stimulation mit erhöhter cGMP-Produktion zu antworten (Abbildung 4H), sodass man von einem allgemeinen Effekt ausgehen kann. Es ist möglich, und sogar wahrscheinlich, dass NO das Wachstum von ZNS-Axonem nicht nur bei der Regeneration, sondern auch bei der natürlichen Entwicklung beeinflusst.

Der Einfluss von NO auf Regeneration geschädigten Nervengewebes ist auch aus anderen Organismen bekannt, z.B. aus dem ZNS des Blutegels (Duan et al. 2005), aber dort wirkt NO indirekt über die Vermittlung von Mikroglia. Auch bei der Regeneration des peripheren Nervensystems von Wirbeltieren scheint es eine Rolle zu spielen (Keilhoff et al. 2002), hier allerdings durch Förderung der für Regeneration wichtigen vorhergehenden Wallerschen Degeneration.

Zellmigration im enterischen Nervensystem

Viele der molekularen Leitsignale, die axonales Auswachsen steuern, sind identisch mit den Leitsignalen, die für eine gerichtete Wanderung von Neuronen bei der Hirnentwicklung verantwortlich sind (Song und Poo 2001). Daher überlegten wir, ob das NO/cGMP-System auch bei Insekten für die Regulation von Zellwanderung verantwortlich sein könnte. Wir untersuchten deshalb den

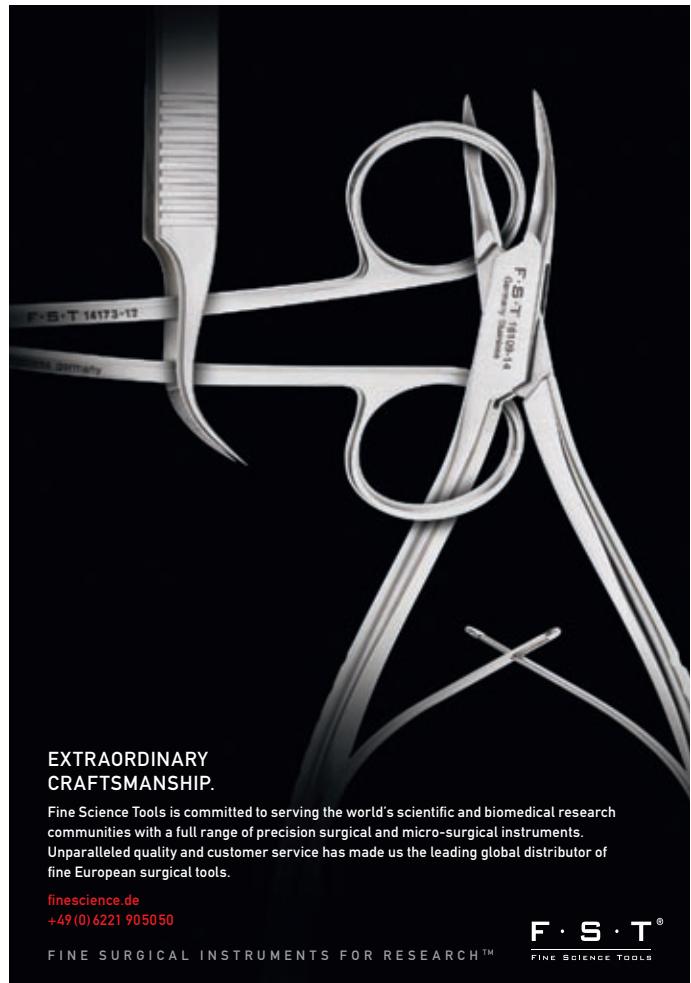
als stomatogastrisches oder auch als enterisches bezeichneten Teil des peripheren Nervensystems, das den Darm innerviert. Die Entwicklung des enterischen Nervensystems von Insekten ähnelt der umfangreichen Zellwanderung aus den Neuralleisten der Wirbeltiere, bei denen sich Ganglien des autonomen Nervensystems bilden. Daher ist das enterische Nervensystem der Insekten ein gut etabliertes Modellsystem für zellbiologische Studien der neuronalen Wanderung (Hartenstein 1997). Der Darm der Heuschrecke besteht aus drei Abschnitten, dem Vorder-, Mittel- und Hinterdarm. Die Neurone des Mitteldarmplexus werden in einer neurogenen Zone des ektodermalen Vorderdarms geboren und bilden Zellpakete von postmitotischen, aber noch nicht vollständig differenzierten Neuronen an der Grenze zwischen Vorder- und Mitteldarm. Anschließend durchlaufen sie eine Phase schneller Zellwanderung, während der sie die Mitteldarmgrenze überqueren und sich als „Kettenmigration“ auf vier geradlinig verlaufenden Zugstraßen über die Oberfläche des Mitteldarms bewegen (Abbildung 5A-C). Nach Beendigung dieser schnellen Wanderphase verlassen die Mitteldarmneurone die Zugstraßen, verteilen sich im Mitteldarmplexus und nehmen synaptische Kontakte mit der Darmmuskulatur auf (Abbildung 4D). Während der schnellen Wanderungsphase zeigen die Neurone eine vorübergehende, NO-induzierte cGMP-Immunreaktivität, die mit dem Ausreifen des Plexus nachlässt (Haase und Bicker 2003). Die Bildung von cGMP wird daher entwicklungsabhängig reguliert und korreliert mit der Wanderungsphase und dem Neuritenwachstum. Wir zeigten durch Westernblotting mit einem Antikörper gegen eine konservierte Sequenz in der NOS, dass sich in den Entwicklungsstadien der Wanderungsbewegung im Darmgewebe eine höhere Konzentration des Enzyms als im zentralen Nervengewebe befindet (Knipp und Bicker 2009). Damit stellt der Darm eine potenzielle NO-Quelle dar, die das „Timing“ der Zellwanderung zur Innervierung seines Plexus über cGMP regulieren kann. Zur Untersuchung einer kausalen Beziehung zwischen dem NO/cGMP-System und der Zellmigration haben wir wieder in unserem Embryokultursystem die Signaltransduktion in Echtzeit chemisch manipuliert. Die Blockade der endogenen NO-Synthese verhindert die Migration der Mitteldarmneurone (Haase und Bicker 2003). Der sGC-Inhibitor ODQ blockiert ebenfalls dosisabhängig die Zellwanderung. Da ein spezifischer PKG-Inhibitor außerdem die Zellmigration hemmt, wirkt cGMP vermutlich über PKG als Effektorenzym. Die Verzögerung der Neuronenwanderung durch Hemmung der NO- oder cGMP-Synthese kann durch exogene Gabe von membranpermeablem cGMP oder der pharmakologischen Stimulation der sGC vollständig aufgehoben werden (Abbildung 5E-J). Die Rescue-Experimente zeigen, dass die NO/cGMP-Signaltransduktion essenziell für die Regulation der Zellwanderung ist und *in vivo* ein gewisser cGMP-Spiegel für die Beweglichkeit der Mitteldarmneurone benötigt wird. Da die Inhibition der NOS oder sGC keine Fehler in der Navigation auf den Wanderungsstraßen hervorruft, gibt es bei dieser Form der Zellmigration keine Evidenz für eine richtungsweisende Funktion der NO-Freisetzung. NO wirkt also permissiv aber nicht instruktiv auf die gerichtete Zellwanderung.

Um eine transzelluläre Diffusion von NO aus den Darmzellen zu den wandernden Mitteldarmneuronen zu untersuchen, wurde Hämoglobin als NO-Scavenger (Abbildung 1) eingesetzt. Da exogen zugesetztes Hämoglobin durch seine Molekülgröße bedingt in der extrazellulären Gewebeflüssigkeit verbleibt, ist sein Hemmeffekt auf die Zellwanderung der Mitteldarmneuronen

als Evidenz für eine interzelluläre NO/cGMP-Signalübermittlung zu werten (Knipp und Bicker 2009).

Es ist momentan noch nicht im Detail bekannt, wie die NO/cGMP/PKG-Kaskade das Wanderverhalten der Mitteldarmneurone beeinflusst. Die Zellwanderung wird von einer Umorganisation des Zytoskeletts begleitet und hängt unter anderem von Kräften ab, die bei der Polymerisation von Aktin an den Wachstumskegeln ansetzen. Die Aktinfilamente werden an dem unterliegenden Substrat angeheftet und tragen so zur Translokation des Wachstumskegels bei. Wir haben filamentöses Aktin in den wandernden Mitteldarmneuronen mittels fluoreszenzgekoppeltem Phalloidin mikroskopisch visualisiert. In der Wanderphase sind Aktinfilamente hauptsächlich in den Zellfortsätzen und nicht im Zellkörper lokalisiert. Unter Bedingungen, in denen die Wanderung durch eine Blockade der NO/cGMP/PKG-Kaskade unterbunden wird, bildet sich ein dichtes Netzwerk von Aktinfilamenten im Zellkörper (Haase und Bicker 2003). Dieser Zustand kann auch durch eine Aktivierung der cAMP/Proteinkinase A-Signalkaskade erreicht werden. Die chemischen Manipulationen in Embryokultur zeigen, dass die NO/cGMP-Signaltransduktion antagonistisch zur cAMP/PKA-Kaskade auf die Zellwanderung wirkt.

Neben den wandernden Neuronen wird der Mitteldarmplexus auch von zusätzlichen Neuriten innerviert, die am Vorderdarm positionierten kleinen Ganglienknotten des enterischen Nervensystems entspringen und größtenteils durch Serotonin-Immunzytochemie darstellbar sind (Stern et al. 2007). Das Neuritenwachstum dieser Neuronenpopulation folgt unmit-



EXTRAORDINARY CRAFTSMANSHIP.

Fine Science Tools is committed to serving the world's scientific and biomedical research communities with a full range of precision surgical and micro-surgical instruments. Unparalleled quality and customer service has made us the leading global distributor of fine European surgical tools.

finescience.de
+49 (0) 6221 905050

F · S · T[®]
FINE SURGICAL INSTRUMENTS FOR RESEARCH™ FINE SCIENCE TOOLS

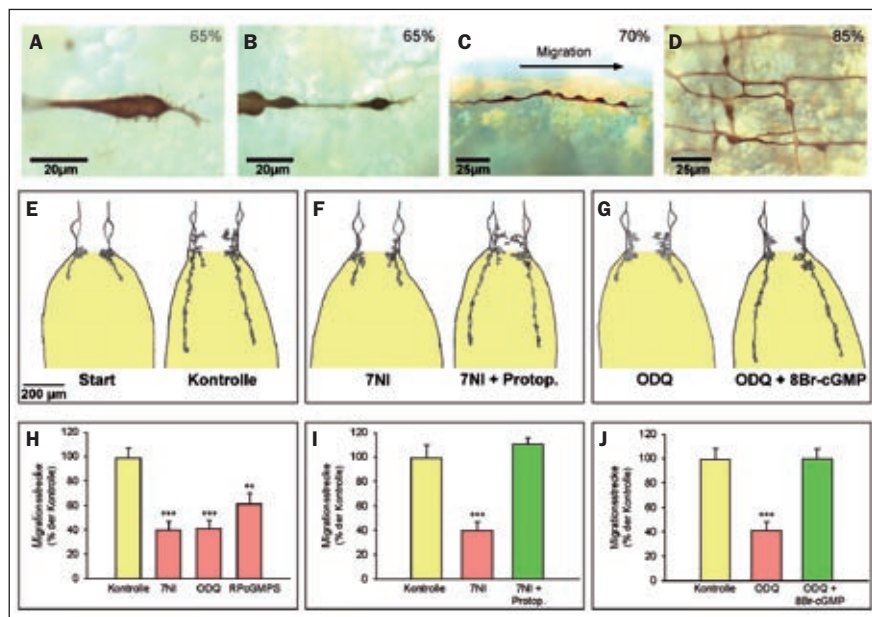


Abb. 5: Stickstoffmonoxid reguliert die Migration enterischer Neurone im Heuschreckenembryo. (A-D) NO-induzierte cGMP-Immunfärbung migrierender enterischer Neurone auf dem Mitteldarm in verschiedenen Entwicklungsstadien (angegeben in %). Die führenden Neurone lassen immunreaktive Filopodien erkennen (A, B), werden von einer Kette von wandernden Neuronen gefolgt (C), die später die Zugstraßen verlassen und einen Plexus ausbilden (D). (E-H) Zeichnungen von cGMP-immunreaktiven enterischen Neuronen vor (Start) bzw. nach 24 Stunden in Kultur (alle anderen Zeichnungen). Es sind jeweils zwei von insgesamt vier Zugstraßen pro Darm gezeichnet. Zu Beginn des Experiments befinden sich die Neurone an der Grenze zwischen Vorderdarm und Mitteldarm (gelb) und wandern in 24 h ca. 300 μm posterior (E). Inhibition der NOS mit 7NI verhindert diese Migration, lässt sich aber durch direkte Stimulation der sGC mit Protoporphyrin IX wiederherstellen (F, I). Inhibition der sGC mit ODQ verhindert die Migration, lässt sich aber durch gleichzeitige Applikation des membranpermeablen cGMP-Analogons 8Br-cGMP wiederherstellen (G, J). Auch Inhibition der Proteinkinase G mit RPcGMPS hemmt die Migration (H). Die Daten in H-J sind Mittelwerte aus jeweils mindestens zehn Embryonen.

telbar der Kettenmigration der Mitteldarmneuronen auf den vier Wanderungsstraßen. Diese Neuriten zeigen keine NO-induzierte cGMP-Synthese. Dadurch konnten wir die Frage entscheiden, ob sich eine Blockade der NO-Synthese auch auf die Entwicklung von Neuronen auswirkt, die keine unmittelbaren Zielzellen der NO/cGMP-Kaskade sind. Wird die Wanderung der Mitteldarmzellen pharmakologisch mit 7NI gehemmt, so wird auch das Auswachsen der serotonergen Fasern verzögert (Stern et al. 2007). Damit ist gezeigt, dass Entwicklungsdefekte, die durch eine Störung der NO-Synthese bedingt sind, auch auf andere Zellen außerhalb der NO/cGMP-Signalkaskade übersprechen.

Verkehrsregulation der Zellwanderung durch CO

Durch seinen einfachen Verlauf auf den geradlinigen Zugstraßen und die Mög-

lichkeit, eine Vielzahl von Embryonen im gleichen Entwicklungsstadium in der Multiwellplatte mit chemischen Verbindungen zu inkubieren, bietet sich die Zellwanderung auf dem Mittelarmplexus als ein Screeningsystem für die expandierende neue Disziplin der „chemischen Biologie“ an. Die bisher beschriebenen Versuche zeigten, dass wir den „loss of function“ Defekt in der Zellwanderung, durch Zugabe von Enzymaktivatoren stromabwärts des Blocks der NO-Signaltransduktionskette (Abbildung 1) kompensieren konnten. Wir haben inzwischen eine Reihe von Verbindungen auf ihre Wirksamkeit getestet, die Zellwanderung zu beschleunigen. Ein Überschuss des NOS-Substrats L-Arginin, verschiedene NO-Donoren und die Verstärkung der sGC-Enzymaktivität mit dem NO-unabhängigen Aktivator YC-1 führen jedoch zu keiner statistisch signifikanten Beschleunigung der Zellwan-

derung. Überraschenderweise konnten wir jedoch mit niedrigen Konzentrationen von bestimmten Metalloporphyrinen, die als Hänoxigenase-Inhibitoren wirken, eine robuste Beschleunigung der Zellwanderung erzielen (Knipp und Bicker 2009). Hänoxigenase katalysiert den Abbau von Häm zu Biliverdin, einem Prozess, bei dem Kohlenstoffmonoxid (CO) als Beiprodukt frei wird (Boening und Snyder 2003). Umgekehrt kann man durch Applikation eines Hänoxigenase-Substrats oder von CO-Donoren auf den Insektenembryo die Zellwanderung wieder verzögern. Durch Arbeiten, die im Labor von Solomon Snyder ihren Ausgang nahmen, steht CO unter gut begründetem Verdacht, ein weiterer gasförmiger Botenstoff zu sein, der im Nervensystem aktivitätsabhängig gebildet wird. Wir konnten am Insektenembryo zeigen, dass die wandernden Mitteldarmneuronen eine transiente Immunreaktivität gegen die neuronale Isoform der Hänoxigenase zeigen (Knipp und Bicker 2009). Da die pharmakologische Hemmung der Hänoxigenase zu einem „gain of function“ in der Zellwanderung führt, postulieren wir, dass eine endogene CO-Produktion in den Mitteldarmneuronen die Zellwanderung verzögert. Sowohl NO als auch CO binden an sGC, aber bei der Stimulation der enzymatischen cGMP-Bildung ist NO um Größenordnungen effizienter als CO. Daher könnte über einen Wettbewerbsmechanismus CO als endogener Koregulator die NO-induzierte cGMP-Bildung verringern und als Bremspedal die Wanderung der Mitteldarmneuronen dem Verkehrsfluss anpassen.

Regulation der Zellmotilität im Nervensystem von Vertebraten

Da NO bereits als ein essenzieller Mediator der Zellwanderung in der glatten Muskulatur, in Epithelien und bei Makrophagen identifiziert wurde (Brown et al. 1999; Elferink und VanUffelen 1996), ist es im Rückblick eigentlich nicht verwunderlich, dass dieser gasförmige Botenstoff auch als Regulator der Zellmotilität bei der Entwicklung in Vertebratennervensystemen eingesetzt wird. Bei einem bestimmten NO synthetisierenden Neuron der Schnecke *Helisoma* orchestriert die NO/cGMP-Signalbahn das Neuritenwachstum und eine Verlängerung der Filopodien auf dem Wachstumskegel (Trimm und Rehder 2004). Diese präzise Funktion steht vermutlich im Zusammenhang mit einer verbesserten Orientierung des Wachstumskegels an Entscheidungspunkten der



Wegfindung. Erstaunlicherweise reguliert NO nicht nur die Zellwanderung in tierischem Gewebe, sondern besitzt auch beim Spitzenwachstum von pflanzlichen Pollenschläuchen eine Leitfunktion (Prado et al. 2004). Da viele der Signalkaskaden der axonalen Navigation zwischen Evertrebraten und Vertebraten in der Evolution konserviert sind, wollen wir uns der Frage zuwenden, ob NO auch bei den massiven Neuronenwanderungen bei der Entwicklung des Wirbeltiergehirns eine Rolle spielt.

Es gibt in der Tat eine Reihe von Hinweisen, die diese Vorstellung unterstützen. Neuroanatomische Studien mit Markern gegen NOS und sGC deuten darauf hin, dass die wandernden Neuroblasten des rostralen migratorischen Stroms potenzielle Zielzellen für NO Signale sind (Guitierrez-Mecinas et al. 2007). Bei der Entwicklung des menschlichen Rückenmarks exprimieren definierte Untergruppen von Interneuronen auf ihrer Wanderung zum Zielgebiet NOS (Foster und Phelps 2000). Für die transiente Expression von Enzymen der NO/cGMP/PKG-Kaskade in kritischen Phasen der Hirnentwicklung lassen sich noch weitere Beispiele anführen.

Die Bildung des Zerebellums ist charakterisiert durch eine charakteristische Wanderung der Körnerzellen von der externen zu der internen Körnerzellschicht. Eine pharmakologische Blockade der NOS oder der Einsatz des NO-Scavengers Hämoglobin in einem Kultursystem für Zerebellumschnitte hemmen die Wanderung der Körnerzellen (Tanaka et al. 1994). Diese Experimente sind Evidenz für eine Rolle von endogener NO-Synthese bei Wanderungsprozessen der Körnerzellen. Knockout-Mäuse, die in einer Isoform der PKG defizient sind, zeigen Störungen in der Entwicklung des Neokortex, die sich auf abnormale neuronale Wanderung zurückführen lassen und damit die cGMP/PKG-Signalbahn implizieren (Demyanenko et al. 2005). Kürzlich wurde ein besonders spektakuläres Beispiel für strukturelle Plastizität im Nervensystem entdeckt, das auf einer gerichteten Orientierung von präsynaptischen Zellfortsätzen beruht. Die NO-Freisetzung aus hippocampalen Neuronen induziert retrograd eine multiaxonale Innervation der dendritischen Spines (Nikonenko et al. 2008).

Lassen sich nun die Ergebnisse vom Entwicklungsmodell des Insektenembryos auch auf die menschliche Gehirnentwicklung übertragen? Um diese Frage ansatzweise experimentell anzugehen, haben wir Neurosphärenkulturen einer humanen Teratokarzinomzelllinie (Ntera2) etabliert, die sich unter dem Einfluss von Retinsäure in postmitotische Neuronen differenzieren (Paquet-Durand und Bicker 2007). Werden die Neurosphären auf adhärenthem Substrat plattiert, so migrieren die Vorläuferzellen aus der Peripherie aus und lassen sich videomikroskopisch bezüglich ihrer Wanderstrecke quantifizieren. Wir konnten durch Blockade wie durch Aktivierungsexperimente eine positive Wirkung von NO/cGMP/PKG-Signaltransduktion auf die Motilität neuronaler Vorläuferzellen in der Zellkultur nachweisen (Tegenge und Bicker 2008). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sowohl bei der Entwicklung des Grashüpfer- wie des menschlichen Nervensystems NO als Regulator für Mechanismen der Zellwanderung dient.

Literatur

Garthwaite, J. (2008): Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur J Neurosci* 27: 2783-2802.

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

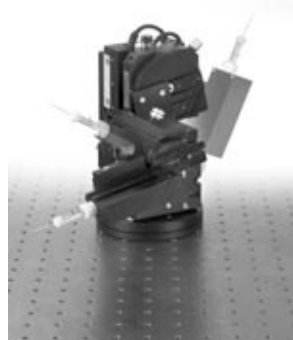


BA-03X

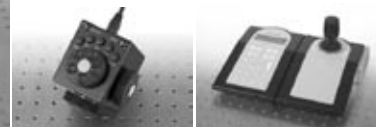
Suitable for **intracellular recordings**, **extracellular recordings** with high gain and **electroporation**

Ψ Scientifica

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



- Haase, A. und Bicker, G. (2003): Nitric oxide and cyclic nucleotides are regulators of neuronal migration in an insect embryo. *Development* 130: 3977-3987.
- Knipp, S. und Bicker, G. (2009): Regulation of enteric neuron migration by the gaseous messenger molecules CO and NO. *Development* 136: 85-93.
- Seidel, C. und Bicker, G. (2000): Nitric oxide and cGMP influence axonogenesis of antennal pioneer neurons. *Development* 127: 4541-4549.
- Stern, M., Knipp, S. und Bicker, G. (2007): Embryonic differentiation of serotonin-containing neurons in the enteric nervous system of the locust (*Locusta migratoria*). *J Comp Neurol* 501: 38-51.
- Stern, M. und Bicker, G. (2008): Nitric oxide regulates axonal regeneration in an insect embryonic CNS. *Dev Neurobiol* 68: 295-308.
- Wolf, G. (1997): Gasproduktion im Nervensystem: Stickoxid. *Neuroforum* 3/97: 100-107.

Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden.

Danksagung

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung und allen Mitgliedern unseres Labors für ihre Beiträge zur Forschung an der NO-Signaltransduktion.

Kurzbiografien

Gerd Bicker: 1970–1976 Studium der Biologie in Freiburg. Promotion an der Universität Freiburg von 1976–1979 mit Aufenthalt am Weizmann Institute of Science. Anschließend Postdoc an der University of California, Santa Cruz und der University of Alberta, Edmonton von 1979-1982. Wissenschaftlicher Mitarbeiter und Oberassistent an der FU Berlin von 1982-1992. Von 1992-1997 Heisenberg-Stipendiat der DFG mit mehreren Forschungsaufenthalten am Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley. Seit 1997

Professor für Zellbiologie an der Tierärztlichen Hochschule Hannover.

Michael Stern: 1986-1992 Studium der Biologie in Hamburg, 1995 Promotion an der Universität Hamburg, 1995-1997 Postdoc am Sussex Centre for Neurosciences, UK. Seit 1998 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe Bicker an der Tierärztlichen Hochschule Hannover.

Korrespondenzadresse

Prof. Gerd Bicker
 Abteilung Zellbiologie,
 Physiologisches Institut,
 Stiftung Tierärztliche Hochschule
 Hannover
 Bischofsholer Damm 15/102
 30173 Hannover
 Tel: + 49 (0)511 856-72 72
 Fax: + 49 (0)511 856-76 87
 E-Mail: gerd.bicker@tiho-hannover.de

STELLENMARKT

UNIVERSITÄT LEIPZIG



Max Planck Institute
for Evolutionary Anthropology

MAX-PLANCK-GESellschaft

MAX
PLANCK
INSTITUTE
FOR
HUMAN
COGNITIVE AND BRAIN SCIENCES
LEIPZIG



The International Max Planck Research School Neuroscience of Communication: Function, Structure, and Plasticity is based at the MPI for Human Cognitive and Brain Sciences, Leipzig (Germany) and the University of Leipzig, also involving the MPI for Evolutionary Anthropology, Leipzig and the Institute of Cognitive Neuroscience at UCL (UK).

The IMPRS offers a unique interdisciplinary graduate programme to study the functional, structural, and plastic bases of human communication. Besides behavioural work, the programme draws on elaborate modern imaging techniques including a 7-Tesla MRI scanner and a 306-channel MEG system.

The school invites **applications for PhD scholarships**.

Successful candidates will be accepted into one of the following four modules: (1) Verbal Communication (Language), (2) Non-verbal Communication (Action and Interaction), (3) Neuroscience, or (4) Methods. Requirement for successful candidates is a Master's (or qualified equivalent) degree in disciplines like computer science, linguistics, neurobiology, neurology, physics, psychiatry, psychology, or related fields.

Further requirements include outstanding academic performance; excellent oral and written English language skills; aptitude for original, independent, and creative work; performed research and published, or submitted for publication, results (desirable). Candidates near to completion may also submit applications, indicating the date of completion. Depending on qualification and background, we may consider applicants with a Bachelor's degree.

The application must be supported by a degree and school certificate, academic transcripts, a CV, three names and email addresses of academic referees, and a personal statement explaining the candidate's motivation and reasons for pursuing a PhD at the IMPRS. Applications should indicate the preferred module into which the candidate wishes to be accepted, and specify the preferred supervisor. Applications are to be submitted in electronic format only until **31 March 2009**.

All admitted students receive a scholarship for the duration of 3 years. The graduate programme will start with the Summer Semester 2009 at the University of Leipzig (1 April 2009). The language of the IMPRS is English. Further information under: <http://imprs-neurocom.mpg.de>.

Contact: Dr Antje Holländer, IMPRS Co-ordinator, e-mail: imprs@cbs.mpg.de, phone: +49 (0)341 9940-2261

Genetisch kodierte optische Sensoren des neuronalen Membranpotenzials: Was sind die Perspektiven für die hochauflösende Messung elektrischer Signale in kortikalen Hirnstrukturen?

Walther Akemann und Thomas Knöpfel

Zusammenfassung

Zur Erforschung der Funktionsweise kortikaler neuronaler Schaltkreise bedarf es experimenteller Methoden, die die elektrische Aktivität sehr vieler Nervenzellen innerhalb eines gewählten Gewebereichs simultan erfassen. Dadurch motiviert ist die Entwicklung einer optischen Technik zur Ableitung elektrischer Potenziale in Nervenzellen durch genetisch codierte Proteinindikatoren mit membranspannungsabhängiger Fluoreszenzmission (VSFPs: Voltage-Sensitive Fluorescent Proteins). Alle bisher entwickelten Proteine dieser Art sind als Fusionsproteine mit Komponenten aus spannungsgesteuerten Membranproteinen und fluoreszierenden Proteinen konzipiert. Fluoreszierende Spannungssensorenproteine mit den bisher besten Eigenschaften (VSFP2 und VSFP3) enthalten einen Teil einer spannungsgesteuerten Phosphatase der Schlauchseescheide (*Ciona intestinalis*). Wir beschreiben den gegenwärtig erreichten Stand der Entwicklung dieser Proteine in Hinblick auf ihre Anwendung zur Messung der Dynamik und Ausbreitung elektrischer Erregung in kortikalen neuronalen Netzwerken in Echtzeit und mit hoher räumlich-funktionaler Auflösung.

Abstract

Genetically-encoded optical sensors of membrane voltage: perspectives for high-resolution imaging of electrical excitation in cortical brain structure.

The research on the function of neuronal cortical circuits is in need for experimental methods to monitor electrical activity of large neuronal assemblies in brain tissue. This demand motivates the development of genetically-encoded voltage-sensitive fluorescent proteins (VSFPs) for the detection of electrical potentials in nerve cells. All currently known VSFPs were developed as protein fusions between components from voltage-gated membrane proteins and fluorescent proteins. The VSFP proteins with the best performance so far (VSFP 2 and VSFP3 families) comprise a domain from a voltage-gated phosphatase of the ascidian *Ciona intestinalis*. We describe the current status of development of these proteins with regard to applications in high-resolution, real-time imaging of electrical activity in large-scale networks of cortical neurons.

Keywords: VSFP; voltage-sensitive fluorescent proteins; Ci-VSP; cortical neurons; cortical networks; voltage imaging

Einleitung

Eine der fundamentalen Herausforderungen der modernen Hirnforschung besteht darin, die Vorgänge zu verstehen, mit denen Gegenstände und Ereignisse der physikalischen Wirklichkeit in den Zustandsraum elektrischer Aktivitätsmuster des zentralen Nervensystems abgebildet werden. Dabei stellt sich unter anderem die Frage, wie aus

primärer sensorischer Information kognitive Korrelate der externen Wirklichkeit entstehen und nach welchen Regeln diese codiert sind. Eine einflussreiche Hypothese geht auf Wolf Singer und seine Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Hirnforschung in Frankfurt/M. zurück, wonach die durch sensorische Aktivität verursachte Erregung kortikaler Populationen von Nervenzellen durch kollektive Oszillation der Membran-

spannung koordiniert wird. Die Populationsoszillationen könnten demnach dazu beitragen, den Beziehungszusammenhang ('Bindung') zwischen Elementen der im Netzwerk räumlich verteilten Information durch zeitliche Synchronisierung individuell erregter Nervenzellen herzustellen (siehe Exkurs 1). Trotz dieses und anderer interessanter Ansätze ist das heute erreichte Verständnis der dynamischen Prozesse in kortikalen Netzwerken insgesamt sehr unvollständig. So sind selbst grundlegende Mechanismen der Entstehung und räumlich-zeitlichen Struktur neuronaler Oszillationen und ihrer Wechselwirkung mit Erregungen individueller Nervenzellen nur teilweise aufgeklärt. Eine wesentliche Hemmnis für die Analyse dieser Vorgänge ist das Fehlen geeigneter experimenteller Verfahren, die es erlauben würden, die elektrische Aktivität des Gehirngewebes unter Einschluss aller miteinander kommunizierender Zelltypen, zumindest innerhalb kleiner Volumenbereiche, simultan und in Echtzeit auszuweisen.

Messung der elektrischen Erregung in kortikalen Netzwerken

Moderne bildgebende Verfahren der klinischen Hirnforschung, wie MRI (Magnetic-Resonance-Imaging, PET (Positron-Emission-Tomography) und XCT (X-ray Computer Tomography) ermöglichen eine räumliche Auflösung kortikaler Strukturen, die in etwa der Größe kolumnarer kortikaler Module entspricht (siehe Exkurs 1). Zeitauflösende Varianten dieser Verfahren (fMRI: funktional MRI; fPET: funktional PET) bilden die durch elektrische Erregung ausgelöste Steigerung metabolischer Aktivität in einzelnen Gehirnarealen ab, bleiben dabei aber um Größenordnungen von der räumlichen und zeitlichen Auflösung entfernt, die erforderlich wäre, um die Abfolge elektrischer Potenziale einzelner Nervenzellen des lokalen neuronalen Netzwerks zu erfassen. In der neurophysiologischen Forschung kommen daher oft andere Verfahren zum Einsatz, die eine Messung der elektrischen Erregung auf Einzelzellniveau in Tierexperimenten ermöglichen. Dazu zählen die direkte Ableitung elektrischer Potenziale durch implantierte Elektroden und bildgebende Verfahren auf der Basis intrazellulärer oder membrangebundener Fluoreszenzindikatoren (Knöpfel et al. 2006). Elektrodenableitungen erreichen eindeutig die höchste Empfindlichkeit und Zeitauflösung. Da implantierte Elektroden das Gehirngewebe unvermeidbar schädigen, beschränkt sich die Anwendung dieser klassischen elektrophysiologischen Methodik



Exkurs 1

Struktur und Funktion kortikaler neuronaler Schaltkreise

Die Grosshirnrinde der Säugetiere hat eine durchgehende laminaire Struktur, die aus sechs zytologisch deutlich unterscheidbaren Lagen besteht. Die laterale Variation der Zytoarchitektur gibt Anlass zu der Unterteilung in kortikale Areale (nach Brodmann; 50 plus Unterteilungen beim Menschen) die in den meisten Fällen auch eine klare funktionale Spezialisierung zeigen. Innerhalb der sensorischer Areale (z.B. somatosensorisch, visuell, auditorisch) lassen sich elementare Funktionseinheiten, sogenannte kolumnare Module, anhand minimal unterscheidbarer sensorischer Rezeptionsfelder definieren. Der horizontale Durchmesser dieser Module wird oft mit etwa 500 μm abgeschätzt. Unter der Annahme, dass sich kolumnaren Einheiten dieser Grösse mosaikartig über die gesamte Grosshirnrinde fortsetzen, ergibt sich beim Menschen eine Gesamtanzahl von etwa 2 Millionen Module mit zwischen 20.000 bis 70.000 Neuronen pro Modul. Jede dieser Einheiten besteht aus einem Netzwerk erregender Zelltypen (Pyramidalzellen; $\sim 70\%$) und hemmender Interneurone (u.a. Sternzellen, Korbzellen, Spindelzellen), wobei die verschiedenen Segmente der Pyramidalzellen (Zellkörper, Dendriten, Axone) typischerweise von verschiedenen Interneuron-Klassen innerviert sind. Die lokalen neuronalen Schaltkreise setzen sich aus dem System der einzelnen Zellen und ihrem lokalen synaptischen Verbindungen (im Gegensatz zu den langreichweitigen Verbindungen aus z.B. Assoziations- und Kommissurenfasern) zusammen. Eine wichtige Eigenschaft der lokalen kortikalen Schaltkreise besteht darin, synchronisierte rhythmische Modulationen des Membranpotenzials in spezifischen Zellgruppen auszulösen. Diese kollektiven Oszillationen fördern die Synchronisation von Aktionspotenzialen innerhalb dieser Zellgruppen und kodieren synaptische Informationen in Phasenbeziehungen um. Zur Erforschung dieser im Detail aber unverstandenen Mechanismen bedarf es experimenteller Methoden, die die elektrische Aktivität sehr vieler Nervenzellen innerhalb eines lokalen kortikalen Schaltkreises simultan erfassbar machen.

auf die Registrierung einer relativ geringen Anzahl von Neuronen in einem gegebenen Volumenbereich. Es ist daher zweifelhaft, ob mit Mikroelektrodetekniken zum Beispiel die Funktion und interne Dynamik kortikaler Kolumnen (Module) hinreichend genau erfasst werden kann. Optische Methoden hingegen ermöglichen es im Prinzip, die Aktivität beliebig vieler Nervenzellen ohne Gewebeverletzung innerhalb eines gewählten Gewebeausschnitts simultan zu erfassen. Empfindlichkeit und Auflösungsvermögen optischer Verfahren wird grundsätzlich bestimmt durch das Antwortverhalten des verwendeten Indikatorfarbstoffs, dessen Verteilung im Gewebe und von den optischen Bedingungen zur Registrierung der Indikatorsignale. In der Anwendung gegenwärtig am weitesten verbreitet sind kalziumsensitive Fluoreszenzindikatoren. Diese reagieren auf transiente Erhöhungen der intrazellulären Kalziumionenkonzentration wie sie typischerweise von Aktionspotenzialen in Nervenzellen ausgelöst werden. Wie Werner Göbel und Fritjof Helmchen vom Institut für Hirnforschung der Universität Zürich zeigen konnten, lassen sich durch Verwendung von Kalziumindikatoren in Kombination mit schnellen Laser-Raster-Verfahren neuronale Aktivitätsmuster 3-dimensional verteilter Zellpopulationen der Hirnrinde im lebenden Tier in Echtzeit auslesen (Göbel und Helmchen 2008). Es gibt allerdings auch Fragestellungen, die sich wohl nur mit einer direkten Messung der schnellen elektrischen Membranvorgänge beantworten lassen werden. Dazu gehört unter anderem die einleitend erwähnte Frage der räumlich-zeitlichen Organisation koordinierter neuronaler Aktivität unter dem Einfluss schneller Oszillationen des kortikalen Netzwerks, siehe (Exkurs 1).

Optisch-potenziometrische Messung neuronaler elektrischer Erregung

Für die direkte optische Messung der Membranspannung sind seit vielen Jahren potenziometrische Fluoreszenzindikatoren verfügbar, die den Zeitverlauf einzelner Aktionspotenziale auflösen. Die technischen Anforderungen an Messungen mit potenziometrischen Farbstoffen sind allerdings sehr hoch und die Interpretation von Signalen aus intaktem Hirngewebe ist meist begrenzt. Die heute verfügbaren Fluoreszenzfarbstoffe zeigen bestenfalls 20 % Fluoreszenzänderung bei 100 mV Membranspannungsänderung. Die Basisfluoreszenz im Ruhezustand der Zelle, d.h. in der Nähe des Ruhepotenzials (~ -70 mV) ist damit also deutlich höher als die maximal zu erwartenden Fluoreszenzän-

derungen durch elektrische Erregung. Unter praktischen Bedingungen ist die Grundfluoreszenz noch um ein Vielfaches erhöht, da typischerweise auch elektrisch inaktive Membranen mit dem Indikator eingefärbt sind, was zu einer weiteren erheblichen Verminderung der messbaren Fluoreszenzänderungen führt. Weitere messtechnische Schwierigkeiten ergeben sich aus der geringen Zahl detektierbarer Fluoreszenzphotonen pro Messintervall bedingt durch die zur Messung schneller elektrischer Transienten notwendigen hohen Aquisitionsraten. Dieser Faktor erhöht den Rauschanteil im emittierten Fluoreszenzsignal. In der Praxis zeigt sich daher, dass Messungen auf der Basis konventioneller potenziometrischer Farbstoffe durch ungünstige Signal/Rauschverhältnisse gekennzeichnet sind.

Wegen des potenziell großen Nutzens potenziometrischer Messungen für die neurophysiologische Forschung sind Verbesserungen dieser Messtechnik von großer Bedeutung. Eine aussichtsreiche Weiterentwicklung, zu der wir maßgeblich beigetragen haben, besteht aus der Entwicklung künstlicher Membranproteine mit spannungsabhängigen Fluoreszenzeigenschaften. Potenziometrische Indikatoren auf der Basis von Proteinen lassen sich durch Gentransfer in definierte Zellpopulationen einschleusen. Die genetische Kontrolle der Lokalisierung des Indikators im Gewebe bringt eine enorme Verbesserung des Messverfahrens in der physiologischen Anwendung mit sich: Zum einen werden parasitäre Beiträge zur Grundfluoreszenz durch unselektiv eingefärbte Membranen (z.B. Gliazellen) vermieden ausserdem ergibt sich ein wesentlicher Vorteil bei der Signalinterpretation durch die strikte Zuordnung eines gemessenen Spannungssignals zu Zellen definierten Genotyps. So lassen sich zum Beispiel kollektive elektrische Erregungen in genetisch definierten Zellpopulation untersuchen und zwar unabhängig von der räumlichen Auflösung der optischen Messung. Durch Entwicklung von Indikatoren mit hinreichend unterschiedlichen Emissionsspektren ist es ferner denkbar, Signale definierter Subpopulationen nach spektralen Kanälen getrennt simultan auszulesen.

Natürliche Membranproteine mit spannungsabhängiger Funktion

Die Entwicklung künstlicher Membranproteine mit spannungsabhängiger Fluoreszenz, abgekürzt VSFPs (voltage-sensitive fluorescent proteins), wurde ermöglicht durch Klonierung und funktioneller Charakterisierung natürlich vorkommender

spannungsgesteuerter Membranproteine. Zu diesen gehören die Gruppe der spannungsgesteuerten Ionenkanäle mit den Familien der Kalium- (Kv), Natrium- (Nav) und Kalziumkanäle (Cav). Vor Kurzem wurden außerdem als weitere Gruppen spannungsgesteuerte Protonenkanäle (Hv) und spannungsgesteuerte Phosphatasen (VSP; voltage-sensor containing phosphatase) beschrieben (Abbildung 1A). Es ist bemerkenswert, dass allen bisher bekannten Proteinen mit ausgeprägter spannungsabhängiger Funktion ein weitreichend homologer Bauplan zugrunde liegt. So setzen sich Kv-Kanäle aus vier Kv-Protomeren zusammen, die aus jeweils sechs helikalen Membransegmenten (S1 bis S6) bestehen, die durch intra- und extrazelluläre Schleifen verbunden sind (Abbildung 1A). Die tetramere Anordnung der Segmente S5 und S6 (zusammen mit der kurzen P-Helix zwischen S5 und S6) ergibt die Membranpore, d.h. den eigentlichen Ionenkanal, einschließlich des Selektivitätsfilters und der Elemente zur Regelung der Kanalleitfähigkeit. Die Segmente S1 bis S4 bilden den eigentlichen Spannungssensor (VSD; voltage sensor domain), wobei in der 3-dimensionalen Struktur des Kv-Kanals die vier Spannungssensoren außerhalb der zentralen Membranpore am äußeren Rand des tetrameren Proteinkomplexes angeordnet sind. Eukaryotische Nav-Kanäle werden von einem einzigen Protein mit vier homologen Domänen (I bis IV) gebildet, die in ihrer sekundären Struktur jeweils den protomeren Einheiten der Kv-Kanäle entsprechen. Spannungsgesteuerte Phosphatasen bestehen wiederum aus einem

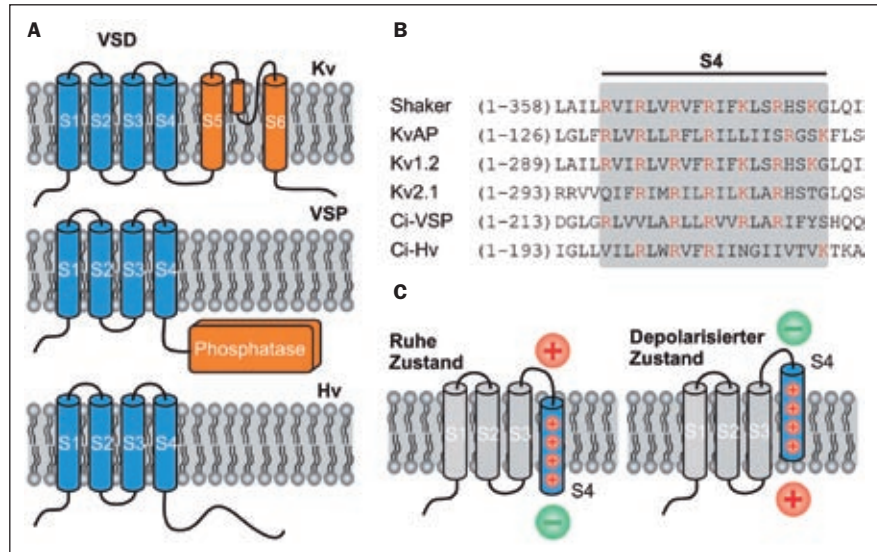
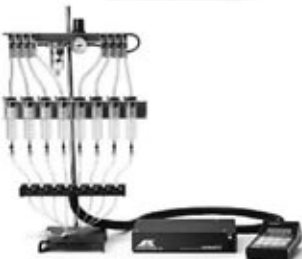


Abb. 1: Struktur und Funktion spannungsgesteuerter Membranproteine. (A) Schematische Sekundärstruktur aus transmembranen Segmenten (numeriert von S1 bis S6) des spannungsgesteuerten Kaliumkanals Kv1, der spannungsabhängigen Phosphatase VSP und des spannungsgesteuerten Protonenkanals Hv1 (von oben nach unten). Aus den Strukturelementen von S5 bis S6 (Porendomäne) in Kv1 wird durch Tetramerisierung mit anderen Kv1-Einheiten der eigentliche Ionenkanal gebildet. Die Struktur von S1 bis S4 ist der eigentliche Spannungssensor (VSD). In VSP steuert der Spannungssensor die Aktivität einer Phosphatase (Phosphoinositide 3-Kinase). In Hv1 ist der Protonen-Permeationsweg Teil des Spannungssensors. (B) Aminosäuresequenzen spannungsgesteuerter Proteine im Bereich des vierten transmembranen Segments (S4): Shaker Kaliumkanal (*Drosophila melanogaster*), KvAP, bakterieller Kaliumkanal (*Aeropyrum pernix*), Kv1.2, Kaliumkanal des Maus (*Mus musculus*), Kv2.1, Kaliumkanal (Maus), Ci-VSP, VSP der Schlauchseescheide (*Ciona intestinalis*) und Ci-Hv, der Hv-Protonenkanal der Schlauchseescheide. Polare Endgruppen Arginin (R) und Lysin (K) sind rot markiert. (C) Der Spannungssensor reagiert auf Änderungen des Membranpotenzials vom Ruhepotenzial zu positiven Potenzialen durch eine Auswärtsbewegung des S4-Segments. Die Richtung des elektrischen Felds (angedeutet durch intra- und extrazelluläre +/- Ladung) gibt sich aus der Verteilung ionischer Überschussladung an der Membrangrenzfläche.

SCIENCE PRODUCTS GmbH
for Research and Therapy



Amplifiers
Data Acquisition and Data Analysis Systems
Electrodes, Wires and Glasses
Micropipette Pullers, Microforges and Bevelers
Micromanipulators
Microinjection Systems, Perfusion Systems
Stereotaxic Instruments
Stimulators and Stimulus Isolators
Tables and Faraday Cages
Temperature Controllers ... and more!



SCIENCE PRODUCTS GmbH
Hofheimer Str. 63 · 65719 Hofheim
Tel.: 06192/ 901396 · Fax: 06192/901398
info@science-products.com · www.science-products.com



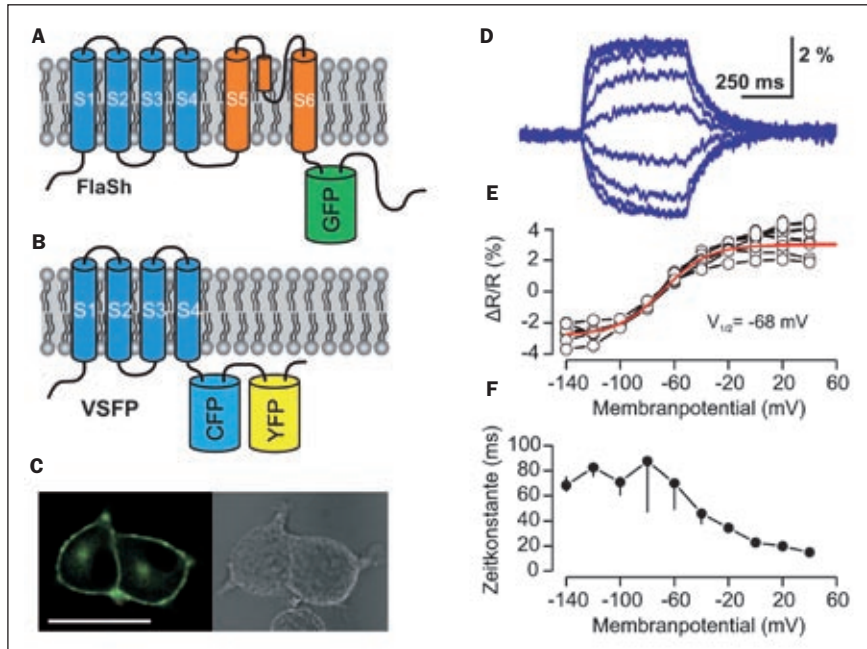


Abb. 2: Künstliche Proteine mit spannungsabhängiger Fluoreszenz. (A) FlaSh besteht aus dem Shaker Kv-Kanal mit einem fluoreszenten Protein (GFP), das in den C-Terminus des Kvs eingefügt ist. (B) VSFP1 besteht aus dem Spannungssensor des Kv2.1 Kaliumkanals (S1 bis S4) und einem Tandem aus blau (CFP) und gelb (YFP) fluoreszierenden Proteinen. In VSFP2 ist der Kv2.1 - Spannungssensor durch den Spannungssensor von Ci-VSP ersetzt, siehe Text. (C) Das Fluoreszenzbild (links) zeigt die Lokalisierung von VSFP2.1 in der Plasmamembran transformierter PC12-Zellen. Der Kalibrierungsstrich entspricht 30 µm. (D) Änderung des Verhältnisses von gelber (YFP) zu blauer (CFP) Fluoreszenz von VSFP2.1 bei pulsartiger Änderung der Membranspannung vom Haltepotenzial (-70 mV) zu Testpotenzialen zwischen -140 bis +40 mV in PC12-Zellen bei 35 °C. Das Testprotokoll besteht aus einem 500 ms langen Testpuls wobei das Testpotenzial zwischen Einzelmessungen jeweils um 20 mV inkrementiert ist. (E) Maximale Fluoreszenzantwort aus Messungen wie in (D) als Funktion des Testpotenzials. Die Messdaten einzelner Zellen (schwarze Symbole) lassen sich gut durch eine Boltzmann-Funktion approximieren (rote Kurve) mit einem Halb-Aktivierungspotenzial ($V_{1/2}$) von -68 mV. (F) Zeitkonstante der Fluoreszenzaktivierung von VSFP2.1 als Funktion des Testpotenzials. Daten aus (Dimitrov et al. 2007).

Spannungssensor (VSD mit Segment S1 bis S4) und einer intrazellulären Domäne mit Phosphatase-Aktivität, die an die Stelle der kanalbildenden Segmente S5 und S6 des Kv-Proteins tritt. Die Struktur- und Sequenzhomologien dieser spannungsgesteuerten Proteine legten den Schluss nahe, dass der Bereich S1 bis S4 eine eigenständige funktionale Einheit darstellt, die spannungsabhängige Aktivierungsvorgänge in nachfolgenden Effektor-domänen steuert. Funktionelle Untersuchungen an diesen Proteinen unterstützen diese Hypothese. Die strukturelle und funktionelle Eigenständigkeit der Spannungssensoreinheit dokumentiert sich weiterhin in der Existenz des Hv-Kanals, der aus einer, vermutlich dimeren, Anordnung protomerer, Kv-homologer Spannungssensoreinheiten ohne nachfolgende Effektor-domäne besteht (Abbildung 1A). Die Frage, auf welche Weise natürliche VSDs die Membranspannung

detektieren, wurde in den letzten 15 Jahren intensiv erforscht. Seit langem ist bekannt, dass die Aktivierung des Spannungssensors durch Membranpotenzialänderung einen kapazitiven ionischen Strom verursacht, der durch Bewegung positiver Partialladungen des Proteins senkrecht zur Membran erzeugt wird und als Sensorstrom (sensing current), in Ionenkanälen auch als Torstrom (gating current), bezeichnet wird. Gemessen wurde dieser Effekt erstmals von Clay Armstrong und Francisco Bezanilla Anfang der 70er Jahre im Zusammenhang mit der Aktivierung des Nav-Kanals im Tintenfischaxon. Nach der erfolgreichen Klonierung der Kv-Kanäle der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*) Ende der 80er Jahre waren es vor allem Untersuchungen an gezielt mutierten Kv-Proteinen, die helfen, die molekulare Identität der mobilen Ladungen in der VSD-Struktur aufzuklären. Danach geht der überwiegende

Anteil des Sensorstroms auf Bewegungen des S4-Segments zurück, welches eine Reihe polarer Aminosäuren enthält, die bei physiologischem pH überwiegend positiv geladen sind (Aggarwal und MacKinnon 1996). Abbildung 1B zeigt die Aminosäuresequenz im S4-Bereich verschiedener VSDs. Allen S4-Sequenzen gemeinsam ist eine Reihe positiv geladener Seitenketten (R und K) in jeder dritten Position mit lipophilen Seitenketten in den Zwischenpositionen. Bei der Aktivierung eines Kv-Kanals vom Ruhezustand (geschlossener Zustand; geringe K^+ -Permeabilität) in den maximal depolarisierten Zustand (geöffneter Zustand; hohe K^+ -Permeabilität) führt das S4-Segment eine Bewegung in Richtung des extrazellulären Halbraumes aus, wobei jede protomere Kv-Einheit effektiv etwa drei Elementarladungen (Kv1-Subtyp) über die Lipidbarriere von der zytosolischen zur extrazellulären Grenzfläche transportiert (Abbildung 1C). Die mikroskopischen Koordinaten dieser Bewegung und die zugrunde liegende Änderung der Protein/Lipid-Konfiguration sind noch nicht vollständig verstanden. Einige experimentelle Befunde deuten darauf hin, dass trotz der Größe der transportierten Ladung die effektive Distanz der S4-Bewegung im Vergleich zur nominalen Dicke der Plasmamembran klein ist. Einige dieser Beobachtungen sprechen ferner für einen Kontakt des S4-Segments mit Micro-Spalten hoher Ionenleitfähigkeit im Innern der Membran was lokal die effektive Dicke der Lipidbarriere reduzieren und die elektrische Feldstärke erhöhen würde. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Funktionsweise natürlicher Spannungssensoren auf einer spannungsabhängigen Konfigurationsänderung des Proteins beruht, welche durch die Kräfte getrieben wird, die das elektrische Membranfeld auf die positive Ladungen in den Seitenketten des S4-Segments ausübt. Das Design künstlicher spannungsabhängiger fluoreszierender Proteine macht sich genau dieses Wirkungsprinzip zunutze.

Künstliche Proteine mit spannungsabhängiger Fluoreszenz

Die Entdeckung des grün fluoreszierenden Proteins GFP (green fluorescent protein) der Kammqualle (*Aequorea victoria*) durch Osamu Shimomura (2008 Nobelpreis für Chemie) und die spätere Klonierung durch Douglas Prasher hat ein neues Zeitalter der Sichtbarmachung zellphysiologischer Prozesse in lebenden Organismen eingeleitet. Das erste Spannungssensorprotein mit einer GFP-Einheit wurde 1997 von Micah Siegel und Ehud Isacoff an der Universität von Kalifornien in Berkley beschrieben. Bei diesem,

Exkurs 2

Resonanter Energietransfer zwischen benachbarten Fluoreszenzmolekülen

FRET (fluorescence resonance energy transfer) ist ein photophysikalischer Prozess, durch den die elektronische Anregungsenergie eines fluoreszenten Donor-Moleküls resonant auf ein benachbartes Akzeptormolekül übertragen wird. Die Resonanz tritt auf, wenn die Energie des angeregten Akzeptorzustands mit der Energie des fluoreszenten Donorzustands hinreichend übereinstimmt. Da die Wahrscheinlichkeit für den Energietransfer sehr empfindlich vom Abstand der beiden Molekülzentren zwischen 1 und 10 nm abhängt, ermöglicht FRET die optische Messung molekularer Abstände in einem Bereich weit unterhalb der Lichtwellenlänge. Veränderungen des Donor-Akzeptor-Abstands werden dabei als Veränderung

der Lebensdauer oder Amplitude der Donor-Fluoreszenz, oder, falls der Akzeptor ebenfalls fluoresziert, auch als Veränderung des Verhältnis aus Donor- und Akzeptor-Fluoreszenz detektiert. Zu beachten ist, dass FRET auch stark von der relativen Orientierung des Donor/Akzeptor-Paares abhängt. In der Zellbiologie werden diese Eigenschaften von FRET vielfach zur in-situ Charakterisierung von Proteinkonformationen und Protein-Protein-Wechselwirkungen genutzt. Die quantenmechanische Grundlage des Energietransfers ist die elektrostatische Coulomb-Wechselwirkung zwischen den Ladungsverteilungen der angeregten elektronischen Zustände des Donor- und Akzeptormoleküls. Die theoretische Beschreibung wurde von Theodor Förster in den 40er Jahren entwickelt: Unter der Annahme, dass die Koppelung der Donor- und Akzeptor-Zustände durch Dipol-Dipol-Wechselwirkung erfolgt und klein gegenüber der thermischen Koppelung mit der Umgebung ist, ergibt sich für

die Rate des Energietransfers $k_F = (1/\tau_D) (R_F/R)^6$, mit τ_D der Lebensdauer des angeregten Donorzustands in Abwesenheit des Akzeptors, R der Abstand zwischen Donor und Akzeptor ($R > 1$ nm) und R_F der Förster-Radius, d.h. der Abstand, bei dem die Relaxation des Donors in den Grundzustand mit gleicher Wahrscheinlichkeit durch intermolekularen Energietransfer oder durch Emission eines Fluoreszenzphotons und interne Konversion erfolgt. Der Effizienz des intermolekularen Transfers der Anregungsenergie in Dipolnäherung nimmt daher mit der sechsten Potenz des intermolekularen Abstands R ab. Der Förster-Radius wiederum hängt ab vom spektralen Überlapp zwischen der Emission des Donors und Absorption des Akzeptors, sowie von der relativen Orientierung der beiden Übergangsdipole. Im Fall isotroper Ensemble-Verteilung der Dipole ergibt sich für CFP und YFP als Donor-/Akzeptor-Paar ein Förster-Radius von 4.7 nm.

World Precision Instruments

Laboratory Equipment for the Life Sciences



Precision Stereotaxic Instruments

WPI Single or Dual Manipulator Stereotaxic Instruments - also available: Digital Readout and UMP3 Microinjection Pump & many other accessories



Meet us at the Goettingen Neurobiology Conference!
Goettingen March 25-29, 2009
Booth 34

Now available

Get your free copy
of our new WPI
Catalogue 2009



find your tools at...
www.wpi-europe.com

T +49 30 6188845
F +49 30 6188670
E-mail wpide@wpi-europe.com



FlaSh (fluorescent shaker) genannten, Protein war GFP nahe der Porendomäne in den C-Terminus des Shaker Kv-Kanals (Kv1) eingefügt (Siegel und Isacoff 1997; Abbildung 2 A). Ein anderes Konzept wurde in dem Labor der Autoren am RIKEN Institut für Hirnforschung in Tokio verfolgt und führte zu der Entwicklung eines VSFP1 (voltage-sensitive fluorescent protein) genannten Proteins (Sakai et al. 2001). VSFP1 besteht aus der VSD-Einheit eines spannungsgesteuerten Kaliumkanals (Kv2.1) und einem Tandem aus einem blau fluoreszierenden Protein CFP (cyan fluorescent protein) und einem gelb fluoreszierenden Protein YFP (yellow fluorescent protein) als Fluoreszenz-Effektoreinheit (Abb. 2B). Die Eigenschaft des CFP/YFP Tandems, Konformationsübergänge des Spannungssensors in Fluoreszenzänderungen umzusetzen, basiert dabei auf einer resonanten Koppelung der CFP und YFP Fluoreszenz, die sehr empfindlich auf Veränderungen der relativen

Konfiguration der CFP and YFP-Einheiten reagiert (FRET: fluorescence resonant energy transfer; siehe Exkurs 2). Messungen an VSFP1 in einer kultivierten menschlichen Zelllinie (HEK-293; human embryonic kidney cells) bestätigten das Funktionsprinzip des VSFP1 Proteins, d.h. die Eigenschaft, als Funktion der Membranspannung seine CFP/YFP-Fluoreszenzemission zu ändern. Es stellte sich aber heraus, dass sowohl VSFP1 als auch FlaSh (und eine weitere, hier nicht näher beschriebene Variante, genannt SPARC) in transformierten neuronalen Primärkulturen in nur sehr geringer Dichte in die Plasmamembran integriert werden und sich stattdessen in innerzellulären Membranen u.a. des endoplasmatischen Retikulums anreichern. Von Kv-Proteinen ist bekannt, dass diese im Retikulum zurückgehalten werden, wenn sie nicht die korrekte Faltung oder Oligomerisierung aufweisen. Kv-Proteine enthalten dazu Signalsequenzen, die au-

ßerhalb des Retikulums einen retrograden Transport des Proteins auslösen und die durch korrekte Faltung und Oligomerisierung maskiert werden. Da sowohl VSFP1 als auch FlaSh Elemente des Kv-Kanals benutzen, war es naheliegend, anzunehmen, dass diese Proteine unmaskierte Rückhaltesignale enthielten. Zur Lösung des Rückhalteproblems suchten wir daher nach Möglichkeiten, die Kv-Elemente in VSFP1 teilweise oder ganz durch Elemente prokaryotische oder niedereukaryotischer Kvs zu ersetzen. Außerdem suchten wir nach alternativen VSDs aus natürlichen Proteinen, für die keine Notwendigkeit der Oligomerisierung besteht. Dabei half schließlich eine Entdeckung von Yasushi Okamura und Mitarbeitern am Okazaki Institut für integrative Biowissenschaft (Japan), die im Genom der Schlauchseescheide (*Ciona intestinalis*) eine Spannungssensordomäne in einem Gen fanden, das überraschenderweise nicht für einen Ionenkanal, sondern ein Phosphatase-Enzym codiert (Abbildung 1A). Es stellte sich heraus, dass die Phosphatase-Aktivität des Genprodukts (VSP; voltage sensor-containing phosphatase) in der Tat von der Membranspannung abhängt und dass das Protein in Zellmembranen auch als Monomer existieren kann. Als wir den VSP-Spannungssensor anstelle des Kv-VSDs in VSFP1 einfügten, erhielten wir ein Protein, das wir VSFP2 nannten und das eine sehr gute Lokalisierung in der Plasmamembran transformierter Nervenzellen zeigt (Abbildung 2C, Abbildung 3A). Das Rückhalteproblem war damit also gelöst. Für die gewünschte Funktion des Proteins waren allerdings noch eine Reihe weiterer Modifikationen erforderlich. Die wichtigste bestand darin, den Aktivierungsbereich des Spannungssensors an die Potenzialverhältnisse in erregbaren Säugetierzellen anzupassen. Während der VSP-Spannungssensor der Schlauchseescheide bei Membranpotenzialen größer als +50 mV aktiviert, liegt der Arbeitsbereich für die gewünschte Funktion des VSFP-Proteins in Säugetierneuronen im Bereich zwischen dem Ruhepotenzial dieser Zellen (~ -70 mV) und der Amplitude von Aktionspotenzialen (~ +10 mV). Da die Aktivierung des Spannungssensors maßgeblich von der detaillierten Ladungsverteilung im Bereich des S4-Segments bestimmt wird, untersuchten wir eine Reihe von Proteinvarianten mit ladungsverändernden Punktmutationen in S4. Dabei fanden wir eine Mutation (R217Q), die das Potenzial der Halbaktivierung des Sensors (d.h. des Zustandes, wo der Sensor mit gleicher Wahrscheinlichkeit im aktivierten und deaktivierten Zustand vorliegt)

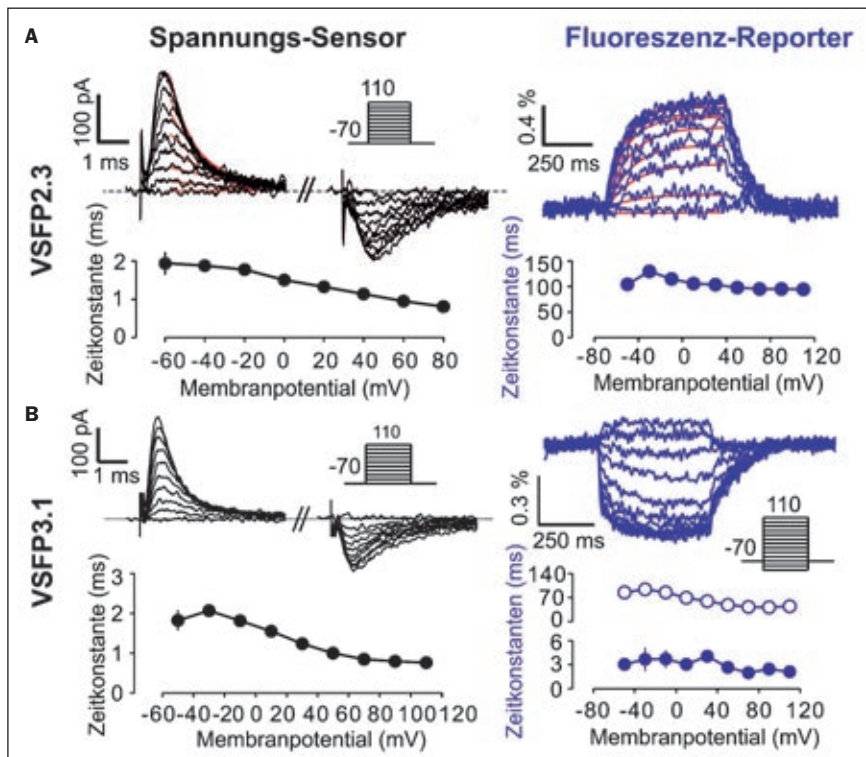


Abb. 3: Charakterisierung der Sensor- und Fluoreszenzaktivierung von VSFPs. Die Aktivierungskinetik von VSFP2.3 und VSFP3.1 wurde mit simultaner Messung des Sensorstroms und des Fluoreszenzsignals in PC12-Zellen als Antwort auf pulsiformige Testpotenziale unter Verwendung ähnlicher Protokolle wie in Abb. 2D bestimmt. Die Aktivierungszeitkonstanten ergeben sich aus der Approximation des gemessenen Sensorstroms (schwarz) und Fluoreszenz (blau) mit einfachen Exponentialfunktionen (rot). Die verwendeten Testprotokolle sind als Einsatz zu den Messkurven gezeigt. (A) Zeitkonstanten von VSFP2.3 als Funktion des Testpotenzials. (B) Während sich die Sensorkinetik von VSFP3.1 nicht wesentlich von VSFP2.3 unterscheidet, zeigt die Fluoreszenzantwort (CFP Fluoreszenz) von VSFP3.1 ein zweiphasiges Verhalten mit einer schnellen (geschlossene Symbole) und langsamen (offene Symbole) Zeitkonstante. Daten aus (Lundby et al. 2008).

von +80 mV nach -60 mV verschiebt. Ein weiterer wichtiger Schritt bestand darin, die Koppelung zwischen der VSD-Sensoreinheit und der CFP/YFP-Effektoreinheit zu verbessern. Dazu testeten wir eine Reihe von Proteinvarianten mit unterschiedlicher Länge des Peptidlinkers zwischen S4 und der Fluoreszenz-Effektoreinheit und identifizierten die optimale Linkerkonfiguration nach der Höhe der durch VSD-Aktivierung hervorgerufenen Fluoreszenzänderung. Das aus dieser Optimierung hervorgegangene Protein mit der Bezeichnung VSFP2.1 zeichnet sich durch eine spannungsabhängige Fluoreszenz mit einer Steigung von 8 % Fluoreszenzänderung (Verhältnis von YFP zu CFP-Emission) pro 100 mV Spannungsänderung in transformierten PC12-Zellen (eine Linie modifizierter Zellen neuronalen Ursprungs der Maus) aus (Dimitrov et al. 2007). Zur experimentellen Charakterisierung des Proteins wurden einzelne Zellen einer transformierten PC12-Zellkultur zur externen Kontrolle der Membranspannung mit einer ionenleitfähigen Elektrode innerviert (Voltage-Clamp der Gesamtzelle; „whole-cell“ Patch-Clamp-Konfiguration). Die kinetischen Eigenschaften der Proteinfluoreszenz ergeben sich aus den Messungen der Fluoreszenzantworten auf sprunghafte Änderungen des geklemmten Membranpotentials der Zelle (Abbildung 2D). Die gemessenen Fluoreszenzantworten folgen einem exponentiell asymptotischen Zeitverlauf, der sich durch eine oder mehrere Zeitkonstanten beschreiben lässt. Die auf diese Weise bestimmten dominierenden Zeitkonstanten der VSFP2.1-Aktivierung im physiologisch interessanten Potenzialbereich liegen zwischen 80 ms (-70 mV) und 20 ms (+10 mV; Abbildung 2D). Es stellt sich also heraus, dass die Fluoreszenz von VSFP2.1 zwar die gewünschte Potenzialempfindlichkeit besitzt, auf Potenzialänderungen aber relativ langsam reagiert. Dabei ist klar, dass die langsame Gleichgewichtseinstellung von VSFP2.1 für die Messung schneller elektrischer Potentiale in neuronalen Membranen von Nachteil ist. Es stellte sich daher die Frage, durch welche Strukturelemente die Kinetik des Proteins begrenzt wird und wie sich diese Begrenzung überwinden lässt.

Kinetik spannungsabhängiger Fluoreszenzproteine

VSFP-Proteine erlangen ihre Funktion durch Koppelung eines VSD-Spannungssensors mit einer fluoreszierenden Effektoreinheit, so dass sich Konformationsübergänge der VSD auf die optischen

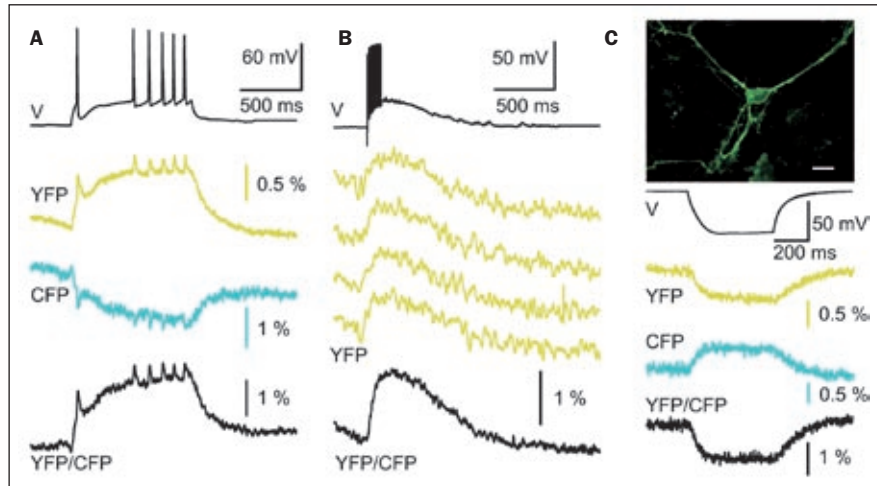


Abb. 4: Spannungsabhängige Fluoreszenzproteine eignen sich zum Auslesen neuronaler Signale. (A) Fluoreszenzantworten im gelben (YFP) und blauen (CFP) Spektralbereich, sowie dem Verhältnis aus beiden Signalen (YFP/CFP) von VSFP2.1, hervorgerufen durch Aktionspotenziale einer Maus-Mitralzelle (V-Transient, oberste Reihe) in spannungsgeklemmten PC12-Zellen (Dimitrov et al. 2007). Durch Mittelung über 50 Einzelmessungen wird ein Signal/Rauschverhältnis mit guter Auflösung einzelner Aktionspotenziale erreicht. (B) Simulation des elektrischen Antwortverhaltens einer Mitralzelle auf Stimulation des olfaktorischen Nervis, siehe (Dimitrov et al. 2007). Die gezeigten YFP-Signale entsprechen Einzelmessungen, die YFP/CFP-Antwort entspricht einer Mittelung über 90 Einzelmessungen von VSFP2.1. (C) Fluoreszenz einer akut mit VSFP2.1 transfizierten Pyramidalzelle in neuronaler Primärkultur (oberes Bild; Kalibrierungsstrich 100 μ m), zusammen mit den Fluoreszenzantworten auf Injektion eines hyperpolarisierenden Stroms (500 ms). Daten aus (Baker et al. 2008).

Eigenschaften der Fluoreszenzdomäne übertragen. Das dynamische Verhalten des VSD-Spannungssensors lässt sich direkt durch Messung des VSD-Sensorstroms unabhängig von der Fluoreszenzantwort des Proteins analysieren (Lundby et al. 2008). Parallel durchgeführte Messungen von Sensorstrom und Fluoreszenzemission von VSFP2.3 (einer verbesserten Version von VSFP2.1) in PC12-Zellen ergaben das bemerkenswerte Ergebnis, dass der VSFP2.3-Spannungssensor mit einer hundertfach schnelleren Zeitkonstante auf Veränderungen der Membranspannung reagiert als die Hauptkomponente der zugehörigen Fluoreszenzantwort (Abbildung 3A). Diese Messungen zeigen, dass die Bewegung der Sensorladung in VSFP2.3 sehr schnell erfolgt und dass die langsame Fluoreszenzantwort durch einen nachgeordneten Prozess bestimmt wird. Wir fragten uns also, wie ein Proteindesign aussehen könnte, das die Fluoreszenzantwort direkt an die schnelle S4-Bewegung ankoppelt. Diese Überlegungen führten uns zu einem Proteindesign, mit der Bezeichnung VSFP3.1, welches aus einem einzelnen CFP als Fluoreszenzeffektor besteht, der über einen verkürzten Linker aus drei Aminosäuren mit S4 verbunden ist (Lundby et al. 2008; Abbildung 3B). VSFP 3.1 zeigt eine

deutlich zweiphasige Fluoreszenzantwort mit einer dominanten schnellen Komponente, die direkt der schnellen Ladungsbewegung des VSD-Sensors folgt und einer zweiten, langsameren Komponente, die in ihrem Zeitverlauf der Hauptkomponente der Fluoreszenzantwort vom VSFP2.1 entspricht (Abbildung 3C). Die Fluoreszenzeigenschaften des VSFP3.1-Proteins belegen, dass es grundsätzlich möglich ist, die schnellen Ladungsbewegungen des Sensors in ein zeitnahes Fluoreszenzsignal umzusetzen, das geeignet ist, schnellen elektrischen Membranpotentialen zu folgen. Auf der anderen Seite weist das VSFP3.1-Protein eine vergleichsweise geringe Spannungsempfindlichkeit von 1.2 % Fluoreszenzänderung pro 100 mV Membranspannungsänderung auf. Dieser Wert wird von neueren Varianten mit einer gegenüber VSFP3.1 verbesserten Funktion des Fluoreszenzeffektors bereits deutlich übertroffen.

Um den Anwendungsbereich der verschiedenen VSFP-Proteine zur Messung neuronaler elektrischer Erregung abzuschätzen, untersuchten wir ihr Signalverhalten in kortikalen Pyramidalzellen mittels Computersimulation. Diese Untersuchungen ergaben, dass eine VSFP-Empfindlichkeit von 5 % pro 100 mV ausreicht,



um Aktionspotenziale in Zellkörpern einzelner Neurone mit einem Signal/Rauschverhältnis besser als zwei zu detektieren. Aktuelle Arbeiten zur Weiterentwicklung bestehender VSFP-Proteinvarianten zielen darauf ab, dies experimentell an intaktem Gewebe zu zeigen und die Spannungsempfindlichkeit der VSFP-Proteine weiter zu verbessern. Von großer Wichtigkeit in diesem Zusammenhang ist es, den Ursprung der Konfigurationsänderungen zu verstehen, die die Kinetik der Fluoreszenzantworten bestimmen, insbesondere den Ursprung der langsamen Komponente der Fluoreszenz. Francisco Bezanilla und Mitarbeiter an der Universität in Chicago haben dazu ein Drei-Zustands-Modell der S4-Aktivierung vorgeschlagen, welches aus einem schnellen Übergang der Ladungsbewegung in einen aktivierten Zwischenzustand und einer nachfolgenden langsameren Relaxation in den aktivierten Endzustand besteht, die ohne energetische Beiträge durch bewegte Sensorladung erfolgt. Einige experimentelle Ergebnisse deuten darauf hin, dass es sich dabei um eine Relaxation der S4-Helixstruktur handeln könnte (Villalba-Galea et al. 2008). Modifikationen, die die unrelaxierte Konfiguration des S4-Segments stabilisieren, erscheinen daher besonders interessant für die Entwicklung zukünftiger VSFP-Proteine mit verbesserten Signaleigenschaften.

Fazit und Perspektiven

Der bisherige Fortschritt bei der Entwicklung genetisch codierter Spannungssensoren wurde erreicht durch Tests an einer großen Zahl von VSFP-Konstrukten. Diesen Konstrukten lag ein weitgehend rationales Design zugrunde, welches durch Erkenntnisse zur Funktion natürlicher spannungsabhängiger Proteine motiviert war. Es kann davon ausgegangen werden, dass künftige Fortschritte bei der Aufklärung der molekularen Mechanismen in Ionenkanälen und anderen spannungsgesteuerten Proteinen die Entwicklung der VSFP-Proteine weiter vorantreiben wird. Als Test für die Funktion der hier beschriebenen Sensoren und deren Varianten konnte gezeigt werden, dass unter sozusagen 'idealen' Bedingungen, wie z.B. in neuronalen Zelllinien (Abbildung 4A) und neuronalen Primärkulturen (Abbildung 4B), sich elektrische Signale mit Einzelzellauflösung optisch auslesen lassen. Damit ist ein wichtiger erster Schritt auf dem Weg zum eigentlichen Ziel, der hochauflösenden Abbildung elektrischer Erregung in lokalen kortikalen Netzwerken des Gehirns, getan. Zur Erreichung dieses

Ziels bedarf es weiterer Verbesserungen der Funktion dieser Proteine, insbesondere ihrer Spannungsempfindlichkeit. Darüber hinaus wird die erfolgreiche Anwendung im Gehirngewebe von einer Reihe weiterer Elemente abhängen. Dazu gehören geeignete Methoden des Gentransfers, um eine hohe Expression in Membranen der gewünschten neuronalen Populationen zu erzeugen. Um elektrische Potenziale in Zellkörpern einzelner Neurone aufzulösen, wird das erforderliche Expressionsniveau unserer Erwartung nach bei einigen 100 Indikatorproteinen pro μm^2 Zellmembran liegen. Das erreichbare Signal/Rauschverhältnis wird außerdem von instrumentellen Parametern der optischen Messkonfiguration wesentlich mitbestimmt. Neue Entwicklungen der optischen Messtechnik, die zu einer Verbesserung der Signal/Rauschverhältnisse bei der Detektion des Fluoreszenzsignals beitragen, haben somit einen direkten Einfluss auf die Genauigkeit, mit der die Dynamik des neuronalen Netzwerkes aus potenziometrischen Daten rekonstituierbar ist. Die Entwicklung eines optischen Fensters zur direkten Visualisierung elektrischer Erregungsvorgänge in kortikalen Netzwerken mittels genetisch codierter Fluoreszenzindikatoren ist also nur erst angestoßen, verspricht aber, das Repertoire neurophysiologischer Techniken zur Erfassung der dynamischen Prozesse in lokalen kortikalen Netzwerken entscheidend zu erweitern.

Literatur

- Knöpfel, T., Díez-García, J. und Akemann, W. (2006): Optical probing of neuronal circuit dynamics: genetically encoded versus classical fluorescent sensors. *Trends Neurosci.* 29: 160-166.
- Göbel, W. und Helmchen, F. (2008): Optische Messung neuronaler Netzwerkdyamik in 3D. *Neuroforum* 14 (2): 184-189
- Dimitrov, D., He, Y., Mutoh, H., Baker, B.J., Cohen, L., Akemann, W. und Knöpfel, T. (2007): Engineering and characterization of an enhanced fluorescent protein voltage sensor. *PLoS ONE* 5 e440: 1-5
- Lundby, A., Mutoh, H., Dimitrov, D., Akemann, W. und Knöpfel, T. (2008): Engineering of a genetically encodable fluorescent voltage sensor exploiting fast ci-VSP voltage-sensing movements. *PLoS ONE* 3 (6) e2514: 1-5
- Sakai, R., Repunte-Canonigo, V., Raj, C.D. und Knöpfel, T. (2001): Design and Characterization of a DNA-encoded voltage-sensitive fluorescent protein. *Eur J Neurosci* 13: 2314-2318
- Siegel, M.S. und Isacoff, E.Y. (1997): A genetically encoded optical probe of membrane voltage. *Neuron* 19: 735-741
- Villalba-Galea, C.A., Sandtner, W., Starace, D.M. und Bezanilla, F. (2008): S4-based vol-

tage sensors have three major conformations. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 17600-17607

Eine vollständige Literaturliste kann bei den Autoren angefordert werden

Kurzbiographien

Walther Akemann: Promotion in Physik an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1993). Postdoktorand im Forschungszentrum Jülich (1994-96), im Labor für Organische Bauelemente der CEA in Saclay (1997-98) und im Labor für Molekulare Photophysik der CNRS in Orsay (1999). Seit 2000 wissenschaftlicher Mitarbeiter im Labor für Neuronale Schaltkreise (Prof. Thomas Knöpfel) des RIKEN Instituts für Hirnforschung in Tokio.

Thomas Knöpfel: 1978-1985 Parallelstudium der Humanmedizin und Physik. 1985 Physikediplom (Universität Ulm, Prof. P. Fromherz), medizinische Approbation und Promotion (Institut für Hirnforschung der Universität Zürich, Prof. W. Precht, Zürich). 1992 Habilitation im Fach Physiologie (Universität Zürich). 1992-1996 Team- und Projektleiter, Ciba, Basel. 1996-1998 Forschungsaufenthalte in London, Rom und Catania. Seit 1998 Leiter des Laboratory for Neuronal Circuit Dynamics am RIKEN Brain Science Institute in Japan. Gastprofessur an der Waseda Universität (Japan) und der Universität Newcastle upon Tyne (England).

Korrespondenzadresse

PD Dr. Thomas Knöpfel
 Laboratory for Neuronal Circuit Dynamics
 RIKEN Brain Science Institute
 2-1 Hirosawa, Wako-City
 Saitama 351-0198, Japan
 Tel.: +81 048 467 9740
 Fax: +81 048 467 9739
 E-Mail: tknopfel@brain.riken.jp

Epigenetik: Nadelöhr neuronaler Erkrankungen?

Andre Fischer

Zusammenfassung:

Die koordinierte Expression von Genen ist essentiell für die Entwicklung und das Überleben eines Organismus. Genexpression wird dabei nicht nur durch die Aktivität von Transkriptionsfaktoren, sondern vor allem auch durch epigenetische Veränderungen der Chromatin-Struktur reguliert. Die wichtigsten epigenetischen Mechanismen sind DNA-methylierung, Histon-acetylierung und Histon-methylierung. Solche epigenetischen Mechanismen sind vor allem entwicklungsbiologisch von Bedeutung und regulieren z.B. X-Chromosom-Inaktivierung oder Zelltyp-Determination. Die Erforschung epigenetischer Mechanismen hat in den letzten 15 Jahren deutlich zugenommen, u.a. da eine Deregulation von DNA-methylierung und Histon-modifikationen in Tumorzellen beobachtet wird. Inhibitoren von Histon-deacetylase (HDAC) werden seit kurzem zur Behandlung bestimmter Krebsformen angewendet. Mittlerweile ist auch in den Neurowissenschaften ein dynamisches Forschungsgebiet entstanden, welches sich mit epigenetischen Mechanismen im zentralen Nervensystem befasst. Insbesondere zeigen jüngste Daten, dass die molekulare Maschinerie, welche DNA-methylierung und Histon-modifikationen reguliert auch neuronale Plastizität beeinflusst. So konnte z.B. gezeigt werden, dass transiente Änderungen der Histon-acetylierung und DNA-methylierung für Lernprozesse wichtig sind. Gleichzeitig scheint eine Deregulation epigenetischer Prozesse in eine Reihe von neurodegenerativen und kognitiven Erkrankungen involviert zu sein. Es konnte z.B. beobachtet werden, dass HDAC Inhibitoren Lernverhalten in Wildtyp Mäusen verbessern und in Tiermodellen für Chorea Huntington, Rubinstein Taybi Syndrom, Friedreichs Ataxie oder Morbus Alzheimer neuroprotektiv und neuroregenerativ wirken. In diesem Artikel stelle ich die wichtigsten Daten dieses neuen Forschungsgebiets der Neuroepigenetik zusammen und befasse mich vor allem mit der Frage warum epigenetische Ansätze eine aussichtsreiche therapeutische Strategie für Hirnerkrankungen darstellen könnten.

Abstract

The orchestrated expression of genes is of universal importance for every organism. In addition to the role of transcription factors, the availability of genes for transcription is controlled by a series of proteins that regulate epigenetic chromatin remodeling. The two most studied epigenetic phenomena are DNA-methylation and Histone-tail modifications. The basic amino-terminal tails of histones carry diverse posttranslational modifications, for example acetylation, methylation and ubiquitination, which build up discrete patterns of chemical marks recognized and bound by other proteins. This idea is often referred to as "histone code". The acetylation of histones is regulated by histone-acetyl transferases (HAT) and Histone-deacetylases (HDAC), that transfer or remove acetyl-groups on specific lysine residues on Histone-tails, respectively. A large body of literature shows that deregulation of histone-acetylation and DNA methylation is implicated with cancer. Recently epigenetic mechanisms have also gained much attention in the neuroscientific community and a new field of research is emerging. There is now accumulating evidence that the molecular machinery that regulates histone-acetylation and DNA methylation is intimately involved in synaptic plasticity and essential for learning and memory. Importantly, dysfunction of epigenetic gene expression in the brain may be involved in neurodegenerative and psychiatric diseases. In particular, it was shown that HDAC inhibitors attenuate neuronal loss in animal models for Huntington's disease, or amyotrophic lateral sclerosis and also facilitate synaptic plasticity in wild type mice or in mouse models for Alzheimer's disease, even in an already degenerated brain. This data suggests that treatment targeted to epigenetic gene-expression can have multiple beneficial effects: Promotion of neuronal survival and the regeneration of the neuronal network after substantial brain atrophy has already occurred. In this article I will summarize recent data in the novel field of neuroepigenetics and discuss the question why epigenetic strategies may prove a beneficial therapeutic approach for the treatment of various brain diseases.

Keywords: epigenetics, Alzheimer's disease, neurodegenerative diseases, histone deacetylase inhibitors, neuroprotection, neuroregeneration.
Neuroforum 1/09

Epigenetik

Prinzipiell ist das Genom in jeder somatischen Zelle unseres Körpers gleich, d.h. jede Zelle kodiert in der Basenabfolge der Desoxyribonukleinsäure die gleichen Gene. Bei Menschen sind das nach jüngsten Schätzungen ca. 30000 Gene und eine Leberzelle verfügt dabei über die gleichen Gene wie eine Nervenzelle. Allerdings unterscheiden sich Leber und Nervenzelle deutlich, was u.a. darauf zurückzuführen ist, dass nicht alle kodierten Gene tatsächlich abgelesen (exprimiert) werden. Gene können demnach aktiv oder inaktiv sein und bestimmen so maßgeblich den Phänotyp einer Zelle. Es ist daher nicht erstaunlich, dass es strenge Kontrollmechanismen gibt, welche darüber entscheiden, wann, wo und wie stark ein Gen exprimiert wird.

Beim Menschen ist die DNA in 23 Chromosomenpaaren organisiert und besteht aus ca. 3×10^9 Basenpaaren. Insgesamt ist die DNA in jeder Zelle unseres Körpers also ca. 2 m lang und um die gesamte DNA im Zellkern unterzubringen, liegt diese als Chromatin vor. Als Chromatin bezeichnet man den Komplex aus Desoxyribonukleinsäure und daran gebundenen Proteinen. Prinzipiell kann man sich die Chromosomenpaare als eine Art Bibliothek vorstellen, in der es eine Reihe von Büchern gibt, welche die Entwicklung und Funktion eines Organismus bestimmen. Die dreidimensionale Struktur des Chromatins hat dabei wesentlich Einfluss auf die Aktivität von Genen und bestimmt, wann Gene exprimiert werden. Stark kondensierte DNA nennt man Heterochromatin, welches mit reduzierter Genexpression assoziiert ist. Weniger kondensierte DNA nennt man Euchromatin. In dieser Form können Gene abgelesen werden.

Tatsächlich ist Chromatin also extrem plastisch. Die Mechanismen, welche die Chromatinplastizität beeinflussen bezeichnet man mit dem Begriff Epigenetik. Der Begriff Epigenetik wird auf Conrad H. Waddington zurückgeführt. Waddington verwendete die griechische Vorsilbe „Epi“ (hinterher, zusätzlich), um das Zusammenspiel aller genetischen Prozesse zu beschreiben, die zum Phänotyp einer Zelle oder eines Organismus beitragen. Damit sollte zum Ausdruck gebracht werden, dass der Phänotyp einer Zelle nicht allein durch die Basenabfolge der DNA, sondern durch zusätzliche genetische Prozesse kodiert wird. Seit dem hat der Begriff Epigenetik selbst eine Reihe von Umdeutungen erfahren und wird verwendet, um Änderungen der Genexpression zu beschreiben, die nicht



auf einer Änderung der DNA-Basenabfolge beruhen und an die nächste Generation vererbt werden können. Insbesondere für entwicklungsbiologische Fragestellungen hat sich diese Definition bewährt. Durch den zunehmenden Stellenwert epigenetischer Forschung und Chromatinplastizität in anderen Fachgebieten wie der Neurobiologie wird „Epigenetik“ heute allerdings häufig verwendet, um die Mechanismen zu beschreiben, die Chromatinplastizität regulieren, wobei die Vererbbarkeit nicht zwingend ist.

Chromatinplastizität wird vor allem durch Histonproteine vermittelt. Zusammen mit der DNA bilden Sie die Nucleosomen. Ein Nucleosom ist ein Komplex aus jeweils zwei der vier kanonischen Histone (H2A, H2B, H3 und H4), um welche sich 147 bp DNA winden. Zusätzlich gibt es noch Histon 1, welches als sogenannter „Linker“ funktioniert und die Assemblierung von Nucleosomen zu kompakteren Strukturen reguliert (Abbildung 1a). Histone sind hoch konservierte, basische Proteine, die aus einer globulären und einer flexiblen N-terminalen Domäne bestehen. Die flexible N-terminale Domäne der Histone (H), insbesondere die von H3 und H4, können posttranslational modifiziert werden. Die häufigste Modifizierung von Histonen ist Lysin (K)-Acetylierung oder Methylierung aber auch Phosphorylierung, Ubiquitinie-

rung, Sumoylierung, ADP-Ribosylierung und Biotinylierung sind beschrieben worden (Abbildung 1a). Bestimmte Modifizierungen korrelieren dabei mit aktiven Genexpressionen, wie z.B. Acetylierung an H3K9,14 oder H4K5,8,12,16 - wohingegen andere Modifikationen wie z.B. H3K27 Methylierung inhibitorisch wirken (Tabelle 1). Zusätzlich gibt es zumindest für H3 und H2A verschiedene Proteinvarianten, wodurch sich die Komplexität der Regulationsmöglichkeiten noch erhöht. Manche Modifikationen sind transient, wohingegen andere eher permanent sind und vererbt werden können. Histonmodifikation wird durch die entgegengesetzte Aktivität von Proteinen reguliert, welche Modifikationen anfügen oder abspalten. Histoneacetylierung wird z.B. durch Histoneacetyltransferasen (HAT) katalysiert, wohingegen Histoneacetylasen (HDAC) Acetylgruppen abspalten. Ähnlich regulieren Histone-methylasen und Histonedemethylasen die Methylierung von Histonen.

Neben der Modifizierung von Histonen ist die DNA-Methylierung ein weiterer wichtiger epigenetischer Mechanismus, um Chromatinplastizität und Genexpression zu regulieren. Dabei wird eine Methylgruppe an Cytosine innerhalb der DNA angefügt. Diese geschieht häufig an CpG-Sequenzen (engl. CpG islands), die im Genom insbesondere in nicht-codierenden Bereichen

zu finden sind. DNA-Methylierung wird durch DNA-Methyltransferasen (DNMT) reguliert und führt in der Regel zu einer Repression der Genexpression. So spielt DNA-Methylierung z.B. bei der Inaktivierung des X-Chromosoms eine wichtige Rolle. Jüngste Arbeiten zeigen jedoch, dass auch DNA-Methylierung reversibel und vor allem in Neuronen sehr dynamisch sein kann (Miller und Sweatt 2007). Zudem gibt es Hinweise, dass DNMTs nicht nur DNA-Methylierung regulieren, sondern auch an der De-Methylierung beteiligt sein können. Die Methylierung von DNA ist offenbar eng an Histonmodifikationen gekoppelt und H3K9-Methylierung ist z.B. ein wichtiger Marker, um DNMTs zu rekrutieren. Methylierte DNA wird wiederum von bestimmten Bindeproteinen erkannt (MDB; methylierte DNA-Bindeproteine), welche eine Repression des entsprechenden DNA-Abschnitts vermitteln.

Mittlerweile ist klar, dass bestimmte epigenetische Modifikationen eher transient sind und es erlauben, Genexpression in unmittelbarer Antwort auf Umweltreize zu modulieren, wohingegen andere Änderungen wie Histone-methylierungen und DNA-Methylierungen auch vererbt werden können.

Epigenetische Veränderungen des Chromatins können daher als Signaturen verstanden werden, die bestimmte Bereiche des Genoms markieren und Gene an- oder abschalten. Jede Zelle verfügt daher neben dem Genom auch über ein Epigenom. Da bestimmte Chromatinveränderungen offenbar mit definierten Genexpressionsmustern korrelieren, haben Strahl und Allis das Prinzip eines „Epigenetischen Codes“ vorgeschlagen.

Epigenetische Mechanismen im zentralen Nervensystem

Nervenzellen zählen zu den komplexesten Zellen unseres Körpers. Sie zeichnen sich durch extreme Plastizität aus und sind verantwortlich für Lernen und Gedächtnisprozesse. Im Gegensatz zu den meisten anderen Zellen sind Neurone post-mitotisch, d.h. nach abgeschlossener Entwicklung des Nervensystems teilen sie sich nicht mehr. Ausnahmen bilden neuronale Stammzellen in der subventrikulären Zone und dem Gyrus dentatus des Hippokampus, die auch im adulten Organismus (inklusive Nager und Mensch) das gesamte Leben lang neue Nervenzellen produzieren und offenbar für bestimmte kognitive Eigenschaften und Erkrankungen verantwortlich sind. Jüngste Arbeiten deuten darauf hin, dass

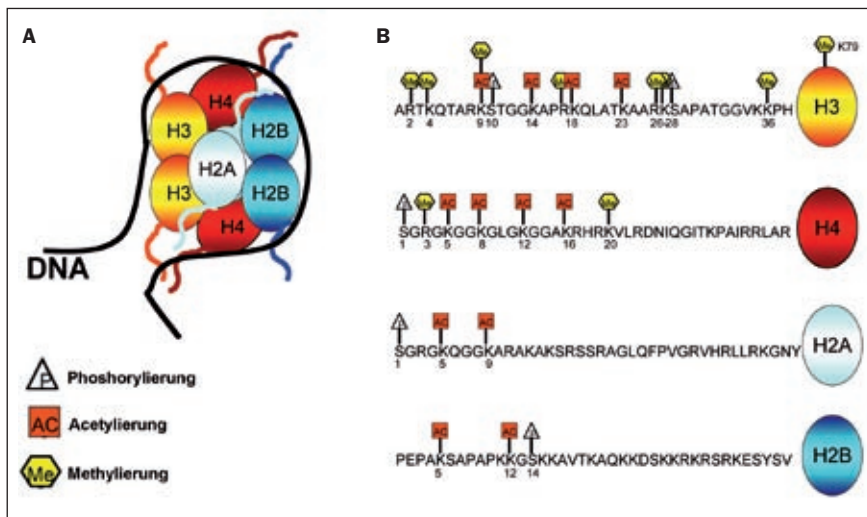


Abb. 1: Regulierung der Chromatinstruktur durch Histonproteine. (A) Chromatin besteht aus DNA und daran gebundenen Proteinen, wobei es sich hierbei hauptsächlich um Histonproteine (H) handelt. Jeweils 147 bp DNA winden sich um einen Komplex aus jeweils zwei H2A, H2B, H3 und H4 - Proteinen und bilden das Nucleosom. (B) Die basischen N-terminalen Bereiche der Histone sind zahlreichen posttranslationalen Modifikationen unterworfen. Hierbei handelt es sich insbesondere um Lysinacetylierungen, Lysin- oder Argininmethylierungen sowie Serinphosphorylierungen. Diese Modifikationen beeinflussen die Interaktion des Histonkomplexes mit der DNA oder rekrutieren weitere Proteine und regulieren so Genexpression.

epigenetische Mechanismen auch in postmitotischen Neuronen eine wichtige Funktion haben und maßgeblich an der Regulation von kognitiven Prozessen beteiligt sind.

Nachkommen fürsorglicher Eltern haben weniger Stress. Die Arbeiten von Michael Meaney und Kollegen zeigen z.B., dass epigenetische Mechanismen elterliche Fürsorge regulieren und „gutes“ mütterliches Verhalten mittels Epigenetik auf Nachkommen übertragen werden kann. Sowohl für Nagetiere als auch für den Menschen ist belegt, dass die frühe elterliche Fürsorge einen signifikanten Einfluss auf die spätere Gesundheit der Nachkommen hat, insbesondere auf Verhaltensweisen wie Stress oder Angst. Im Experiment wurden Rattenmütter dazu gebracht, sich besonders intensiv um ihre Nachkommen zu kümmern. Der Nachwuchs zeigte daraufhin eine erhöhte Expression von hippocampalen Glucocorticoid-Rezeptoren (GR), welche essenziell für die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinde (HHN)-Achse, d.h. für die zentrale Stressantwort sind. Auf molekularer Ebene konnte gezeigt werden, dass „gute“ mütterliche Fürsorge den Serotoningehalt im Hippokampus erhöht, was zu einer vermehrten Bildung des Transkriptionsfaktors Egr-1 führt. Egr-1 wiederum bindet an den hirnspezifischen GR17-Promotor des GR-Gens und sorgt so für den erhöhten Gehalt an hippocampalen GR. Allerdings ist dieser Mechanismus nur für kurze Zeit für den erhöhten GR-Gehalt verantwortlich. Vielmehr wurde in „guten“ Rattenmüttern eine verstärkte H3-Acetylierung und reduzierte DNA-Methylierung des GR17-Promotors beobachtet. Dieses korreliert mit einer verstärkten Rekrutierung von Egr-1 zum GR17-Promotor in den Nachkommen von „guten“ Rattenmüttern. Obwohl sich in den Nachkommen später der Gehalt an Egr-1 also nicht mehr wesentlich unterscheidet, führen epigenetische Veränderungen dazu, dass der Egr-1 in Nachkommen von „guten Müttern“ sehr viel effektiver die Expression von GR induzieren kann und somit eine bessere Stressantwort vermittelt (Weaver et al. 2004) (Abbildung 2).

Epigenetik reguliert Lernen und Gedächtnis. Kürzlich publizierte Arbeiten an Nagern deuten darauf hin, dass epigenetische Mechanismen auch wesentlich zur Gedächtniskonsolidierung beitragen. Lernen und Gedächtnisprozesse können in Ratten und Mäusen durch eine Reihe von etablierten Verhaltenstests, wie z.B. den Wasser-Labyrinth-Test, den Objekt-Erkennungstest oder die Pavlovsche Furchtkonditionierung untersucht werden.

Tab. 1: Die häufigsten Histonmodifikationen und der Effekt auf Genexpression.

Epigenetische Modifikation	Effekt auf Genexpression	Modifiziertes Histon (Aminosäure)
Acetylierung	Aktivierend	H3 (K9,14,18,56) H4 (K5, 8,12,16) H2A (K4, 9) H2B (K5, 12)
Methylierung	Aktivierend	H3 (K4, 36,79)
Methylierung	Inhibierend	H3 (K9, 27) H4 (K20)
Phosphorylierung	Aktivierend	H3 (S10)

Die Gedächtniskonsolidierung in diesen Tests erfordert u.a. Genexpression und *de novo* Proteinsynthese im Hippokampus, einer Hirnregion des limbischen Systems, welche auch beim Menschen essentiell für Lernprozesse ist. Insbesondere die Furchtkonditionierung hat entscheidend zum heutigen Verständnis der molekularen Mechanismen der Gedächtniskonsolidierung beigetragen, da Lernprozesse hierbei in einem Top-Down-Ansatz untersucht werden können. Dieses ist möglich, da Tiere bereits nach einem einmaligen Training 24 h später messbare Gedächtnisfunktionen zeigen. Außerdem haben zahlreiche Ar-

beiten definierte Zeitfenster beschrieben, in denen molekulare Prozesse nach dem Training ablaufen. So ist Genexpression z.B. in den ersten 3 h nach dem Training essenziell für die Gedächtniskonsolidierung. Mittels dieses Ansatzes konnte das Labor von David Sweatt zeigen, dass 1 h nach Furchtkonditionierung DNMT3a und DNMT3b im Hippokampus aufreguliert sind. Gleichzeitig führt die intrahippokampale Infusion von 5-aza oder Zebularine, beides Inhibitoren von DNA-Methylierung, zu einer deutlich verschlechterten Gedächtniskonsolidierung und reguliert Gene wie Proteinphosphatase I oder Reelin. Diese

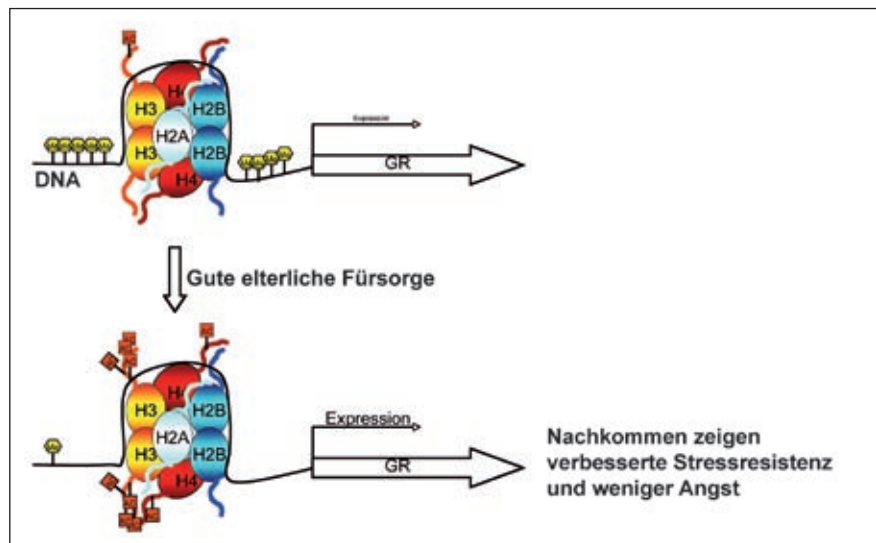


Abb. 2: Epigenetisch erworbene Stressresistenz

In Nagern konnte gezeigt werden, dass Mütter die sich besonders gut um ihren Nachwuchs kümmern eine lebenslang anhaltende verbesserte Stressresistenz und reduzierte Angst auf die Nachkommen übertragen. Hierbei führt gutes mütterliches Verhalten in den Nachkommen zu epigenetischen Veränderungen an dem Promotor, welcher für die Expression des Glucocorticoid-Rezeptors (GR) im Hippokampus zuständig ist. Besondere mütterliche Fürsorge reduziert die DNA-Methylierung und erhöht gleichzeitig die Histonaacetylierung in dem entsprechenden DNA-Abschnitt. Hierdurch können Transkriptionsfaktoren wie Egr-1 die Expression von GR lebenslang sehr viel effektiver induzieren.



Arbeiten deuten darauf hin, dass DNA-Methylierung wichtig für Lernprozesse ist. Tatsächlich konnten nachfolgende Studien zeigen, dass ein einmaliges Training in der Furchtkonditionierung transiente und selektive Veränderungen der DNA-Methylierung im BDNF-Promotor induziert. Obwohl diese Untersuchungen viele Fragen offen lassen, ist es faszinierend, dass Lernprozesse in dynamischer Art und Weise epigenetische Prozesse wie DNA-Methylierung regulieren.

Ähnliches konnte auch für Histonacetylierung beobachtet werden. Es wurde gezeigt, dass Ratten 1 h nach Furchtkonditionierung eine transient erhöhte H3-Acetylierung im Hippokampus aufweisen. Diese Befunde konnten mittlerweile in Mäusen und auch in anderen Gedächtnistests, wie der Objekterkennung reproduziert werden. Die transient erhöhte H3-Acetylierung beruht auf der Aktivierung von synaptischen NMDA-Rezeptoren und der Aktivität des MAPK-Signalweges. In Einklang mit diesen Ergebnissen konnte gezeigt werden, dass genetische Mausmodelle mit veränderter HAT-Aktivität Lerndefizite aufweisen. So führt z.B. eine verminderte Aktivität des CREB (cAMP response element binding factor) Bindeprotein (CBP) zu reduzierter hippocampaler Histonacetylierung und deutlichen Defiziten in der Furchtkonditionierung, dem Wasser-Labyrinth-Test und im Objekt-Erkennungstest. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass diese Lerndefizite durch eine Erhöhung der Histonacetylierung ausgeglichen werden konnten. Die Histonacetylierung wurde dabei durch die Verabreichung von HDAC-Inhibitoren erreicht. Erstaunlicherweise führte die Gabe von HDAC-Inhibitoren im Vergleich zur placebobehandelten Gruppe auch in Wildtyp-Mäusen und Ratten zu einer deutlich verbesserten Gedächtniskonsolidierung (siehe z.B. Fischer et al. 2007). Kürzlich publizierte Arbeiten deuten darauf hin, dass neben CBP auch andere HATs wie P300 und PCAF wichtig für kognitive Prozesse sind.

Zusammenfassend zeigen diese Arbeiten, dass Histonacetylierung ein wichtiger Mechanismus der Gedächtniskonsolidierung ist und HDAC-Inhibitoren potenzielle Therapeutika für kognitive Erkrankungen sein könnten. Dieses Forschungsgebiet ist allerdings noch am Anfang und für das Gehirn ist bisher nicht einmal eindeutig geklärt, in welchen Gebieten und neuronalen Zelltypen die epigenetische Maschinerie exprimiert wird. Es gibt z.B. 11 HDAC-Proteine, die aufgrund von Homologien in drei Klassen eingeteilt werden.

Die Klasse I-HDACs (HDAC1, 2, 3 und 8) sind hauptsächlich im Zellkern lokalisiert, wohingegen die Klassen II-HDACs (HDAC 5, 6, 7, 9, 10) durch zusätzliche regulatorische Domänen deutlich größer sind und sowohl im Zytoplasma als auch im Zellkern zu finden sind. HDAC 11 ist bisher der einzige Vertreter der Klasse IV-HDACs. Klasse I, II und IV-HDACs benötigen Zink als Co-Faktor. Daneben gibt es noch sieben, als Sirtuine bezeichneten Klasse III-HDACs, die NAD als Co-Faktor brauchen. In den meisten Untersuchungen wurden pan-HDAC-Inhibitoren verwendet, die eher unselektiv alle elf HDAC-Proteine hemmen. Die Aufklärung der Funktion von spezifischen HATs und HDACs während neuronaler Plastizität ist daher Gegenstand aktueller Forschung und wird neue Einblicke in die Mechanismen der Gedächtniskonsolidierung ermöglichen.

Epigenetik als therapeutische Strategie für neuronale Erkrankungen

Neurodegenerative Erkrankungen. Die Deregulation epigenetischer Prozesse spielt bei der Entstehung von Krebs eine wichtige Rolle. Durch intensive Grundlagenforschung in diesem Bereich sind bereits einige epigenetische Substanzen bis zur klinischen Anwendung gelangt, so wird z.B. der HDAC-Inhibitor SAHA für cutanen T-Zelllymphome verschrieben und ist für andere Krebsarten wie z.B. Darmkrebs bereits in Phase III-Studien. Auch Inhibitoren von DNA-Methylierung wie 5-aza sind bereits in klinischer Anwendung. Vor diesem Hintergrund ist es spannend, dass eine Reihe von Daten darauf hinweisen, dass epigenetische Mechanismen auch zur Pathogenese von neuronalen Erkrankungen beitragen und entsprechenden Substanzen wie z.B. HDAC-Inhibitoren Lernen verbessern.

Im Folgenden werde ich eine Reihe solcher Erkrankungen besprechen, die offenbar mit einer Deregulation epigenetischer Prozesse assoziiert sind und in denen epigenetische Ansätze wie die Verabreichung von HDAC-Inhibitoren eine aussichtsreiche therapeutische Strategie darstellen.

Rubinstein-Taybi-Syndrom (RTS) ist eine autosomal dominant vererbte Erkrankung, die zur mentalen Retardierung führt und mit einer Häufigkeit von 1 in 125000 Geburten auftritt. Die hauptsächliche Ursache für RTS ist in verschiedenen Mutationen des CBP-Proteins zu sehen, die jeweils in einer reduzierten HAT-Aktivität und verminderten Histonacetylierung resultieren. Die Deletion des CBP-Gens

in Mäusen führt zum pränatalen Tod. Heterozygote CBP +/- Tiere sind dagegen lebensfähig, weisen aber eine Reihe von charakteristischen Merkmalen für RTS auf, so z.B. verschlechterte kognitive Eigenschaften. Interessanterweise konnte durch die Verabreichung von SAHA Defizite in der Histonacetylierung ausgeglichen und synaptische Plastizität und Lernvermögen in CBP +/-Mäusen wieder hergestellt werden. Epigenetische Ansätze, insbesondere HDAC-Inhibitoren sind daher aussichtsreiche Strategien zur Behandlung von RTS.

Das Rett-Syndrom beruht auf einer dominant vererbten Mutation des X-Chromosoms und führt, ähnlich dem RTS, zur mentalen Retardierung. Mit einer Prävalenz von 1:15000 ist das Rett-Syndrom die zweithäufigste Ursache für mentale Retardierung bei Frauen zwischen 2-18 Jahren. Die Ursache des Rett-Syndroms ist eine Mutation des Methyl-CpG-Bindeproteins (MeCP2), welches DNA-Methylierung, Genexpression und synaptische Plastizität reguliert. Rett-Patienten zeigen u.a. kognitive Defizite und neuere Arbeiten weisen darauf hin, dass diese und andere Symptome reversibel und nicht ausschließlich auf Entwicklungsdefizite zurückzuführen sind. Der Befund, dass HDAC-Inhibitoren durch veränderte DNA-Methylierung ausgelöste Lerndefizite in Mäusen ausgleichen können, gibt Hoffnung, dass solche oder ähnliche Substanzen auch bei Rett-Patienten helfen könnten.

Chorea Huntington ist eine autosomal dominant vererbte neurodegenerative Erkrankung mit einer Prävalenz von 5:100000. Auffälligste Symptome sind Bewegungsstörungen und kognitive Defizite. Als Ursache sind Mutationen des Huntingtin-Proteins anzusehen, indem sich bei Patienten die Basentriplett-Sequenz CAG abnormal oft wiederholt (36-250 x). Die genaue Wirkungsweise von mutiertem Huntingtin ist nicht eindeutig geklärt, aber es führt u.a. zu einer Deregulation der neuronalen Genexpression, was vor allem auf Inhibition von CBP-Aktivität zurückzuführen ist. Diese Befunde lassen auf eine verminderte Histonacetylierung schließen. Tatsächlich konnten mehrere Studien in Mausmodellen zeigen, dass die Behandlung mit HDAC-Inhibitoren einen deutlich positiven Effekt auf die Pathogenese hat und sowohl der Neurodegeneration entgegenwirkt, als auch kognitive Beeinträchtigungen und Bewegungsstörungen verbessert.

Die Friedreichs-Ataxie (FA) ist eine autosomal rezessive vererbte neurodegenerative

Erkrankung, die mit einer Inzidenz von 1:50000 Geburten auftritt und sich meist ab dem 25. Lebensjahr manifestiert. FA beruht auf Mutationen des FRDA-Gens, welches das mitochondriale Frataxin-Protein codiert. Dabei treten in einem Intron des FRDA-Gens abnormal viele GAA-Triplets auf, welche letztlich zu einer deutlich verminderten Expression des FRDA-Gens führen. Zusätzlich weist das FRDA-Gen in Patienten eine stark verminderte H3/H4-Acetylierung und H3K9-Trimethylierung auf, sodass die damit einhergehende Heterochromatinstruktur die Genexpression zusätzlich verhindert. Herman et al. konnten zeigen, dass im FA-Modell die Verabreichung von HDAC-Inhibitoren die Histonacetylierung des FRDA-Locus erhöht und FRDA-Expression normalisieren konnte. Allerdings hatten herkömmliche pan-HDAC-Inhibitoren wie SAHA oder TSA keinen Effekt, wohingegen neue HDAC-Inhibitoren wie die Substanz 4b die FRDA-Histonacetylierung und Genexpression erhöhten.

Die Spinale Muskelatrophie (SMA) ist eine degenerative Erkrankung der Motoneuronen, bei denen die Expression des survival motor neuron 1 (SMN1) und SMN2-Gens reduziert sind. Dabei bestimmt insbesondere der Gehalt an SMN2 den Grad der Pathogenese. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass in SMA-Patienten der Promotor des SMN2-Gens hypermethyliert ist und vermutlich über MeCP2-Bindung die Genexpression reprimiert. HDAC-Inhibitoren können, wie bereits erwähnt, dazu beitragen, DNA-Methylierung vermittelte Genrepression aufzuheben und tatsächlich konnte gezeigt werden, dass die HDAC-Inhibitoren SAHA und Romidepsin die Expression von SMN2 erhöhen, wohingegen Phenylbutyrate und Valproat keinen Effekt zeigten. In einer ähnlichen Studie konnte gezeigt werden, dass der HDAC-Inhibitor TSA ebenfalls die SMN2-Expression erhöhen kann.

Zusammenfassend zeigen diese Arbeiten das therapeutische Potenzial von epigenetischen Substanzen wie HDAC-Inhibitoren, machen aber auch deutlich, dass pan-Inhibitoren nur bedingt funktionieren und weitere Forschung notwendig ist, um spezifischere Substanzen zu entwickeln. Tatsache ist, dass viele neuronale Erkrankungen letztlich mit veränderter Genexpression einhergehen. Es wird wichtig sein, die genaue Ursache dieser Deregulation zu bestimmen und eine epigenetische Signatur der Pathogenese zu erstellen. Gemeinsam mit einem besseren Verständnis der Wirkungsweisen von DNMT, HAT und HDACs können so die am besten geeigneten therapeutischen

Ziele bestimmt werden. Insbesondere für sporadische neuronale Erkrankungen ist dieses von größter Bedeutung.

Die häufigste demenzielle neurodegenerative Erkrankung ist Morbus Alzheimer (MA), an der in Deutschland ca. 2 Mio. Menschen leiden. Hohes Alter ist der wichtigste Risikofaktor für MA, und da die Zahl

der Europäer über 65 Jahre sich bis zum Jahr 2025 verdoppeln wird, stellt MA eine der größten Herausforderungen für das Gesundheitssystem dar. Trotz intensiver Forschung ist es bisher nicht gelungen, wirksame Therapien gegen MA zu finden. Die wichtigsten pathologischen Symptome sind der Verlust von Nervenzellen und bestimmte

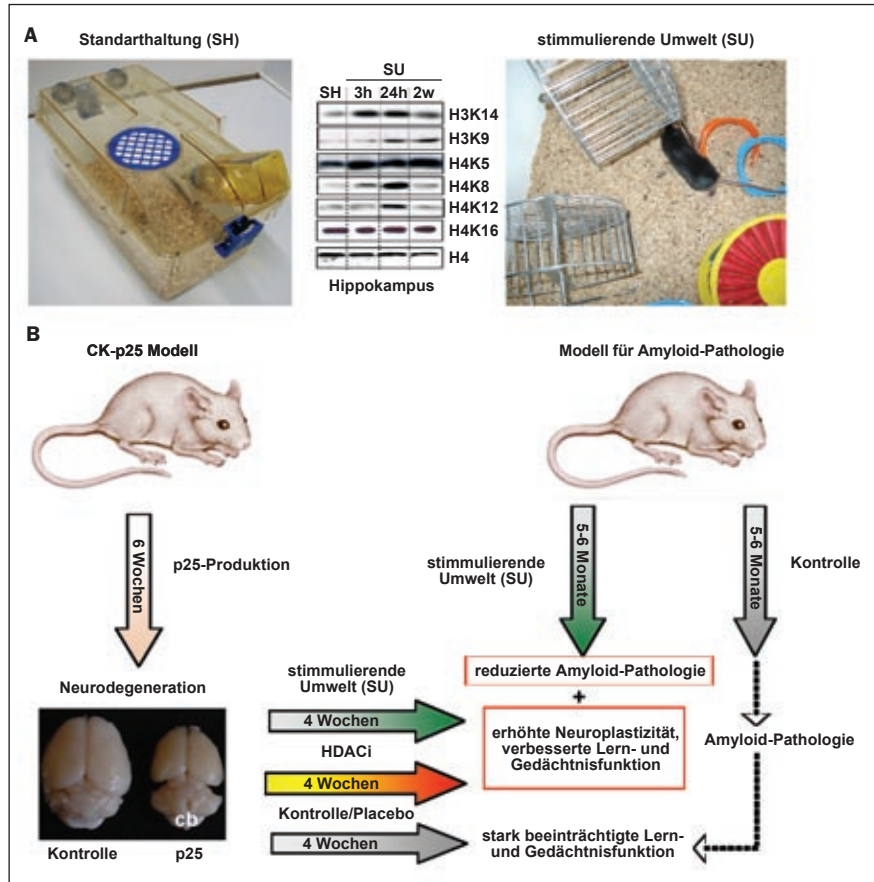


Abb. 3: Eine stimulierende Umwelt vermittelt Neuroprotektion und Neuroregeneration mittels epigenetischer Mechanismen.

(A) Mäuse, die in einer stimulierenden Umwelt (SU), d.h. einer Kombination aus körperlichem und kognitivem Training, gehalten werden zeigen verstärkte Histonacetylierung im Hippokampus. Links: Käfig für die Standardhaltung von Mäusen. Mitte: Immunblot-Analyse hippocampaler Lysate die 3 h, 24 h oder 2 Wochen nach SU untersucht wurden. Es zeigt sich eine spezifische Aufregulation verschiedener H3 und H4-Acetylierungen. Rechts: Mäuse in einer stimulierenden Umwelt, die aus Laufrädern und verschiedenen Spielzeugen besteht. (B) Links: Im CK-p25-Mausmodell kann das p25-Protein, ein Risikofaktor für verschiedene neurodegenerative Erkrankungen inklusive Morbus Alzheimer, im adulten Tier induziert werden. Nach 6 Wochen p25-Produktion zeigen die Tiere eine starke Neurodegeneration im Vorderhirn, wobei das Kleinhirn (cb) nicht beeinträchtigt ist. Vier Wochen in einer SU sind ausreichend, um Lernen und Gedächtnis in CK-p25-Tieren, die bereits bis zu 25% der Vorderhirnneurone verloren haben, wiederherzustellen. Ein ähnlicher Effekt konnte durch die Gabe von HDAC-Inhibitoren (HDACi) erzielt werden, welche Histonacetylierung erhöhen. Rechts: Im Gegensatz zum CK-p25-Mausmodell beginnt die Pathogenese in Tiermodellen für amyloid Pathologie meist bei der Geburt. In verschiedenen Modellen konnte gezeigt werden, dass 5-6 Monate in einer SU die amyloid Pathologie deutlich reduzieren und gleichzeitig Lern- und Gedächtnisfunktionen wieder herstellen. Es ist zu vermuten, dass der positive Effekt der SU auch in diesem Fall über epigenetische Mechanismen vermittelt wird.



Ablagerungen im Gehirn, die extrazellulären amyloiden- β -Plaques ($A\beta$ -Plaques) und die intrazellulären neurofibrilläre Bündel (NFB). Die $A\beta$ -Plaques bestehen aus aggregierten $A\beta$ -Peptiden, welche aus dem sehr viel größeren APP-Vorläuferprotein gespalten werden. Genau diese Spaltung ist in den Gehirnen von Alzheimer-Patienten offenbar dereguliert, den es kommt hier zu einer Akkumulation von $A\beta$ -Peptiden, die 40 bzw. 42 Aminosäuren lang sind ($A\beta_{40/42}$). Bei den NFBs handelt es sich um intrazelluläre Aggregate des Tau-Proteins, einem Einweißstoff, der die Funktion von Tubulin reguliert. Für die Entstehung der NFBs ist eine Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins entscheidend.

Die Forschung zur Pathogenese der Alzheimer-Erkrankung sowie zur Entwicklung von therapeutischen Strategien widmete sich daher vor allem der amyloid- und Tau-Pathologie.

Zusätzlich deuten eine Vielzahl von Daten darauf hin, dass die Pathogenese von Alzheimer mit der verminderten Expression von Genen korreliert ist, welche synaptische Plastizität regulieren. Der Grund für diese Deregulation von „Plastizitätsgenen“ ist allerdings weitgehend unverstanden. Eine mögliche Ursache könnte die Fehlfunktion epigenetischer Mechanismen sein. Aktuelle Daten scheinen diese Hypothese zu unterstützen. Unser Labor konnte z.B. kürzlich zeigen, dass in CK-p25-Mäusen, einem Mausmodell für Neurodegeneration, die Verabreichung von HDAC-Inhibitoren neuroregenerativ wirkt und kognitive Funktionen wieder herstellen kann. Dabei hatten wir zunächst einen sehr einfachen Ansatz verwendet um kognitive Leistungen im Degenerationsmodell zu verbessern, die so genannte stimulierende Umwelt (SU), d.h. eine Kombination aus kognitivem Training und Sport, die sowohl bei Nagern als auch beim Menschen Lernen und Gedächtnis verbessert.

Im CK-p25-Tiermodell konnten wir zeigen, das vier Wochen in einer SU ausreichten, um das Lernvermögen, aber auch die Abrufbarkeit von Gedächtnisinhalten in Mäusen wieder herzustellen, selbst wenn bereits 25% der Vorderhirnneurone abgestorben waren (Fischer et al. 2007). Dieses korrelierte mit der Aufregulation von Genen, die für synaptische Plastizität wichtig sind. Andere Arbeiten konnten zeigen, dass eine SU sich auch positiv auf andere Aspekte der Alzheimer-Erkrankung, wie z.B. die amyloid Pathologie auswirkt. Larzarov et al. konnten nachweisen, dass eine SU den Gehalt an toxischen $A\beta_{42}$ Peptiden signifikant reduziert, was u.a. auf

eine verstärkte Expression des Nephrilysins (eine $A\beta$ -Protease) zurückzuführen war (Lazarov et al. 2005). Gleichzeitig führte die SU in APP^{sw} X PS1^{E9}-Mäusen zur Aufregulation einer Reihe von Genen, die Lernprozesse, Neurogenese und Neuroprotektion vermitteln (Lazarov et al. 2005). In Einklang mit diese Ergebnissen war das Lernvermögen in verschiedenen APP-Mausmodellen nach SU deutlich verbessert (Jankowsky et al. 2005). Dieses ist insbesondere deshalb wichtig, da effektive therapeutische Strategien gegen MA letztlich daran gemessen werden, ob kognitive Funktionen wieder hergestellt werden können (Abbildung 3).

Mittels SU-Therapie konnten auch für eine Reihe von anderen pathologischer Situationen wie z.B. Ischämie positive Effekte gezeigt werden. Tatsächlich reduzieren bestimmte Tätigkeiten, wie Tanzen offenbar die Wahrscheinlichkeit, an Alzheimer zu erkranken. Interessanterweise konnten Kollegen aus Göttingen kürzlich zeigen, dass bei Patienten, die an Schizophrenie leiden, bereits durch ein 3-monatiges leichtes körperliches Trainingsprogramm das Hippokampusvolumen bis zu 12% zunahm und bestimmte Aspekte des Arbeitsgedächtnisses verbessert waren.

Bezüglich der Übertragung von tierexperimentellen Daten auf den Menschen ist allerdings besondere Vorsicht geboten. Unsere Vermutung war daher, dass ein Verständnis der molekularen Prozesse, die durch eine stimulierende Umwelt in Nervenzellen induziert werden, exzellente therapeutische Ansatzpunkte für die Entwicklung von besseren Medikamenten bieten würden.

Da eine stimulierende Umwelt eine Vielzahl von Genen induziert, die für synaptische Plastizität, Neurogenese und Neuroprotektion wichtig sind, stellte ich mir die Frage, ob es einen zentralen Kontrollmechanismus gibt, der in Antwort auf eine SU entsprechende genetische Programme anschaltet. Epigenetische Mechanismen würden eine ausgezeichnete Regulationsmöglichkeit darstellen. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass eine SU spezifische Lysinacetylierung an Histon 3 und 4 in Hippokampus und Kortex von Mäusen induziert (Abbildung 3a). Wir konnten zudem nachweisen, dass die erhöhte Histonacetylierung funktionell von Bedeutung ist, da der HDAC-Inhibitor Sodiumbutyrate im CK-p25-Mausmodell ähnlich der SU Lernen und Gedächtnis wiederherstellen konnte (Abbildung 3b). Ob HDAC-Inhibitoren auch in anderen Tiermodellen zur Alzheimer-Pathologie wirken

wird zurzeit untersucht. Noch unveröffentlichte Daten von Kollegen und meinem Labor stimmen jedoch optimistisch.

Neuropsychiatrische Störungen. Neben neurodegenerativen Erkrankungen sind epigenetische Mechanismen offenbar auch in die Pathogenese von neuropsychiatrischen Störungen involviert. Allein in Europa leiden ca. 4 Mio. Menschen an Schizophrenie (1% der Weltbevölkerung), einer psychischen Störung, die meist bei jungen Menschen auftritt und in 80% der Fälle zu lebenslangen Beeinträchtigungen führt. Die Ursache der Schizophrenie ist Gegenstand intensiver Forschung, aber eine Reihe von Arbeiten weist darauf hin, dass eine Deregulation epigenetischer Mechanismen an der Pathogenese beteiligt ist. Tatsächlich wird zur Behandlung der Schizophrenie u.a. Valproat eingesetzt, eine Substanz für die im Nachhinein nachgewiesen werden konnte, dass sie u.a. als pan-HDAC-Inhibitor wirkt. In behandelten Patienten konnte zumindest in Lymphozyten eine erhöhte H3/4-Acetylierung gemessen werden. Die Analyse in postmortem Gewebeproben des präfrontalen Kortex von Schizophreniepatienten hat reproduzierbar zeigen können, dass die Expression der GAD67 und Reelin-Gene in GABAergen Neuronen stark reduziert ist, was auf eine Hypermethylierung der entsprechenden Promotoren zurückzuführen ist. In Einklang damit ist DNMT1-Expression im präfrontalen Kortex von Schizophreniepatienten deutlich hochreguliert. In Mäusen kann die Injektion von Valproat die H3-Acetylierung des GAD67 und Reelin-Promotoren erhöhen und verstärkte Genexpression induzieren. Interessanterweise wurde kürzlich gezeigt, dass neben DNMT1 auch der mRNA-Gehalt für HDAC1 im präfrontalen Kortex von Patienten, die an Schizophrenie leiden, erhöht ist. Intraperitoneale Applikation des spezifischen HDAC1-Inhibitors MS-275 in Mäusen konnte tatsächlich sehr viel effektiver als Valproat die Expression von GAD67 und Reelin erhöhen. Neben deregulierter DNA-Methylierung und Histonacetylierung der GAD67 und Reelin-Promotoren konnten kürzlich publizierte Arbeiten weitere Veränderungen des globalen Histoncodes in postmortem Gewebe von Schizophreniepatienten nachweisen. Weitere Untersuchungen sind notwendig, aber die Verwendung von spezifischen HDAC-Inhibitoren als Therapiemöglichkeit für Schizophrenie scheint zumindest aussichtsreich. Insbesondere auch deshalb, da HDAC-Inhibitoren kognitive Eigenschaften verbessern und

Störungen der Kognition einen deutlich prädikativen Charakter haben und meist auf eine Verschlechterung der Krankheit hinweisen.

Bei allen Substanzen, die Lernen und Gedächtnis erleichtern, muss man die Frage stellen was für Lerneigenschaften und welche Erinnerungen letztlich verbessert werden sollen. Arbeiten aus dem Labor von Eric Nestler und Kollegen deuten z.B. darauf hin, dass Suchverhalten entscheidend durch die Aktivität von HDACs beeinflusst wird. Einige Erinnerungen möchte man auch lieber vergessen. In Europa leiden derzeit z.B. als 12 Mio. Menschen an Angststörungen. Häufig beinhaltet eine solche Erkrankung die starke Assoziation eines stressvollen, unangenehmen Ereignisses mit einer bestimmten Situation (z.B. bei post-traumatischer Belastungsstörung, Phobien). Die Behandlung von Angststörungen umfasst daher oft eine kognitive Verhaltenstherapie, in welcher der Patient unter kontrollierten Bedingungen wiederholt dem angstauslösenden Stimulus ausgesetzt wird und die aversive Erinnerung letztlich abgeschwächt wird. Im Labor stellt die Furchtkonditionierung von Nagern ein geeignetes Model dar, um die molekularen Prozesse während der Reduktion von erlernter Furcht zu untersuchen. Nach dem Training werden die Tiere alle 24 h erneut in die Versuchsbbox gebracht. Zu Anfang zeigen die Tiere noch Erstarren, ein Maß für die erlernte Furcht. Bereits nach 4-6 Tests ist in der Regel eine deutliche Verminderung des Erstarrens und der damit verbundenen erlernten Furcht zu beobachten. Dieses Modellsystem hat eine hohe prädiktive Validität, um Mechanismen zu identifizieren, die Furchterinnerungen abschwächen können. Interessanterweise deuten zwei kürzliche Publikationen darauf hin, dass HDAC-Inhibitoren die Reduktion von erlernter Furcht erleichtern können. So konnte die intrahippokampale Injektion des HDAC-Inhibitors TSA die Reduktion kontextabhängiger Furcht erleichtern, wohingegen systemische Applikation von Valproat die Reduktion von tonabhängiger Furcht in Mäusen reduzierte.

Ausblick

Die Neuroepigenetik ist ein junges, aber schnell wachsendes Forschungsgebiet. Dieses ist u.a. damit zu begründen, dass epigenetische Ansätze, insbesondere HDAC-Inhibitoren, offenbar aussichtsreiche therapeutische Strategien für eine Vielzahl von neuronalen Erkrankungen

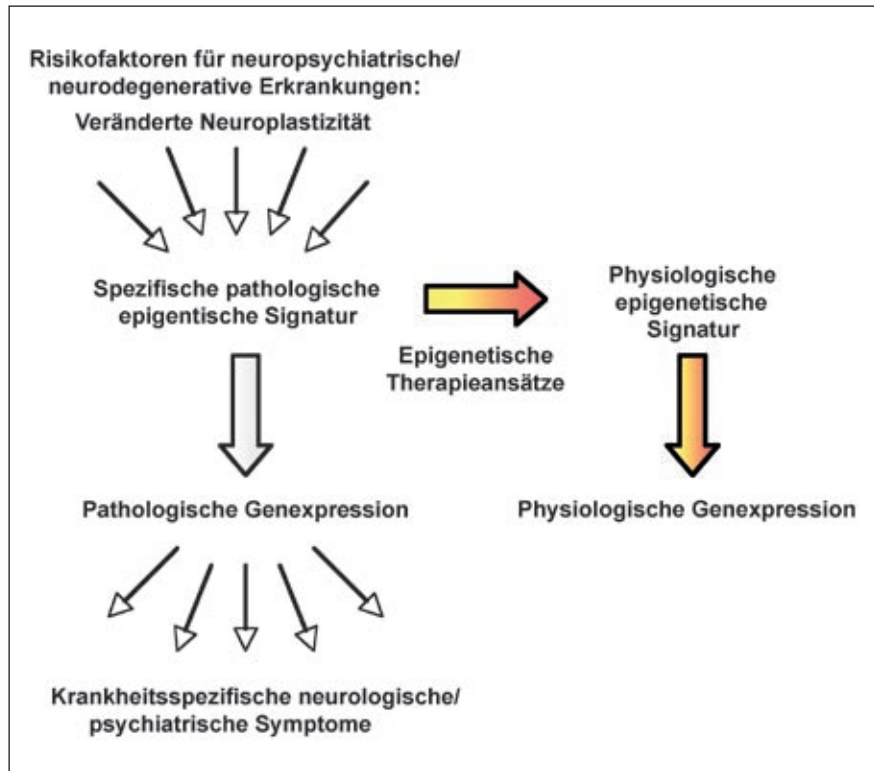


Abb. 4: Epigenetische Strategien für neurodegenerative und neuropsychiatrische Erkrankungen.

Risikofaktoren für neurodegenerative und neuropsychiatrische Erkrankungen verändern neuronale Plastizität. Insbesondere für sporadische Erkrankungen darf vermutet werden, dass die Akkumulation von Risikofaktoren und den damit verbundenen neuronalen Veränderungen schließlich einen kritischen Punkt erreicht, an dem klinische Symptome auftreten. Neuronale Plastizität ist eng an Chromatinplastizität gekoppelt. Wir vermuten daher, dass bestimmte pathologische Situationen letztlich die Chromatinplastizität beeinflussen und daher eine spezifische pathologische epigenetische Signatur induzieren. Diese resultiert in einem pathologischen Genexpressionsmuster und trägt zu den klinischen Symptomen bei. Epigenetische therapeutische Ansätze können offenbar dazu beitragen, wieder eine physiologische Genexpression herzustellen und zusätzlich neuroprotektive und neuroregenerative Mechanismen aktivieren, was zu einer deutlichen Verbesserung der klinischen Symptome führt.

darstellen. Zukünftige Forschung wird zeigen, ob diese Hoffnung berechtigt ist. Dennoch scheinen HDAC-Inhibitoren mehr zu sein, als lediglich eine weitere Substanzklasse, die in bestimmten Tests das Lernvermögen von Nagern verbessern kann. In diesem Übersichtsartikel habe ich eine Reihe von Erkrankungen skizziert, in denen eine Deregulation von epigenetischer Genexpression offenbar ursächlich in die Pathogenese involviert ist. In diesem Fall wären epigenetische Ansätze, wie die Gabe von HDAC-Inhibitoren, nicht nur symptomatisch, sondern könnten evtl. ursächlich das Fortschreiten der Krankheit beeinflussen. Zusammen mit der Tatsache, dass verschiedene HDAC-Inhibitoren neuroregeneratives Potenzial zeigen und auch in Wildtyp-Tieren Lernen verbes-

sern, scheint es sinnvoll, die Funktion von HATs, HDACs aber auch anderen Chromatin modifizierenden Enzymen im zentralen Nervensystem eingehender zu untersuchen. Tatsächlich sind diese Arbeiten erst am Beginn und die nächsten Jahre werden mit Sicherheit spannende Einblicke gewähren.

Wir müssen uns allerdings auch die Frage stellen, warum Substanzen wie HDAC-Inhibitoren offenbar in unterschiedlichsten Erkrankungen von Schizophrenie bis Morbus Alzheimer therapeutisches Potential aufweisen. Meiner Ansicht nach ist dieses in der Tatsache zu sehen, dass genomische Stabilität ein entscheidender Faktor für die zelluläre Homöostase ist. Risikofaktoren für bestimmte Krankheiten, wie z.B. ererbte



Mutationen oder Umweltfaktoren, stören diese Homöostase. Von den über 200 verschiedenen Zelltypen des Menschen ist das Neuron vermutlich die Zelle mit der größten Plastizität. Eine Nervenzelle weist in allen Kompartimenten, von der Synapse bis zum Zellkern eine außerordentliche Plastizität auf, und Gedächtniskonsolidierung ist nur möglich, wenn eine enge Kommunikation zwischen synaptischer und Chromatinplastizität stattfindet. Es gilt daher heute als sicher, dass die Abspeicherung von Langzeiterinnerung nicht ohne differenzieller Genexpression stattfinden kann. Es darf vermutet werden, dass Risikofaktoren für verschiedenste sporadische neuronale Erkrankungen letztlich stets epigenetische Änderungen der Chromatinstruktur induzieren. Dabei können ererbte oder umweltbedingte Risikofaktoren im Falle der Schizophrenie z.B. vornehmlich die Funktion GABAerger Neurone im präfrontalen Kortex stören, wohingegen in Patienten, die Morbus Alzheimer entwickeln synaptische Plastizität in hippocampalen Neuronen beeinträchtigt wird. In jedem Fall werden solche Störungen letztlich in veränderter Chromatinplastizität und einem pathologischen Genexpressionsmuster resultieren. Die Deregulation epigenetischer Mechanismen wäre demnach als Nadelöhr neuronaler Erkrankungen zu betrachten und stellt daher ein aussichtsreiches therapeutisches Ziel dar (Abbildung 4).

Literatur

- Fischer, A., Sananbenesi, F., Wang, X., Dobbin, M. und Tsai, L.H. (2007): Recovery of learning & memory after neuronal loss is associated with chromatin remodeling. *Nature* 447: 178-182.
- Jankowsky, J.L., Melnikova, T., Fadale, D.J., Xu, G.M., Slunt, H.H., Gonzales, V., Younkin, L.H., Younkin, S.G., Borchelt, D.R. und Savonenko, A.V. (2005): Environmental enrichment mitigates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 25: 5217-5224.
- Lazarov, O., Robinson, J., Tang, Y.P., Hairston, I.S., Korade-Mirnic, Z., Lee, V.M., Hersh, L.B., Sapolsky, R.M., Mirnic, K. und Sisodia, S. (2005): Environmental enrichment reduces Abeta levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell* 120: 572-574.
- Miller, C.A. und Sweatt, J.D. (2007): Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron* 53: 857-869.
- Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M. und Meaney, M.J. (2004): Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 7: 847-854.

Eine ausführliche Literaturliste kann beim Autor angefordert werden.

Danksagung

Das European Neuroscience Institute ist eine gemeinsame Einrichtung der Universitätsmedizin Göttingen und der Max-Planck-Gesellschaft. Die hier beschriebenen Arbeiten von Andre Fischer wurden durch die European Science Foundation und die Hans und Ilse Breuer-Stiftung gefördert.

Kurzbiografie

Dr. Andre Fischer: promovierte nach dem Studium der Biologie an der Georg-August-Universität Göttingen im Bereich Neurowissenschaften. Die Doktorarbeit wurde am Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin in Göttingen durchgeführt und mehrfach ausgezeichnet. Finanziert durch ein Feodor-Lynen-Stipendium der Alexander-von-Humboldt-Stiftung begann Dr. Fischer im Oktober 2003 seine Forschungen im Labor von Prof. Tsai an der Harvard Medical School, Boston, USA. Dort initiierte er ein interdisziplinäres Programm, um die Pathogenese von Angststörungen und Morbus Alzheimer zu untersuchen. Während dieser Zeit

wurde die Entdeckung gemacht, dass epigenetische Mechanismen aussichtsreiche Strategien für neuronale Erkrankungen darstellen könnten. Nach einem kurzen Aufenthalt am Massachusetts Institute for Technology, Cambridge, USA kehrte Dr. Fischer als unabhängiger Gruppenleiter nach Deutschland zurück. Seit 2007 führt er seine Forschungen am European Neuroscience Institute in Göttingen weiter (einer gemeinsamen Einrichtung der Universitätsmedizin Göttingen und der Max-Planck-Gesellschaft), wo er eine unabhängige Arbeitsgruppe aufbaut. Für seine Forschung wurde Dr. Fischer bereits mit dem European Young Investigator (EURYI) Preis der Europäischen Union, dem Heinz-Mayer-Leibnitz-Preis der DFG und dem Alzheimer-Forschungspreis der Hans und Ilse Breuer-Stiftung ausgezeichnet.

Korrespondenzadresse

Dr. Andre Fischer
*Laboratory of Aging and
 Cognitive Diseases
 European Neuroscience Institute Göttingen
 Grisebach Str. 5, 37077 Göttingen
 Tel.: +49 (0)551 3910378
 Fax: +49 (0)551 399836
 E-Mail: afische2@gwdg.de*

Einladung zur Mitgliederversammlung auf der 8. Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft (26. – 29. März 2009)

Termin: Samstag, 28. März 2009, 12.00 – 13.00 Uhr

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. Wahl des neuen Vorstandes
7. Aktivitäten der Gesellschaft
8. Verschiedenes

Als Gast berichtet Jan Kunze (DFG) über Fördermöglichkeiten der DFG.

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

ARTIKEL DES QUARTALS

Vorgestellt von Marc Tittgemeyer und Markus Ullsperger, Max-Planck-Institute für neurologische Forschung, Gleueler Str. 50, 50931 Köln

Connectivity-based segregation of the human striatum predicts personality characteristics

Michael X. Cohen, Jan-Christoph, Schoene-Bake, Christian E. Elger und Bernd Weber

Erschienen in *Nature Neuroscience* 2009 Januar 12(1):32-4

In einer kürzlich in *Nature Neuroscience* erschienenen Publikation zeigten Cohen und Kollegen von der Universität Bonn einen Zusammenhang zwischen struktureller Konnektivität des Striatums im menschlichen Gehirn und persönlichkeitspezifischen Merkmalen. Hierzu untersuchten sie zwanzig junge, gesunde Versuchspersonen mittels diffusionsgewichteter Magnetresonanztomographie (MRT). Zusätzlich erhoben sie in Persönlichkeitstests Maße individueller Merkmale wie Neugierverhalten (novelty seeking) und Belohnungsabhängigkeit (reward dependence). Unter novelty seeking ist zu verstehen, dass neue Reize einen Belohnungswert für die jeweilige Person aufweisen und diese daher verstärkt Situationen aufsucht, in denen neue Erfah-

rungen und Reize wahrscheinlich sind. Personen mit starkem Neugierverhalten zeichnen sich durch Impulsivität, hohen Antrieb zur Exploration und Erregbarkeit aus. Dieses Persönlichkeitsmerkmal wurde mit der Funktion des Botenstoffs Dopamin in einem ventralen Projektionssystem --einem Netzwerk aus ventralem Striatum, VTA, Hippokampus und Amygdala-- in Verbindung gebracht.

Bei der Belohnungsabhängigkeit fokussierten die Autoren auf die Abhängigkeit von Belohnungen im sozialen Kontext. Hohe Belohnungsabhängigkeit bedeutet, dass die jeweiligen Personen in ihren Handlungen sehr von der sozialen Wirkung und Akzeptanz (ihrer Handlungen) abhängig sind und vor allem solche wiederholen, die bereits sozial verstärkt wurden.

Die diffusionsgewichtete MRT ist ein bildgebendes Verfahren, das die Diffusionsbewegung von Wassermolekülen in Körpergewebe misst und räumlich aufgelöst darstellt. Es wird in erster Linie zur Untersuchung des Gehirns eingesetzt, da das Diffusionsverhalten Rückschlüsse auf den Verlauf der großen Nervenbahnen zulässt. Die grundlegende Annahme ist dabei, dass die Richtung des größten Diffusions-Koeffizienten den Verlauf der Nervenfasern widerspiegelt: Im Hirngewebe ist die Beweglichkeit der Wassermoleküle durch Hindernisse wie zum Beispiel Zellmembranen eingeschränkt. Insbesondere können sich die Moleküle in Anwesenheit dicht gepackter Nervenfasern entlang der langgestreckten Axone sehr viel ungehinderter bewegen als quer zu ihnen. Die regional spezifischen Diffusionseigenschaften lassen sich nutzen um mit sog. traktographischen Methoden den Verlauf von Nervenfasern zu rekonstruieren und die relative Verbindungsstärke (Konnektivität) zwischen Hirnarealen zu quantifizieren. Hierbei ist anzumerken, dass die diffusionsbasierte Traktographie keine Hinweise über die Richtung der Faserverbindungen zulässt. Außerdem ist bei der Interpretation zu berücksichtigen, dass die gemessene Verbindungsstärke von mehreren Faktoren abhängt, insbesondere von der Fasergeometrie, der Axondichte und Myelinisation.

Auf der Grundlage traktographischer Daten erstellten die Autoren eine Karte, die für jedes Voxel des Striatum die relative Verbindungsstärke zu zehn a priori auf der Basis der bisherigen Kenntnisse über die

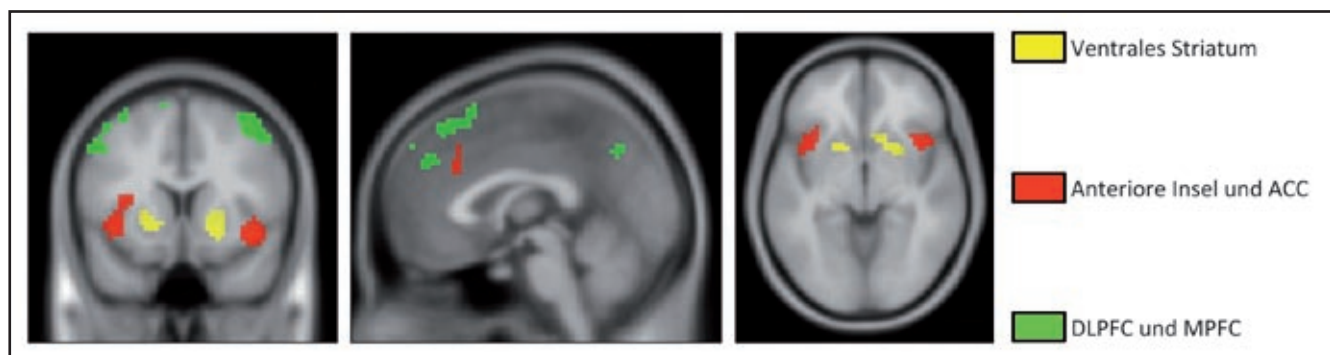


Abb. 1. Aktivierungsmuster einer funktionellen MRT Studie zu sozialen Vergleichsprozessen. Zwei Probanden lagen in zwei benachbarten MR-Tomographen, und bearbeiteten parallel und wiederholt eine Schätzaufgabe. Bei richtiger Antwort bekamen die Probanden einen Geldbetrag als Belohnung angezeigt. Dabei wurde bei richtiger Antwort sowohl die absolute Belohnungshöhe variiert als auch die Relation zum Mitspieler. Die verschiedenen aufgezeigten Areale verhielten sich bei diesen Vergleichsprozessen unterschiedlich. Das in gelb dargestellte ventrale Striatum zeigte eine verstärkte Aktivierung bei eigener höherer Belohnung im Vergleich zur anderen Person, die in rot dargestellten Bereiche waren dann aktiv, wenn man im Vergleich zur anderen Person nichts bekam und die in rot dargestellten Areale wenn man unterschiedlich entlohnt wurde, unabhängig davon ob man mehr oder weniger als die andere Person bekam. Die gezeigten Areale scheinen also in unterschiedlicher Weise zur Evaluation von Belohnungen im sozialen Kontext beizutragen. Weitere Studien sollen nun den Zusammenhang individueller Unterschiede mit strukturellen Konnektivitätsmaßen untersuchen (alle gezeigten Areale $p < 0.05$ FWE korrigiert).



untersuchten Persönlichkeitsmerkmale und striatalen Faserverbindungen festgelegten Hirnregionen reflektiert (medialer orbitofrontaler Kortex, lateraler orbitofrontaler Kortex, lateraler präfrontaler Kortex, dorsolateraler präfrontaler Kortex, posteriorer zingulärer und retrosplenialer Kortex, rostraler anteriorer zingulärer Kortex, dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, Hippokampus, Amygdala, supplementär-motorisches Areal [SMA]). Dabei fanden sie in Übereinstimmung mit vorherigen anatomischen Studien an Primaten einen von ventromedial nach dorsolateral verlaufenden Gradienten, der sich in striatalen Bändern ähnlicher Konnektivität widerspiegelt.

In einer weiteren Analyse korrelierten sie die Verbindungsstärke jedes striatalen Voxels mit den Zielregionen mit den Persönlichkeitsmaßen. Sie fanden eine Korrelation von novelty seeking und der Konnektivität des medialen Striatums mit dem Hippokampus und der Amygdala, was mit Befunden zur Interaktion dieser Strukturen und des dopaminergen Systems aus Tierversuchen im Einklang steht. Dagegen zeigte das Maß der Belohnungsabhängigkeit Korrelationen mit Konnektivitäten mehrerer striataler Subregionen mit den Zielregionen im mediale und lateralen orbitofrontalen Kortex, im dorsolateralen präfrontalen Kortex und mit der SMA. Das legt nahe, dass dieses komplexe Persönlichkeitsmerkmal auf mehreren frontostriatalen Schleifen basieren könnte. Somit ist, wie die Autoren bemerken, eine Interpretation im dem Sinne, dass eine stärkere gemessene Konnektivität auch mit einem effizienteren Informationsaustausch einhergeht, zwar plausibel und naheliegend, aber eine noch zu testende Hypothese.

Die Befunde sind zwar an einer kleinen Gruppe von Versuchspersonen erhoben und bedürfen einer Replikation in unabhängigen, möglichst großen Stichproben. Dennoch zeigt die Arbeit einen sehr interessanten und viel versprechenden Weg auf, nichtinvasiv anatomische und funktionelle Variablen beim Menschen zu integrieren. Es ist sicher nicht unerwartet, dass Persönlichkeitsvariablen mit der Stärke anatomischer Verbindungen in den Basalganglien korrelieren, aber dieser Ansatz gibt Hinweise auf die den Merkmalen zugrunde liegenden funktionellen Netzwerke, die anders nicht zu erhalten wären. Man kann nun in ähnlich angelegten Studien die anatomischen Grundlagen interindividueller Unterschiede testen. Dabei ist man nicht auf Persönlichkeitsmerkmale beschränkt.

Ein analoger Ansatz lässt sich auch für funktionelle Maße unterschiedlichster Art, zum Beispiel Reaktionszeiten, EEG und funktionelle Magnetresonanztomographie anwenden. So wurde in dieser Studie ein neuer Weg zur Integrierung funktioneller und anatomischer Maße geöffnet und damit ein entscheidender Schritt in die Richtung einer umfassenden, im eigentlichen Sinne funktionell-anatomischen Betrachtung der Hirnfunktionen des Menschen getan.

Literatur

- Fliessbach K, Weber B, Trautner P, Dohmen T, Sunde U, Elger CE, Falk A. Social comparison affects reward-related brain activity in the human ventral striatum. *Science*. 2007 Nov 23;318(5854):1305-8.
- Behrens TE, Johansen-Berg H, Woolrich MW, Smith SM, Wheeler-Kingshott CA, Boulby PA, Barker GJ, Sillery EL, Sheehan K, Ciccarelli O, Thompson AJ, Brady JM, Matthews PM. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci*. 2003 Jul;6(7):750-7.
- Frith CD, Frith U. Implicit and explicit processes in social cognition. *Neuron*. 2008 Nov 6;60(3):503-10.

Kurzbiographien



Bernd Weber

Bernd Weber: 1996 bis 2003 Studium der Humanmedizin an der Rheinischen Friedrich-Wilhelm Universität Bonn. 2003 Abschluss der Promotion im Rahmen des DFG Graduiertenkolleg 246 „Pathogenese von Krankheiten des Nervensystems“ in der Arbeitsgruppe von Professor Dr. E. Schlicker. Seit 2004 Assistenzarzt und wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Epileptologie der Universitätsklinik Bonn bei Prof. C.E. Elger. Seit 2005 Leiter der

Arbeitsgruppe NeuroCognition-Imaging der Klinik für Epileptologie und des Life&Brain Centers der Universität Bonn. 2008 Habilitation im Fach „experimentelle Neurologie“ an der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn.



Mike Cohen

Mike Cohen: 1997-2000 Studium der Psychologie an der Carnegie Mellon University in Pittsburgh, USA. 2001-2007 Promotion in Psychologie an der University of California at Davis, USA. Paralleler Forschungsaufenthalt an der Klinik für Epileptologie der Universität Bonn mit Forschungsschwerpunkt intrakranieller Elektrodenableitungen und funktionelle Bildgebung. Seit 2008 parallele Post-Doc-Stelle am Department of Psychology der University of Arizona, USA und am Department of Developmental Psychology der Universität Amsterdam, Niederlande.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. Bernd Weber
 Department of Epileptology
 University of Bonn
 Sigmund-Freud-Str. 25
 53127 Bonn
 Tel.: +49 (0)228 6885-262
 Fax: +49 (0)228 6885-261
 E-Mail: bweber@lifeandbrain.com

Hansjürgen Matthies (1925 -2008)

Prof. Klaus Reymann (Magdeburg), Prof. Joachim Schmidt (Dresden), Prof. Tilman Ott (Berlin)

Am 22. August 2008 verstarb im Alter von 83 Jahren nach langer Krankheit der Pharmakologe und Nestor der DDR-Neurowissenschaften, Professor Prof. Dr. med. habil. Dr. h. c. mult. Hansjürgen Matthies.

Geboren am 6. März 1925 in einer Kaufmannsfamilie in Stettin folgten 1943 das Abitur, der Arbeitsdienst und anschließend der Beginn einer Sanitätsoffizierslaufbahn der Reserve mit Aussicht auf ein Medizinstudium in einer Studentenkompanie. 1944 begann Hansjürgen Matthies sein Studium der Medizin in Wien, konnte dieses aber durch Kommandierung an die Ostfront nicht beenden. Im Wintersemester 1946 setzte er sein Medizinstudium in Berlin fort und hörte Vorlesungen bei so prominenten Professoren wie Brugsch und Heubner. Der praktische ärztliche Beruf schien ihm jedoch nicht erstrebenswert. So begann er eine Assistentenlaufbahn in der Pharmakologie der Charite bei Jung, der ihn mit seiner erfrischenden und unkonventionellen Art begeisterte. 1953 promovierte er zum Dr. med. Seine Habilitationsarbeit über neue Stoffwechselwege in roten Blutkörperchen verteidigte er schon 1957. Danach empfahl ihn Jung für eine Berufung an das neu gegründete Institut für Pharmakologie an der Medizinischen Akademie Magdeburg. Nach einer Tätigkeit als kommissarischer Direktor erfolgte 1960 seine Berufung zum Professor mit Lehrstuhl. Durch die Fokussierung auf ZNS-Pharmakologie bekam das ständig wachsende Institut ein eigenständiges Profil.

Von 1962 bis 1967 und 1973 bis 1979 stand Prof. Matthies der Medizinischen Akademie Magdeburg als Rektor vor. In dieser Zeit bemühte er sich erfolgreich um die Schaffung von übergreifenden interdisziplinären Schwerpunkten. Trotz Leitungsfunktionen war er oft bis in die frühen Morgenstunden im Labor. Das war natürlich eine Herausforderung für viele Mitarbeiter. Er schuf um sich herum eine offene und kritische Atmosphäre, in der die wöchentliche Arbeitsbesprechung sowie häufige Laborvisiten und Gespräche eine wichtige Rolle spielten. Er ließ den jungen Assistenten einen großen Spielraum im Interesse ihrer wissenschaftlichen Entwicklung, forderte aber gleichzeitig

hohe Leistungsbereitschaft und die kritische Wertung der erzielten Ergebnisse im Lichte des internationalen Erkenntnisstandes. Sein hohes wissenschaftliches und organisatorisches Können, aber auch die schöpferische Zusammenarbeit mit allen Mitarbeitern, ermöglichten es ihm und seinem Team eine hohe nationale und internationale Anerkennung auf dem Gebiet der zellulären Gedächtnisforschung zu erringen.

Die entscheidende Profilierung seines Instituts auf die neurobiologischen Grundlagen von Lern- und Gedächtnisprozessen erfolgte in den 70er und 80er Jahren. Ausgangspunkte waren Untersuchungen von Agranoff und Flexner in den USA über die Erzeugung amnestischer Wirkungen durch Hemmstoffe der Proteinsynthese, wie auch die Ergebnisse von Hyden in Göteborg über die Änderungen der Basenzusammensetzung der Ribonukleinsäuren im Gehirn bei Lernexperimenten. Der Nachweis der Möglichkeit der Verbesserung von Lern- und Gedächtnisleistungen durch die Orotsäure oder auch die intrazerebrale Injektion der Pyrimidin-Nukleotide war der entscheidende Ausgangspunkt für das Forschungsprofil des Instituts. Die Fortführung der Arbeiten verlangte aber auch eine theoretische Grundkonzeption, ein aus den vorhandenen Kenntnissen abgeleitetes umfassenderes Modell der neuronalen Funktionen und molekularen Prozesse der Gedächtnisbildung. So entstand schrittweise das hochrangig publizierte „Modell der Regulation der neuronalen Konnektivität“ (Matthies, H.: „Neurobiological aspects of learning and memory“, *Ann. Rev. Psychol.*, 1989, 40, 381-404 und „In search of cellular mechanisms of memory“. *Progr. Neurobiol.*, 1989, 32, 277-349). Zu seinen wegweisenden Verdiensten gehören u. a. ein Mehrphasen-Modell für Lernprozesse und zelluläre Modelle für Langzeitplastizität des Gehirns, sowie ein für seine Zeit revolutionäres interdisziplinäres Forschungskonzept in den Neurowissenschaften, das von der Neurochemie über elektrophysiologische, pharmakologische und systemische Ansätze bis hin zur Psychologie alle Betrachtungsebenen vereinigte. Seine Hypothesen zu den Phasen der Langzeitpotenzierung (LTP) fanden Ver-

wendung in den nachfolgenden Arbeiten von Nobelpreisträger Eric Kandel.

Die von Matthies im Jahr 1967 ins Leben gerufenen Magdeburger Symposien für Lern- und Gedächtnisforschung sind bis in unsere Zeit ein wichtiger Treffpunkt für die auf diesem Gebiet weltweit führenden Neurowissenschaftler. Vor der Wende waren diese Symposien mit starker internationaler Beteiligung eine sehr gute Bühne zur Vorstellung der eigenen Forschungsergebnisse und des internationalen Leistungsvergleichs, also eine hervorragende Gelegenheit, die nahezu fehlenden Möglichkeiten der einzelnen Mitarbeiter zur Teilnahme an Kongressen im westlichen Ausland zu kompensieren.

Als Gründungsdirektor leitete Hansjürgen Matthies von 1981 bis 1991 auch das Institut für Neurobiologie und Hirnforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR in Magdeburg. Seiner Zielstrebigkeit ist es zu verdanken, dass der lange und steinige Weg von der formalen Gründung 1981 bis zur schrittweisen Inbetriebnahme ab Oktober 1989 bewältigt wurde. Aufgrund der exzellenten Vorleistungen und auf Empfehlung des Wissenschaftsrates gelang nach der deutschen Wiedervereinigung der Erhalt dieses „Matthies'schen“ Instituts. 1992 wurde daraus das heutige Leibniz-Institut für Neurobiologie mit dem Ziel der Schaffung eines neurowissenschaftlichen Zentrums von überregionaler Bedeutung und gesamtstaatlichem wissenschaftspolitischem Interesse.

Sein Wort und seine Stimme waren in Wissenschafts- und wissenschaftsorganisatorischen Gremien des In- und Auslandes gefragt und geschätzt. Als Mitglied und im Auftrag des Forschungsrates der DDR gründete er die Hauptforschungsrichtung Neurobiologie in der DDR, eine sehr lebendige Forschungsgemeinschaft. Er war Mitglied des Central Council der IBRO, DDR-Vertreter in INTERMOZG, Mitherausgeber zahlreicher nationaler und internationaler Zeitschriften. Anerkennung fand er u.a. als Vorsitzender mehrerer medizinischer Fachgesellschaften, darunter der Gesellschaft für Neurowissenschaften der DDR, der ersten im deutschen Raum. 1973 erfolgte seine Wahl zum ordentlichen Mitglied der Akademie der Wissenschaften der DDR. Ihm wurden der Virchow-Preis, der Buchheim-Preis und Nationalpreise verliehen. Er erhielt die Ehrendoktorwürde der Universität Leipzig und der Semmelweis-Universität Budapest. Die statliche Zahl von 14 Habilitanden und späteren Professoren, die Betreuung von über 200



Promotionsarbeiten, 467 Originalarbeiten sowie Autorschaft oder Mitherausgeber von zahlreichen Lehrbüchern und Sammelbänden sind überzeugender Ausdruck seiner Leistungen.

In den Jahren nach der Wende bedrückte ihn so mancher Umgang mit ihm und seinen Leistungen. So zog er sich zurück, fand Entspannung und Freude in seiner Familie, der Kakteenzucht und der Malerei, wobei eine beachtliche

Zahl hervorragender Gemälde entstand. Generationen von Medizinstudenten in der DDR haben Hansjürgen Matthies als hervorragenden akademischen Lehrer erlebt und schätzen gelernt. Viele seiner unmittelbaren ehemaligen Schüler werden ihn als einen Menschen mit einer außergewöhnlichen Kreativität, mit einem nicht versiegenden Wissensdurst und dem Bedürfnis ständig Neues zu schaffen in dankbarer Erinnerung behalten.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Klaus Reymann

Leibniz-Institut für Neurobiologie
Projektgruppe Neuropharmakologie
Brenneckestr. 6

39118 Magdeburg

Tel.: +49 (0)391 62 63 437

Fax: +49 (0)391 62 63 438

E-Mail: reymann@ifn-magdeburg.de

Neurologe und Hirnforscher – ein Job für 30-Stunden-Tage?

Ein Interview mit Rosemarie Grantyn

Neuroforum: Herr Dichgans, Sie haben sich im September 2005 von Ihrer Tätigkeit als ärztlicher Direktor der Tübinger Neurologischen Uni-Klinik mit einer Vorlesung zum Thema "Neurologie und Hirnforschung im Dialog" verabschiedet. Wir würden in dem heutigen Interview gern mehr darüber erfahren, welche Chancen aber auch Schwierigkeiten ein Mediziner vorfindet, der beides will, klinische Tätigkeit und kompetitive Grundlagenforschung. Lassen Sie uns aber mit einer einfachen Frage beginnen, die wir allen unseren Gästen stellen: Wollten Sie schon „immer“ Forscher werden?

Johannes Dichgans: Keineswegs! In Wuppertal geboren, wuchs ich kriegsbedingt in Überlingen am Bodensee im Haus der Großeltern auf. Dieses Haus war künstlerisch geprägt und noch im kulturellen Koordinatensystem des ausgehenden 19. Jahrhunderts geortet. Der Großvater war Komponist, der Onkel Pianist, der Vater ausgebildeter Dirigent. Ich wollte Sänger werden, Opernsänger! Dann kam die Begeisterung für den Segelsport, was mich später vor die schwierige Wahl gestellt hat, entweder an einer olympischen Regatta teilzunehmen oder ans MIT nach Boston zu gehen. Ich habe Boston gewählt, aber ganz leicht ist mir diese Entscheidung damals nicht gefallen!

Neuroforum: Zuvor hatten Sie auch Jura studiert?

Johannes Dichgans: Ja, ein Jahr lang habe ich es mit Jura versucht, aber am Ende entschied ich mich doch für den fürsorglichen Beruf meines Vaters und wurde Arzt.

Neuroforum: Sie studierten Medizin in Freiburg und promovierten 1962 bei Richard Jung, dem überragenden Neurologen und klinischen Neurophysiologen, welcher in Deutschland so viele Neurowissenschaftler geprägt hat. Erinnern Sie sich noch an Ihre erste Begegnung mit Jung?

Johannes Dichgans: Als wäre es gestern gewesen! Jung war etwa 1,65 m groß, hatte ein scharf geschnittenes Gesicht, wenig Haare und die elegantesten Hände, die man sich bei einem Mann vorstellen kann. Er empfing mich – es muss 1959 gewesen sein - in seinem Büro, fast vergraben hinter Stapeln von Büchern und Papieren und meinte, dass er in zwei Monaten nach New York zu einem von Bender organisierten Neuroophthalmologen-Meeting zu reisen gedenke. Dazu hätte er gern sein umfangreiches Material zum congenitalen und hereditären Nystagmus geordnet und ausgewertet. So kam ich zum Thema meiner Doktorarbeit. Als Tutor wies er mir Kornhuber zu, dessen erster Doktorand ich wurde.

Neuroforum: Die Art und Weise, wie Jung in Freiburg seine klinische Tätigkeit mit experimenteller Grundlagenforschung verband, war damals sicher einmalig in Deutschland...

Johannes Dichgans: Ja, ich wage zu behaupten, dass Jung der bedeutendste deutsche Neurologe der Zeit nach dem 2. Weltkrieg war. Er hat eine pathophysiologisch ausgerichtete Neurologenschule begründet, die in ihrer Vorgehensweise die anthologisch syndromatische Betrachtungsweise überwin-



Professor Johannes Dichgans ist – wie seinerzeit sein Vorbild und Lehrer Richard Jung – ein sehr vielseitig interessierter Forscher, dem es gelungen ist, die Tätigkeit des Neurologen mit der eines Neurowissenschaftlers und Wissenschaftspolitikers zu verknüpfen. Als Experte für visuo-vestibuläre Interaktionen hat er sich zusammen mit anderen europäischen Experten 1983 an Untersuchungen im Rahmen des Raumfahrtprogramms Spacelab-1 beteiligt, als Ulf Merbold, der erste Nicht-Amerikaner auf einer US-Shuttle-Mission ins All flog. Es folgten viele Arbeiten zur Physiologie des Kleinhirns und seiner Erkrankungen. Zuletzt beschäftigte sich Prof. Dichgans hauptsächlich mit dem Altern, seiner Biologie und den Auswirkungen auf die Medizin. Mit der Gründung des Hertie-Instituts für Klinische Hirnforschung in Tübingen hat der Sohn eines Psychiaters seinem Land zu einem weit über Baden-Württemberg hinaus strahlenden Leuchtturm der Wissenschaften verholfen.

den konnte. Er war auch ein Vorkämpfer der interdisziplinären Neurowissenschaften. Mit Hilfe eines 2-jährigen Rockefeller-Stipendiums hatte er bei Adrian in Cambridge die

Einzellableitung von Neuronen erlernt, und bei dem späteren Nobelpreisträger W. R. Hess in der Schweiz die aktuellen Stimulationstechniken. In Berlin-Buch traf er J. F. Tönnies, den genialen Ingenieur und Physiker. Aus der engen Zusammenarbeit mit Tönnies und anderen Naturwissenschaftlern entstand die elektrophysiologisch orientierte Freiburger Neurologische Universitätsklinik, die Jung von 1956 bis zu seiner Emeritierung 1980 leitete. Man arbeitete dort tags mit den Kranken und abends und nachts experimentell mit den Tieren, natürlich auch an den Wochenenden. Im Bereich der experimentellen Forschung dominierten Ende der fünfziger, Anfang der sechziger Jahre sinnesphysiologische Fragestellungen.

Neuroforum: Wie war Jung als Mensch? Wie war Ihre Lehrer-Schülerbeziehung mit Jung?

Johannes Dichgans: Ich habe in Jung eine Art Vaterfigur gefunden. Meinem leiblichen Vater verdanke ich ein verlässliches Wertesystem und das Vertrauen darauf, dass diesen Werten mit Geduld und Klugheit auch Durchsetzungskraft verliehen werden kann. Jung dagegen war mein Vorbild in der Wissenschaft. Ich traf in Jung einen völlig uneitlen, dabei anspruchsvollen, energischen, in seinem Urteil ziemlich rigorosen Wissenschaftler, der durchaus auch anstrengend für sein Umfeld sein konnte, gleichzeitig ein begnadeter Entdecker und Erwecker junger Begabungen, die er großzügig und gütig z. T. über viele Jahre begleitete. Manchmal war er auch ein wenig exzentrisch. Dieser Exzentrik verdanke ich als damals noch Ahnungsloser eine Einführung in die Welt der Kunstauktionen. Jung war leidenschaftlicher Sammler europäischer Kunst der Zeit vor 1800, und ich habe erleben dürfen, wie sich hier ein genuines Interesse an Problemen der visuellen Wahrnehmung und die Liebe zu den visuellen Künsten im weitesten Sinne fruchtbar begegneten. Aber es war dann doch ein recht ungewöhnlicher Auftrag, als ich wohl instruiert für meinen Klinikdirektor in München für 20 Tausend DM Graphiken und Zeichnungen ersteigern sollte, ohne dass ich je zuvor mit Kunsthandel zu tun gehabt hatte. Ansonsten wahrte Jung eher Distanz. Persönliche Befindlichkeiten waren niemals Gegenstand von Erörterungen. Ich genoss große thematische Freiheit, wurde von ihm auf vielfältige Weise angeregt, aber nie zur Durchführung von bestimmten Experimenten "verdonnert". Er beeindruckte durch seine universelle neurowissenschaftliche Bildung. Als Experimentator habe ich ihn leider nicht mehr erlebt.

Neuroforum: Welchen Themen haben Sie sich in Ihrer Freiburger Zeit zwischen 1965 und 1977 zugewandt?

Johannes Dichgans: Es ging vor allem um die Interaktion zwischen den visuellen und vestibulären Sinneseingängen als Voraussetzung für die Wahrnehmung von Eigenbewegungen. Zum großen Teil gemeinsam mit Thomas Brandt und auch mit Eugene Wist führten wir psychophysische Untersuchungen an Menschen durch. Durch die enge Interaktion des "Instituts" mit der Firma von Tönnies standen dafür ein moderner Drehstuhl, eine diesen umgebende Trommel mit Streifenmuster für die Simulation einer Umfeldrotation und Vertsärker für die Registrierung von Augenbewegungen zur Verfügung. Einzelzellableitungen von Vestibularisneuronen wurden an Goldfischen und Kaninchen durchgeführt. Der vielleicht wesentlichste Beitrag jener Zeit war die Entdeckung der visuellen Eingänge in die Vestibulärkerne. Bekanntlich ist das Bogengangssystem für die Messung der Kopfbeschleunigung zuständig. Das visuelle System liefert dagegen die Information bei konstanter Drehgeschwindigkeit.

Neuroforum: Mit diesen Untersuchungen wurden Sie schnell international bekannt. Sie erhielten eine Einladung an das berühmte Department of Psychology am Massachusetts Institute of Technology, wo Sie sich 1971/72 ein Jahr lang ganz der experimentellen Forschung widmen konnten.

Johannes Dichgans: Ja, das US-amerikanische Raumfahrtprogramm der ausgehenden sechziger Jahre hatte – gerade auch am MIT – für eine gewaltige Konzentration von Forschern und materiellen Ressourcen gesorgt. So nahm ich meine Chancen gleich doppelt wahr. Ich war ja daran gewöhnt, schon um 7 Uhr zum Dienst zu erscheinen. Bei Emilio Bizzi, dem ich die Einladung verdankte, begann der Labortag allerdings nicht vor 10 Uhr. So hatte ich Gelegenheit, mit Richard Held, der ebenfalls früh aufzustehen pflegte, psychophysische Untersuchungen zur Bewegungswahrnehmung durchzuführen, die mich dann in das Department für Aero- und Astronautics zu Larry Young und am Ende sogar zu dem modernsten Flugsimulator jener Zeit, nach Langley in Virginia brachten, wo wir Ursachen der Desorientierung und der Übelkeit bei Piloten erforschten. Insbesondere interessierte uns der so genannte Pseudo-Coriolis-Effekt.

Neuroforum: Was ist das?

Johannes Dichgans: Der Mensch hat die Sinnesorgane, um sich im Raum zu orientieren und sollte daher in der Lage sein, Eigendrehung (experimentell auf einem Drehstuhl) von Umgebungsrotation (experimentell in einer Streifenrotationskammer) zu unterscheiden. Dennoch tritt bei rein optokinetischen Reizen (Trommelrotation) eine Eigendrehempfindung (Circularvektion) auf, die von der realen Eigenbewegung nicht unterschieden werden kann, was wir durch den Nachweis der Konvergenz visueller Information über großflächig bewegte Reize in das vestibuläre System erklären konnten. Wird nun bei großflächiger optokinetischer Reizung der Kopf geneigt, so treten trotz stationärer Position des Probanden taumelnde Schwindelsensationen auf, wie sie bei einer kreuz-gekoppelten Beschleunigung des Bogengangsystems während realer Drehung des Drehstuhls beobachtet werden. Das kann bei der Steuerung eines Flugkörpers zur Gefahr werden.

Neuroforum: Sie haben ja auch die erste Spacelab-Unternehmung begleitet und die Integration visueller und vestibulärer Signale unter den Bedingungen der Schwerelosigkeit analysiert...

Johannes Dichgans: Ja, wir waren beim Start des Space Shuttle Columbia am 28. November 1983 im Kennedy Space Center vor Ort und haben die Untersuchungen von und mit dem deutschen Astronauten Ulf Merbold im All von Houston aus begleitet. Die Ergebnisse wurden gemeinsam mit den Kollegen Berthoz, Brand, von Baumgarten und anderen 1984 in Science publiziert.

Neuroforum: Das ist natürlich eine unvergleichliche Krönung Ihrer Forschungen zur visuo-vestibulären Wechselwirkung. Worum handelte es sich bei Ihrem Projekt mit Emilio Bizzi in Boston, 1971/72?

Johannes Dichgans: Bizzi war zu jener Zeit schon sehr bekannt für seine Einzelzelluntersuchungen an Primaten. Er hatte unter anderem mit Peter Schiller die Aktivität der frontalen Augenfelder in der Großhirnrinde charakterisiert. Mein Projekt bei Bizzi betraf die Mechanismen der Koordination von Augen- und Kopfbewegungen. Es ging um die Rolle der vestibulären Organe und der Propriozeptoren der Nackenmuskulatur in der Anpassung der Sakkadenparameter, bei kombinierten Drehungen von Augen und Kopf. Die Arbeiten wurden in Experimental Brain Research veröffentlicht, damals eine der wichtigsten Zeitschriften für Studien der Okulomotorik.



Neuroforum: In so einem Umfeld war die Versuchung sicher sehr groß, von nun an ausschließlich Forschung zu betreiben...

Johannes Dichgans: Offen gestanden, ich war mir nicht sicher, ob mir diese Spannkraft, diese Faszination und Kreativität, wie ich sie in der Freiburger und Bostoner Zeit erleben durfte, ein ganzes Berufsleben lang zur Verfügung stehen würde. Außerdem war ich eben doch in erster Linie Arzt und als solcher bei der Erforschung der Sensorik immer auf die Zusammenarbeit mit Ingenieuren und Informatikern angewiesen, denn die Sensorik mit ihren komplexen Transformationsprozessen ist am Ende wohl doch eine Domäne für Mathematiker und Systemtheoretiker, so schien es mir jedenfalls in diesem Jahr am MIT. Ich beschloss, zurückzukehren und fortan meinen Schwerpunkt in der Klinik zu setzen, aber ohne die Forschertätigkeit aufzugeben.

Neuroforum: Sie sagten einmal, dass Sie sich als den Gärtner ansahen, der für andere den fruchtbaren Boden für die Forschung bereitet.

Johannes Dichgans: Ja, spätestens als ich mit 39 Jahren die Verantwortung eines Direktors der Neurologischen Universitätsklinik in Tübingen übernahm, war für mich die Zeit der persönlichen Einzelprojektbewältigung vorbei. Ich hatte nun als Gärtner die Beete der anderen zu düngen.

Neuroforum: Das klingt übermäßig bescheiden, bei 373 Publikationen, die Pubmed seit 1978 unter "Dichgans J." listet! Insgesamt sind es ja 419, eine unglaubliche Zahl, zumal darin Ihre zum Teil sehr umfangreichen Handbuchartikel gar nicht enthalten sind. Da interessiert es uns außerordentlich, wie Ihr klinischer Alltag aussah. Fangen wir doch mit Freiburg an.

Johannes Dichgans: Die Neurologie in Freiburg hatte 35 Betten. Jung erwartete von seinen klinischen Mitarbeitern, dass jeder alle Krankengeschichten wirklich präsent hatte. Die täglichen Visiten konnten Stunden dauern, waren von anatomischen und pathophysiologischen Diskussionen durchsetzt und waren entsprechend anstrengend. Die Akutneurologie und Routineversorgung ging eher an andere Orte, bei Jung sammelten sich die seltenen Erkrankungen, auch Erkrankungen, die einer besonders aufwendigen Diagnostik bedurften. Die Klinik wurde deshalb nicht selten als "Institut" oder auch als "trockene Neurologie" bezeichnet, im Unterschied zur "nassen Neurologie", wel-

che sich an der Inneren Medizin anlehnte und eine eher biochemisch ausgerichtete Labordiagnostik betrieb.

Neuroforum: Haben Sie Ihre Klinik in Tübingen nach dem Vorbild des Jungschen "Instituts" geformt?

Johannes Dichgans: Ich habe versucht, den "Freiburger Stil" in Teilen zu reproduzieren. Allerdings hatten wir in Tübingen mehr als die doppelte Bettenzahl, und es gab dort bei meiner Ankunft keinerlei Labor, das Klinikgebäude war marode, und wir hatten zunächst ziemliche Schwierigkeiten mit der Forschungsfinanzierung, da die Fakultät Forschungsmittel immer anteilig zum Klinikbudget vergab. Es war mir bald klar, dass ich meine Vorstellungen von einem aktiven neurowissenschaftlichen Umfeld nur umsetzen konnte, wenn ich mich um unkonventionelle Wege der Forschungs- und auch der Klinikfinanzierung bemühte. In der Klinik wollte ich das Spektrum der Erkrankungen im Interesse der Ausbildung des klinischen Nachwuchses breiter halten als in Freiburg. Kompetitive Forschung schien mir nur durch das Hereinholen von hauptamtlichen Grundlagenforschern und die blockweise zumindest sechs Monate währende Freistellung der Ärzte von klinischer Belastung möglich. Das gelang dann über viele Drittmittelanträge vor allem bei der DFG und über die Schilling- und Hertie-Stiftung, welche im Verlauf der Jahre die Einrichtung mehrerer Professuren mit spezieller Fachkompetenz ermöglichten. Das 2001 gegründete Hertie-Institut für Klinische Hirnforschung besteht gegenwärtig aus vier Abteilungen, die jeweils von Experten für allgemeine Neurologie, kognitive Neurologie, Neurodegeneration und Zellbiologie neurologischer Erkrankungen geleitet werden. Am Ende meiner Zeit in Tübingen (2005) verfügten die Klinik und das Hertie-Institut zusammen über ca. 6 Mill. EUR Drittmittel pro Jahr.

Neuroforum: Sie haben als Senator, dann als Vizepräsident der DFG aber auch innerhalb der Fakultät in Tübingen, nichts unversucht gelassen, die Strukturen der klinischen Forschung und insbesondere der Forschungsfinanzierung zu reformieren. Sind Sie zufrieden mit dem aktuellen Prozedere der Mittelvergabe, und wenn Wünsche offen geblieben sind, was sehen Sie als das größte Hindernis für die Umsetzung eines optimalen Systems der Forschungsförderung an?

Johannes Dichgans: Wir haben uns in Tübingen schon seit langem um etwas be-

müht, was jetzt unter der Abkürzung LOM (leistungsorientierte Mittelvergabe) in vielen Fakultäten üblich geworden ist, wobei über die Kriterien der Leistungsmessung weiterhin gestritten werden kann und sollte. Aber es ist leider nach wie vor so, dass bei außerordentlich unterschiedlicher Leistung in Klinik und Forschung sowohl das Salär der jeweiligen Professoren, als auch die Mittel für die Forschung kaum unterschiedlich ausfallen. Die Tendenz zur „Besitzstandswahrung“ bezüglich des Gesamtbudgets der Kliniken und vor allem die privaten Zusatzeinnahmen der Klinikchefs mit den daraus resultierenden Partikularinteressen sind nach wie vor ein großes Hindernis für die notwendige Reformierung der Personalstruktur und der Forschungsfinanzierung in den Kliniken. Auch an der neurologischen Klinik in Tübingen ist es erst nach 22 Jahren stetiger Reformversuche gelungen, den für flexible klinische und wissenschaftliche Tätigkeit absolut notwendigen gemeinsamen Topf aus dem Haushalt der einzelnen Abteilungen einzurichten. Und ohne das Engagement der privaten Stiftungen, insbesondere der Hertie-Stiftung, wäre es gewiss nicht möglich gewesen, die entsprechenden strukturellen Voraussetzungen in der Organisation der Klinik zu schaffen.

Neuroforum: Die Organisation der neurologischen Klinik in Tübingen hat Vorbildcharakter für ganz Deutschland. Es ist ja wirklich ungewöhnlich, dass ein "Ordinarius" seine Privilegien selbst beschneidet und vier, bald sind es fünf, Departments einrichtet, deren Leiter alternierend als geschäftsführende Direktoren wirken, wie das etwa an einem Max-Planck-Institut üblich ist. Gibt es eigentlich Nachahmer unter den neurologischen Kliniken Deutschlands?

Johannes Dichgans: Ja, zumindest was die Gründung von Abteilungen für experimentelle Neurologie in enger Symbiose mit der Klinik angeht. Da gibt es mit Prof. Dirnagl an der Charité in Berlin und auch in Bonn ähnliche Organisationsformen. Klinische Spezialabteilungen sind noch seltener. Eine Departmentalisierung wie in Tübingen gibt es noch nicht.

Neuroforum: Wie steht es nun um die Frage, ob ein Neurologe in Personaleinheit Kliniker und Forscher sein kann? Uns scheint ja, dass dafür nur starke "Männer für 24 Stunden" in Frage kommen.

Johannes Dichgans: Nein, ein übermüdeten Mensch ist nicht produktiv! Ich habe jedenfalls versucht, meinen Mitarbeitern die so

Spektrum Sachbücher

Bildungsfutter und Lesespaß in einem!

Spektrum
AKADEMISCHER VERLAG
Sachbuch

▶ Wenn die Seele Trauer trägt



1. Aufl. 2008, 184 S.,
6 Abb., geb. mit SU
€ (D) 16,95 /
€ (A) 17,42 / CHF 26,50
ISBN 978-3-8274-2013-8

Thomas Haenel
Depression

„Die Depression kann mit einer in schwarz gekleideten Dame verglichen werden. Wenn sie kommt, so weise sie nicht weg, sondern bitte sie zu Tisch als Gast und höre, was sie Dir zu sagen hat.“ (C.G. Jung). Dieses Bild ist das Motto eines ungewöhnlichen Sachbuchs, in dem Thomas Haenel, über die vielen, teils noch unbekanntes Gesichter der Depression allgemein verständlich berichtet. Haenels Buch lädt zum Zuhören ein und zeigt auf, wie sich Depressionen erkennen und behandeln lassen, und wie man vorbeugen und Rückschläge bewältigen kann. „Ein Übersichtsband, laienverständlich gehalten und immer seriös auf dem aktuellen Forschungsstand.“ ekz-Informationsdienst

▶ Sind wir Menschen zum Töten veranlagt?



1. Aufl. 2008, 285 S., kart.
€ (D) 14,95 /
€ (A) 15,37 / CHF 23,50
ISBN 978-3-8274-2083-1

David M. Buss
Der Mörder in uns

Viele von uns sehen in Mördern krankhafte Außenseiter oder abgebrühte Kriminelle. Doch der renommierte Evolutionspsychologe David Buss hat beunruhigende Nachrichten: Die meisten Morde werden von ganz normalen Menschen begangen. Und der Impuls zu töten stellt keineswegs eine Abnormalität dar – er ist vielmehr evolutionär im menschlichen Gehirn verankert und wartet nur auf Auslöser, die uns erstaunlich vertraut sind. *Der Mörder in uns* fußt auf einem jahrelangen Studium von Kriminalarchiven und auf Untersuchungen in der ganzen Welt.

▶ Wie psychologische Faktoren Heilungsprozesse beeinflussen



Neu

1. Aufl. 2008, 312 S.,
20 Abb., geb. mit SU.
€ (D) 19,95 /
€ (A) 20,50 / CHF 31,–
ISBN 978-3-8274-2033-6

Wolfgang Seidel
Emotionspsychologie im Krankenhaus

Im Rückblick auf seine langen Erfahrungen als Mediziner und Klinikleiter hat der Autor in seinem psychologischen „Leitfaden“ für Ärzte, Pfleger und Patienten zusammengetragen, was emotional im Klinikalltag passiert und was jeder Beteiligte im und am Krankenbett dabei mehr oder weniger bewusst zu Lebensqualität und Heilungserfolg beitragen kann und beiträgt. Anschaulich und praxistauglich erläutert Seidel, wie emotions- und motivationspsychologische Wirkungen von Kommunikation und Entscheidungen eine heilsame menschliche Medizin im Krankenhaus ermöglichen.

▶ Karriereberatung – Ziele, Techniken und Beratungsfallen



Neu

1. Aufl. 2008, 224 S.,
14 Abb., kart.
€ (D) 24,95 /
€ (A) 25,65 / CHF 39,–
ISBN 978-3-8274-1972-9

David Megginson / David Clutterbuck
Coaching und Mentoring

Dieses psychologisch und führungspraktisch kompetente Buch ist ein unverzichtbarer Begleiter für jeden Coach und Mentor, der in der Einzelberatung selbst immer wieder an den Punkt kommt, wo es nicht weiterzugehen scheint und man etwas braucht, das auf die Sprünge hilft. Das Buch ist beste Supervision in gedruckter Form, um Beratungsfallen zu entgehen. Herausforderndes Lesevergnügen für jeden, der im Beruf trainiert oder trainiert wird!
„... eine auch für erfahrene Berater ergiebige Toolbox, die sich durch eine systematische Struktur und gute Lesbarkeit zusätzlich empfiehlt.“
Training aktuell, 5.1.2009

▶ Wie unser Gehirn wirklich funktioniert



Neu

1. Aufl. 2008, 296 S.,
86 Abb., geb. mit SU
€ (D) 24,95 /
€ (A) 25,65 / CHF 39,–
ISBN 978-3-8274-2002-2

Andreas Sentker / Frank Wigger (Hrsg.)
**Schaltstelle Gehirn –
Denken, Erkennen, Handeln**

Werden wir das Gehirn je verstehen? Wissen wir, was wir denken? Können wir unser Fühlen, Wollen und Handeln erklären, indem wir die chemischen und elektrischen Prozesse in den Nervenzellen aufzeichnen und analysieren? Dieser Band der „ZEIT WISSEN Edition“ liefert einen schillernden Statusbericht von der neuro- und kognitionswissenschaftlichen Forschung. In den zahlreichen Beiträgen zeigen Psychologen, Hirnforscher und Biologen auf, was wir heute über die zentrale Schaltstelle Gehirn und ihre Aufgaben wissen – und welche Rolle sie für unser soziales Miteinander spielt. Darüber hinaus ordnen Autoren von ZEIT und ZEIT WISSEN die wissenschaftlichen Positionen in das Gesamtbild ein und machen so Wissenschaft lebendig und erlebbar.

▶ Wie unser Gedächtnis sich selbst austrickst



Neu

1. Aufl. 2009, 268 S.,
100 Abb., geb. m. SU
€ (D) 19,95 /
€ (A) 20,50 / CHF 31,–
ISBN 978-3-8274-1805-0

Sina Kühnel / Hans Markowitsch
Falsche Erinnerungen

Wir haben es mit eigenen Augen gesehen und können uns genau erinnern: an den Unfall oder den ersten Schultag. Die Ampel war grün und die Schultüte blau. Wir können die Bilder aus unserem Gedächtnis abrufen wie aus einem zeitlosen Archiv – und trauen in der Regel unserem Gedächtnis. Aber es gibt Fotos, die eine rote Ampel und eine grüne Schultüte zeigen. Die Sünden des Gedächtnisses – von Vergessen bis Umdeuten von Ereignissen – sind Thema dieses Sachbuches, das an den falschen Erinnerungen die Funktionsweise und den richtigen Gebrauch unseres Gedächtnisses verdeutlicht. Neueste Ergebnisse der Hirnphysiologie, wie etwa der Befund, dass Stress genaues Erinnern stark negativ beeinträchtigt, finden in dieses Buch ebenso Eingang wie Tipps zur Vermeidung von falschen Erinnerungen. Aktuelle Hirnforschung: informativ und unterhaltsam präsentiert!

Erhältlich in jeder Buchhandlung oder direkt beim Verlag:

▶ unter www.spektrum-verlag.de

▶ telefonisch: + 49 6221 345-0

▶ per Post: Springer Verlag Heidelberg

▶ per E-Mail: SDC-bookorder@springer.com

▶ per Fax: + 49 6221 345-4229

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.

Spektrum
AKADEMISCHER VERLAG



genannte Feierabendforschung zu ersparen. Die Ansprüche der Klinik wie auch der Forschung und Lehre sind ja inzwischen so hoch, dass diese nur sequenziell wirklich befriedigt werden können. Klinisch tätigen Neurologen sollte deshalb für intensive Forschungsprojekte eine komplette Freistellung von Klinikpflichten ermöglicht werden, was natürlich nur geht, wenn eine Klinik in der Lage ist, entsprechende Mittel flexibel und leistungsabhängig für Personal, Investitionen oder Verbrauch einzusetzen. Das erfordert eine belastbare Trennung der Mittel für Forschung und Lehre von dem Klinikaversum.

Neuroforum: Welche Empfehlungen geben Sie für die optimale Ausbildung des neurologisch interessierten wissenschaftlichen Nachwuchses?

Johannes Dichgans: Ein junger Mensch, der es ernst meint mit seinem Interesse für die Forschung, sollte nach den besten Arbeitsgruppen auf dem jeweiligen Gebiet Ausschau halten und sich dort vergleichsweise eng an einen Tutor anschließen, der nicht sehr viel älter ist als er selber. Eine qualitätsvolle Promotion mit einschlägigen Publikationen wird ihn danach für einen weiteren Ort der Forschung, vielleicht im Ausland, empfehlen, bevor er/sie dann weitere Erfahrungen in der Klinik sammeln kann, eventuell auch eine Facharztausbildung aufnimmt. Das wird für den jungen Forscher unter Umständen die allerschwierigste Zeit, weil kompetitive Forschung, Aufbau einer eigenständigen Arbeitsgruppe und klinische Tätigkeit verknüpft werden müssen, zumal in dieser Zeit ja auch die Familie Ansprüche stellt. Dieser Weg ist nur bei Verlängerung der Zeit bis zum Facharzt durch dazwischen geschobene Zeiten der Konzentration auf die Wissenschaft möglich.

Neuroforum: Wie haben sie selbst den schweren Spagat zwischen Klinik, Forschung und Familie zustande gebracht? War Ihre Gattin auch berufstätig?

Johannes Dichgans: Meine Frau war promovierte Ärztin, als wir in Freiburg eine Familie gründeten. Aber sie hat sich ganz bewusst gegen den Dauerkonflikt zwischen Beruf und Familie, für die Familie entschieden. Wir haben fünf Kinder und sechs Enkel, das jüngste Kind ist schwer behindert, war aber bis zum 16. Lebensjahr zu Hause, was meine Frau neben den Freuden und Lasten unserer vergleichsweise großen Familie in besonderem Maße in

Anspruch genommen hat. Ich selbst war bei der Geburt der Kinder nicht anwesend, habe nie ein Kind gewickelt, habe die Entwicklung meiner eigenen Kinder nur in Ausschnitten wahrnehmen können. Die Hauptverantwortung für deren Erziehung lag somit bei meiner Frau. Für die älteren heranwachsenden Kinder, und mehr noch jetzt, für meine Enkel, bin ich inzwischen vielleicht ein guter Gesprächspartner, ein verständnisvoller Vater, aber wir lebten schon nach anderen Normen als sie heute für junge Familien üblich sind.

Neuroforum: So ist der Beitrag Ihrer Gattin für das Gelingen Ihres Lebenswerkes nicht hoch genug zu schätzen! Sind die Kinder denn in Ihre Fußstapfen getreten?

Johannes Dichgans: Ja, der älteste Sohn ist ebenfalls Neurologe mit ausgeprägten wissenschaftlichen Interessen.

Neuroforum: Meinen Sie, dass die Kombination klinische Neurologie UND Hirnforschung von Frauen bewältigt werden kann?

Johannes Dichgans: Warum nicht? Es gibt ja auch in Deutschland einige Beispiele. Dennoch glaube ich, dass sich das weibliche Verhalten vom männlichen recht wesentlich unterscheidet. Eine Frau wird sich schwerer mit der Einseitigkeit des Lebens zugunsten des Berufs abfinden wollen, ihr ist vielleicht auch die mit dem Einsatz für die Sache oft notwendige Egozentrik des "getriebenen" Wissenschaftlers eher fremd. Ich bin mir nicht sicher, ob ich es meiner eigenen Tochter wünschen würde, sich eine solche Last aufzubürden, die mit den steigenden Anforderungen an die außerberuflichen Kompetenzfelder ja eher größer als kleiner wird... Gleichzeitig kann ich mir kaum ein reicheres Leben vorstellen als das eines klinisch tätigen und forschenden Arztes, dem eine liebende Familie zur Seite steht (und der hin und wieder auch ein wenig segelt, sich im Garten dem Nachdenken aussetzt oder auch ein graphisches Blatt ersteigern kann, ohne gleich in einen existenziellen Abgrund zu geraten)!

Neuroforum: Herr Dichgans, wir danken Ihnen sehr für die offene Auskunft über Ihre Arbeit und Ihr Leben!

Das Gespräch führte Rosemarie Grantynosemarie Grantyn – Professorin am Institut für Neurophysiologie der Charité Berlin. Sie forscht auf dem Gebiet der Entwicklungsstörungen und neurodegenerativen

Erkrankungen mit dem Schwerpunkt GA-BAerge Hemmung.

Kurzbiografie

Johannes Dichgans wurde 1938 in Wuppertal geboren und wuchs in Überlingen am Bodensee auf. Studium der Medizin in Freiburg im Breisgau und München. Promotion (1962); neurologische Ausbildung und Oberarztstätigkeit (1965-1977) bei R. Jung in Freiburg; Habilitation (1969), Forschungsaufenthalt am Institut für Psychologie des Massachusetts Institute of Technology in Cambridge, USA (1971/72), dort Arbeiten mit E. Bizzi; R. Held und L. Young; Direktor der Neurologischen Universitätsklinik an der Universität Tübingen (1977-2005); Sprecher des Sonderforschungsbereiches 307: Neurobiologie des Verhaltens und seiner pathologischen Abweichungen (1983-1997); Leiter einer klinischen Forschergruppe: Neuroophthalmologie (zusammen mit E. Zrenner 1992-1998); 1. Vorsitzender der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (1999-2000); Senator, Mitglied des Hauptausschusses (1994-1998) und Vizepräsident der Deutschen Forschungsgemeinschaft (1999-2005); Gründung des Hertie-Institutes für Klinische Hirnforschung in Tübingen (2001); Mitglied der Heidelberger Akademie der Wissenschaften und der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina Halle; Auswärtiges Mitglied des Max-Planck-Instituts für Biologische Kybernetik in Tübingen. Johannes Dichgans ist verheiratet, hat fünf Kinder und sechs Enkel.

Fehlende Mitgliederadressen

Von folgenden Mitgliedern fehlt uns die korrekte Anschrift:

Babu, Herr Harish (vormals: Berlin)
Gillen, Dr. Clemens (vormals: Aachen)
Kresse, Wolfgang (vormals: Berlin)
Kunst, Michael (vormals Göttingen)
Linke, Peter (vormals: Berlin)
Moerth, Sascha (vormals: Magdeburg)
Muth, Kathrin (vormals: Wiesbaden)
Siegmond, Anja (vormals: München)
Usnich, Tatiana (vormals: Berlin)
Voitcu, Roxana (vormals: Berlin)

Für Hinweise sind wir dankbar.

Gertrud-Reemtsma-Promovendenpreis

Die Gertrud Reemtsma Stiftung vergibt an hervorragend qualifizierte Kandidatinnen und Kandidaten, die eine Promotionsarbeit auf dem Gebiete der neurologischen Grundlagenforschung beginnen, den Gertrud-Reemtsma-Promovendenpreis. Der Preis ist mit 1.500 Euro pro Monat dotiert und wird für eine Dauer bis zu maximal 3 Jahren vergeben. Für den Fall der Benotung der Promotionsarbeit mit „summa cum laude“ wird zusätzlich eine Prämie von 3.000 Euro gewährt. Wichtigstes Kriterium für die Auswahl ist neben dem Nachweis exzellenter Studienleistungen die Qualität und Originalität des vorgeschlagenen Forschungsprojektes. Entsprechend qualifizierte Kandidatinnen

und Kandidaten können von ihren Betreuerinnen und Betreuern unter Beifügung des Curriculum Vitae, einer Beschreibung des Forschungsprojektes sowie Angaben der geleisteten Vorarbeiten (insgesamt maximal 3 Seiten) nominiert werden. Eigenbewerbungen sind ausgeschlossen. Vorschläge können jährlich bis zum **30. Juni 2009** eingereicht werden an:

Sekretariat der Gertrud Reemtsma Stiftung
Max-Planck-Institut für neurologische Forschung
 Gleueler Str. 50, 50931 Köln
 Tel.: +49 (0)221/4726-212
 E-Mail: rombach@nf.mpg.de

Preis der Dargut und Milena Kemali Stiftung für Klinische und Grundlagenforschung in den Neurowissenschaften

Der siebte, mit 25.000 Euro dotierte internationale Preis der Dargut und Milena Kemali Stiftung wird an Wissenschaftler vergeben, die am 31. Dezember 2008 das 45. Lebensjahr noch nicht vollendet hatten und die einen herausragenden Beitrag zur klinischen oder zur Grundlagenforschung in den Neurowissenschaften geleistet haben.

Die Nominierung sollte folgende Unterlagen enthalten:

- Lebenslauf des Kandidaten mit kompletter Publikationsliste (ohne Abstracts) eine Kopie drei ausgewählter Publikationen des Kandidaten aus den Jahren ab einschließlich 2006
- ein Nominierungs-/Empfehlungsschreiben eines international anerkannten Experten, das die wissenschaftliche Bedeutung des Kandidaten hervorhebt
 - eine max. zweiseitige Zusammenfassung der wissenschaftlichen Leistungen des Kandidaten
 - eine elektronische Version der geforderten Unterlagen in PDF-Format auf CD.

Nominierungen werden erbeten an:

The Dargut and Milena Kemali Foundation
 Riviera di Chiaia 168
 80122 Napoli
 Italy
 Fax: +39-081-7611800
 E-Mail: dmkfneur@tin.it

Einsendeschluß: 15. März 2009 (vor 17.00 Uhr)

Die eingesandten Nominierungen werden vom Preiskomitee der Dargut und Milena Dargut Stiftung begutachtet. Der Preisträger wird im Juli 2009 benachrichtigt. Der Preis wird auf dem FENS Forum 2010 in Amsterdam (3. – 7. Juli 2010) überreicht werden und der Preisträger wird dort einen Vortrag halten.

Neueintritte

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

Becker, Thorsten (Berlin)
 Betz, Torsten (Osnabrück)
 Bodnar, Mandy (Leipzig)
 Bowe, Andrea (Hannover)
 Breimhorst, Markus (Mainz)
 Brukamp, Dr. Kirsten (Osnabrück)
 Daniel, Julia (Magdeburg)
 Eickhoff, René (Hannover)
 Frerix, Sarah (Frankfurt am Main)
 Geurten, Bart R.H. (Bielefeld)
 Giese, Prof. Dr. Martin (Tübingen)
 Grohmann, Marcus (Leipzig)
 Haberlandt, Christian (Bonn)
 Hadar, Frau Ravit (Berlin)
 Huggenberger, Dr. Stefan (Köln)
 Kietzmann, Tim Christian (Osnabrück)
 Kirmse, Dr. Knut (Berlin)
 Klein, Charlotte (Berlin)
 Kletke, Olaf (Bochum)
 Klinke, na (Berlin)
 Knop, Dr. Gabriel (Oldenburg)
 Kotz, PD Dr. Sonja (Leipzig)
 Kutzki, Olaf (Berlin)
 Lichtenecker, Petra (Magdeburg)
 Lieder, Falk (Osnabrück)
 Lindemann, Christoph (Hannover)
 Lison, Holger (Magdeburg)
 Maier, Urban (Freiburg i.Brsg)
 Maier, Dr. Olaf (Stuttgart)
 Malkemper, Pascal (Hemer)
 Meyer, Cora (Bremen)
 Morrison, Dr. Abigail (Saitama, Japan)
 Paquet-Durand, Dr. Francois (Tübingen)
 Potjans, Wibke
 (Wako-Shi, Saitama, Japan)
 Potjans, Tobias
 (Wako-Shi, Saitama, Japan)
 Pramanik, Gopal (Magdeburg)
 Rajendran, Dr. Lawrence (Dresden)
 Rohleder, Karin (Bremen)
 Seidenbecher, Dr. Thomas (Münster)
 Staude, Dr. Benjamin (Freiburg)
 Tiemann, Laura (München)
 Trenado, Carlos (Homburg/Saar)
 Trompelt, Helena (Golm)
 Welpel, Isabell (München)
 Wittlinger, Dr. Matthias
 (Pasadena, USA)
 Ziegler-Himmelreich, Sophie
 (Oberursel)

Der Mitgliedsstand zum 15. Januar 2009 beträgt 1.961 Mitglieder.



Tom Wahlig Advanced Scholarship

Die Tom Wahlig Stiftung wurde 1998 gegründet und fördert neurowissenschaftliche Forschung und die klinische Versorgung im Bereich Hereditäre Spastische Spinalparalyse (HSP).

Anlässlich ihres zehnjährigen Bestehens schreibt sie das mit 100.000 Euro dotierte Stipendium „Tom Wahlig Advanced Scholarship“ für HSP-Forschung aus. Der Preisträger kann eine hervorragende Laufbahn in der neurowissenschaftlichen Forschung mit exzellenten Ergebnissen vorweisen. Die Vorschläge werden von einer inter-

nationalen Jury beurteilt und sollten in einem breiten Ansatz die Entstehung von HSP und die therapeutischen Perspektiven untersuchen.

Folgende Unterlagen werden erbeten:

- ein fünfseitiges Exposé eines drei Jahre dauernden Projektes
- ein vollständiger Lebenslauf
- eine zweiseitige Zusammenfassung der wissenschaftlichen Leistungen und eine Liste der wichtigsten Publikationen.

Die Bewerbungsfrist ist der 30. April 2009.

Bewerbungen bitte per E-Mail an: grant@hsp-info.de

Informationen über die Stiftung sind zu finden unter www.hsp-info.de.

Ergebnisse der Wahl zum Vorstand der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft für die Amtsperiode 2009 – 2011



Zum Stichtag 31. Januar 2009 wurden 696 Wahlzettel eingesandt. Das entspricht einer Wahlbeteiligung von 35,4 %. Davon waren 635 Wahlzettel gültig, 61 mussten als ungültig gewertet werden und sind nicht in das Abstimmungsergebnis eingegangen. Die ordnungsgemäße Durchführung der Wahl wurde vom Wahlleiter, Prof. Dr. Herbert Zimmermann, Frankfurt/M., bestätigt.

Damit setzt sicher der Vorstand der Amtsperiode 2009 - 2011 wie folgt zusammen:

- Präsident:** Prof. Dr. Sigrun Korsching
Vizepräsident: Prof. Dr. Herta Flor
Schatzmeister: Prof. Dr. Andreas Draguhn
Generalsekretär: Prof. Dr. Ulrich Dirnagl
Sektionssprecher
Computational Neurosciences: Prof. Dr. Ad Aertsen
Entwicklungsneurobiologie und Neurogenetik: Prof. Dr. Michael Frotscher
Klinische Neurowissenschaften: Prof. Dr. med. Mathias Bähr
Kognitive Neurowissenschaften: Prof. Dr. Andreas Engel
Molekulare Neurobiologie: Prof. Dr. Eckart Gundelfinger
Neuropharmakologie/-toxikologie: Prof. Dr. Rainer Schwarting
Systemneurobiologie: Prof. Dr. Stefan Treue
Verhaltensneurowissenschaften: Prof. Dr. Monika Stengl
Zelluläre Neurobiologie: Prof. Dr. Hans Hatt

		Ja-Stimmen	Nein-Stimmen
Präsident	Prof. Dr. Sigrun Korsching (Köln)	577	34
Vizepräsident	Prof. Dr. Herta Flor (Mannheim)	550	65
Generalsekretär	Prof. Dr. Ulrich Dirnagl (Berlin)	590	21
Schatzmeister	Prof. Dr. Andreas Draguhn (Heidelberg)	604	11
Sektionssprecher			
Computational Neuroscience	Prof. Dr. Ad Aertsen (Freiburg)	65	
	Prof. Dr. Martin Giese (Tübingen)	26	
Entwicklungsneurobiologie/Neurogenetik	Prof. Dr. Michael Frotscher (Freiburg)	152	
	Prof. Dr. Petra Wahle (Bochum)	38	
Klinische Neurowissenschaften	Prof. Dr. Hans-Peter Hartung (Düsseldorf)	62	
	Prof. Dr. Mathias Bähr (Göttingen)	63	
Kognitive Neurowissenschaften	Prof. Dr. Andreas Engel (Hamburg)	70	
	Prof. Dr. Peter Falkai (Göttingen)	37	
Molekulare Neurobiologie	Prof. Dr. Eckart Gundelfinger (Magdeburg)	163	
	Prof. Dr. Heinz Plate (Frankfurt)	45	
Neuropharmakologie/-toxikologie	Prof. Dr. Rainer Schwarting (Marburg)	40	
	Prof. Dr. Thomas Herdegen (Kiel)	32	
Systemneurobiologie	Prof. Dr. Martin Egelhaaf (Bielefeld)	73	
	Prof. Dr. Stefan Treue (Göttingen)	75	
Verhalten	Prof. Dr. Monika Stengl (Kassel)	82	8
Zelluläre Neurowissenschaften	Prof. Dr. Hanns Hatt (Bochum)	88	
	Prof. Dr. Christine Rose (Düsseldorf)	56	
	Prof. Dr. Thomas Deller (Frankfurt)	78	

Programmübersicht der 8. Göttinger Tagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft vom 25. – 29. März 2009



Wednesday, March 25, 2009

14:00 - 18:30 Satellite Symposium I, Hall 11

Schram Foundation Symposium „From neuron to circuit“

Chair: Hermann Rohrer, Frankfurt/M.

14:00 - 19:00 Workshop, Hall 9

Animal models of neuropsychiatric disorders - The translational value of behavioral tests

Chair: Michael Koch and Eberhard Fuchs, Bremen and Göttingen

Thursday, March 26, 2009

9:00 - 12:00 Symposia I (S1 - S6)

9:00 - 12:00 Symposium 1, Hall 10

The clinical importance of spreading depression in migraine and acute neuronal injury

Chair: Jens Dreier and Rudolf Graf, Berlin and Köln

9:00 - 12:00 Symposium 2, Hall 105

Neural computation by retinal circuits

Chair: Tim Gollisch and Günter Zeck, Martinsried

9:00 - 12:00 Symposium 3, Hall 104

Microglia: the big player in pathology

Chair: Helmut Kettenmann and Knut Biber, Berlin and Groningen (Netherlands)

9:00 - 12:00 Symposium 4, Hall 9

Unraveling the mechanisms of dopamine dysfunctions in neuropsychiatric disorders: from worm to (wo)men

Chair: Anna Katharina Braun and Richard Nass, Magdeburg and Indianapolis (USA)

9:00 - 12:00 Symposium 5, Hall 8

Drosophila senses: genetic dissection of neural circuitry and processing

Chair: André Fiala and Martin Göpfert, Würzburg and Köln

9:00 - 12:00 Symposium 6, Hall 103

Generation of cellular diversity in the forebrain

Chair: Victor Tarabykin and Alexander von Holst, Göttingen and Bochum

12:00 - 13:00 Lunch Break

12:45 - 14:45 Poster Session I: Posters A

12:45 - 13:45 Odd serial numbers

13:45 - 14:45 Even serial numbers

14:45 - 15:00 Opening Ceremony, Hall 11

15:00 - 16:00 Plenary Lecture, Hall 11 (Opening Lecture)

Chair: Mathias Bähr, Göttingen

Peter Jonas, Freiburg

Mechanisms of fast signaling in GABAergic interneurons

16:00 - 18:00 Poster Session II: Posters A

16:00 - 17:00 Odd serial numbers

17:00 - 18:00 Even serial numbers

18:00 - 19:00 Plenary Lecture, Hall 11 (K.J. Zülch Lecture)

Chair: Herbert Jäckle, Göttingen

Christian Elger, Bonn

Epilepsy and its models: progress or wrong track?

19:00 - 20:00 Cold Buffet in the Foyer

20:00 - 21:00 Plenary Lecture, Hall 11

Chair: Niels Birbaumer, Tübingen

Nikos Logothetis, Tübingen

Electrical microstimulation and fMRI

Friday, March 27, 2009

9:00 - 12:00 Symposia II (S 7 - S 12)

9:00 - 12:00 Symposium 7, Hall 105

Spinal cord injury research: From bench to bedside

Chair: Karim Fouad, Alberta (Canada)

9:00 - 12:00 Symposium 8, Hall 9

The fine-scale structure of the cortical network: Implications for its dynamics and function

Chair: Tom Tetzlaff and Birgit Kriener, As (Norway) and Freiburg

9:00 - 12:00 Symposium 9, Hall 10

Neuroplasticity and neuroprotection in neurodegenerative disease: models and mechanisms

Chair: Markus Morawski and

Mussa Youdim, Leipzig and Haifa (Israel)

9:00 - 12:00 Symposium 10, Hall 8

Stress and cognition: From structure to function

Chair: Mathias Schmidt and Michael Größ, München and Magdeburg

9:00 - 12:00 Symposium 11, Hall 104

The arthropod central complex: evolutionary, developmental, genetic and functional aspects

Chair: George Boyan, Martinsried

9:00 - 12:00 Symposium 12, Hall 103

Caught in the net? - Extracellular matrix molecules in synapse formation and plasticity

Chair: Constanze Seidenbecher and

Andreas Faissner, Magdeburg and Bochum

12:00 - 13:00 Lunch Break

12:00 - 13:00 DFG-Seminar, Hall 102

Jan Kunze, DFG

“Starting your research career - DFG funding programmes and application procedures“

13:00 - 15:00 Poster Session III: Posters B

13:00 - 14:00 Odd serial numbers

14:00 - 15:00 Even serial numbers

15:00 - 16:00 Awarding and Lectures, Hall 11

(Schilling Research Award Lecture)

Chair: André Fischer, Göttingen

Lawrence Rajendran, Dresden

Cellular mechanisms underlying β -amyloid generation and its implications for Alzheimer's disease

(Agilent Technologies Prize Lecture)

Chair: Michael Frotscher, Freiburg

Stefan Klöppel, Freiburg

MRI-based diagnosis of neuro-degeneration using support vector machines



16:00 - 18:00 Poster Session IV: Posters B

16:00 - 17:00 Odd serial numbers

17:00 - 18:00 Even serial numbers

18:00 - 19:00 Cold Buffet in the Foyer

19:00 - 20:00 Plenary Lecture, Hall 11
(Roger Eckert Lecture)

Chair: Erwin Neher, Göttingen Peter Fromherz, Munich

Semiconductor chips for neuro-physiology

Saturday, March 28, 2009

9:00 - 12:00 Symposia III (S 13 - S 18)

9:00 - 12:00 Symposium 13, Hall 105
Animal models of psychiatric illnesses: from risk genes to the pathophysiological mechanisms

Chair: Peter Falkai, Göttingen

9:00 - 12:00 Symposium 14, Hall 8
Cellular mechanisms of cortical network oscillations

Chair: Tengis Gloveli, Berlin

9:00 - 12:00 Symposium 15, Hall 10
Mechanics in the nervous system

Chair: Jochen Guck, Andreas Reichenbach, and Dennis Bray, Cambridge (UK) and Leipzig

9:00 - 12:00 Symposium 16, Hall 9
Multicellular representations of spatio-temporal perception and behavior

Chair: Christian Leibold and Martin Paul Nawrot, Martinsried and Berlin

9:00 - 12:00 Symposium 17, Hall 104
Evolution of peptide signalling in the nervous system

Chair: Christian Wegener and Joachim Schachtner, Marburg

9:00 - 12:00 Symposium 18, Hall 103
Autophagic cell death: identification, pathways, and roles in neural development and disease

Chair: Paul Saftig, Andreas Schober and Klaus Unsicker, Kiel and Heidelberg

12:00 - 13:00 Annual General Assembly of the Neurowissenschaftliche Gesellschaft (NWG), Hall 11

Guest: Jan Kunze (DFG)

Funding opportunities - DFG facts and figures

13:00 - 15:00 Poster Session V: Posters C

13:00 - 14:00 Odd serial numbers

14:00 - 15:00 Even serial numbers

15:00 - 16:00 Plenary Lecture, Hall 11
(Ernst Florey Lecture)

Chair: Eckart Gundelfinger, Magdeburg Martin Heisenberg, Würzburg

The fly's self and it's brain

16:00 - 18:00 Poster Session VI: Posters C

16:00 - 17:00 Odd serial numbers

17:00 - 18:00 Even serial numbers

18:00 - 19:00 Cold Buffet in the Foyer

19:00 - 20:00 Plenary Lecture, Hall 11
(Otto Creutzfeldt Lecture)

Chair: Klaus-Peter Hoffmann, Bochum Atsushi Iriki, Saitama (Japan)

Neuroscience of primate intellectual evolution

Sunday, March 29, 2009

9:00 - 12:00 Symposia IV (S 19 - S 24)

9:00 - 12:00 Symposium 19, Hall 8
New insights into Alzheimer's disease: modeling neurodegeneration - causes and consequences

Chair: Thomas Bayer and Oliver Wirths, Göttingen

9:00 - 12:00 Symposium 20, Hall 105
Networks on Chips - Spatial and temporal activity dynamics of functional networks

Chair: Ulrich Egert and Herrmann Wagner, Freiburg and Aachen

9:00 - 12:00 Symposium 21, Hall 104
Plasticity and function of amygdala and fear-circuitry: molecular, cellular and behavioral mechanisms

Chair: Ingrid Ehrlich and Thomas Seidenbecher, Basel (Switzerland) and Münster

9:00 - 12:00 Symposium 22, Hall 10
Goal-directed behavior - The neural basis of planning and choice

Chair: Alexander Gail and Hans Scherberger, Göttingen and Zürich (Switzerland)

9:00 - 12:00 Symposium 23, Hall 103
Restoring retinal vision

Chair: Reto Weiler and Botond Roska, Oldenburg and Basel (Switzerland)

9:00 - 12:00 Symposium 24, Hall 9
Molecular analysis of axonal and dendritic branching

Chair: Fritz Rathjen and Hannes Schmid, Berlin

12:00 - 13:00 Plenary Lecture, Hall 11

Chair: S. Korsching, Bonn Peter Mombaerts, Frankfurt/M.

Olfaction targeted

13:00 Departure

Zur weiteren Information siehe <http://www.nwg-goettingen.de/2009/>.

Stipendien für die Göttinger Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2009

Die Auswahl der Stipendienbewerber für die Göttinger Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft 2009 hat nun stattgefunden. 20 junge Wissenschaftler aus sieben Ländern wurden ausgewählt:

Susanne Bastian (Dresden, Stefan Bittner (Würzburg), Akos Boros (Pecs, Hungary), Monika J. B. Eberhard (Vienna, Austria), Nadja Freund (Bochum), Pia Glöckner (Leipzig), Franziska Greifzu (Jena), Joanna Gruszczynska-Biegala (Warsaw,

Poland), Anna-Maria Hartmann (Oldenburg), Laura Hausmann (Aachen), Sandra Hofer (Bern, Switzerland, Thérèse Kallur (Köln), Juntang Lin (Jena), Agnieszka Nikiforuk (Kraków, Poland), Hanna Regus-Leidig (Erlangen), Andrea Schäfers (Bielefeld), Julia Schuckel (Halifax, Canada), Ole Jan Simon (Würzburg), Miriam Annika Vogt (Mannheim), Ulrike Winkler (Leipzig)

Glückwunsch!



Der Fackellauf des Wissens „Nur Wissen kann Wissen beherrschen: Macht und Verantwortung der Wissenschaft“

Besprochen von Georg W. Kreutzberg, MPI für Neurobiologie, 82152 Martinsried

Wissen entsteht durch Beobachtung und Fragen, gefolgt von Experimenten und deren Interpretation. In die Welt kommt neues Wissen aber erst durch Mitteilung, durch die Weitergabe an die, die wissen wollen. Wer lernen will, der findet seinen Lehrer, wer lehren will der findet seine Schüler. Es ist wie ein Fackellauf: von Hand zu Hand, von Fach zu Fach, von Generation zu Generation und von Land zu Land. So ist Wissen zu einem Teil der sozio-kulturellen Evolution der Menschheit geworden und bestimmt unser Leben in der Wissensgesellschaft. Wie es angefangen hat mit Heraklit, Parmenides und Alkmaion von Kroton und wie es weiterging in dieser „unendlichen Geschichte“ erfahren wir aus einem erstaunlich reichen Werk des Naturphilosophen der Universität Jena Bernd-Olaf Küppers.

In diesem Buch geht es um die philosophische Deutung dessen, was die Wissenschaft im Innersten zusammenhält seit sie im antiken Griechenland erfunden wurde. Inzwischen ist sie zum Motor der Geschichte geworden. Mit ihrer Macht ist auch ihre Verantwortung gewachsen. Ein Rückblick auf die Wurzeln, eine kritische Analyse der Gegenwart und der zeitnahen Vergangenheit sowie eine mutige Vision der Zukunft sind Wege zum Selbstverständnis unseres Tuns, ja unseres Lebens im Prozess der Wissensschöpfung. Unser kluger Führer auf

dieser Wanderung ist jemand der als scharfsinniger Kenner der Naturphilosophie ausgewiesen ist, der aber auch Physiker ist, der viele Jahre in einem der renommiertesten Labors des Landes experimentiert hat. Der Mann weiß wovon er schreibt und so folgen wir ihm mit Spannung durch sieben Kapitel und durch 540 Seiten.

Im Auftaktkapitel geht es um den Beginn der neuzeitlichen Wissenschaft durch Galileo Galilei, durch Francis Bacon und René Descartes. Für die Hirnforschung sollte man noch Andreas Vesalius nennen, der mit seiner „Fabrica“ 1543 das erste wissenschaftliche Werk der Neuzeit schuf, eine epochale Errungenschaft von der Bedeutung der Sixtinischen Kapelle in der Kunst oder der Entdeckung Amerikas. Von Aristoteles Welt- und Naturbild sind uns geblieben „das Buch des Lebens“ als Metapher und die populäre Bewunderung der vollkommenen Harmonie des Wirkungsgefüges der Natur, ein Missverständnis, das sich in der Romantik ebenso wie in der Ideologie Grüner Parteien wieder findet. Auch um dieses Missverständnis geht es in diesem Buch. Wie ein Leitmotiv wird hier schon auf die Rolle der Sprache für unser Weltverständnis verwiesen - nämlich, dass unser Wissen von der Welt prinzipiell die Informationsstruktur von Sprache hat. Dafür „spricht“, dass auch Natur nur verstanden

wird, wenn ihre Sprache z.B. der genetische Code verstanden wird. Jenseits des Broca-Zentrums gibt es noch viele Sprachen, wozu beim Menschen Körper- und Gebärdensprache und die gesamte Mimik gehören. Der diesen Sprachen „entsprechende“ Informationsgehalt ist kontextabhängig (S. 45) und seine Semantik erschließt sich nur über einen Empfänger. Der Ausdruck von Ekel oder Panik z.B. in einem menschlichen Antlitz macht nur Sinn als Information für ein anderes Individuum.

Unser Selbstverständnis von Wissenschaft und auch die Alltagsphilosophie unserer Zeitgenossen sehen Wissenschaft verknüpft mit dem Wahrheitsbegriff: was wissenschaftlich bewiesen ist, gilt als wahr. Zu oft hat sich inzwischen herausgestellt, dass diese Wahrheit eher ergänzungsbedürftig ist und dass Wissenschaft sich meist damit bescheiden muss, belastbare Daten als Teilmengen zu liefern für eine utopische Wahrheit. Über das Wesen des Wahrheitsbegriffs - diesen wahren Irrgarten, indem man sich beständig im Kreise dreht - erfahren wir im zweiten Kapitel viel. Die Geschichte des Denkens, des Zweifels, des Glaubens und des Handelns ist damit verbunden. Hier finden wir eine scharfsinnige und immens kenntnisreiche Darstellung der Denkfallen und Irrtümer, von Erkenntnis und Pseudoerkenntnis, von Rationalismus und Empirismus. Es wird klar, wir haben es mit verschiedenen Wahrheiten - ontologischen, logischen, kontingenten oder pragmatischen - zu tun. Auch die Wissenschaft sieht sich mit einem historischen Prozess konfrontiert und die sich wandelnden Formen der Wahrheit sind der Ausdruck einer stetigen Differenzierung unseres Weltverständnisses. Bleibt am Ende die Frage des Autors unbeantwortet, nämlich: „Ist die Differenz zwischen allen Wahrheiten des Menschen der eigentliche Kern der Wahrheit“? (S. 178)



Ausblick

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

Im gemachten Nest – Struktur und Funktionen neuraler Stammzellnischen
Alexander von Holst und Andreas Faissner

Neuropeptide S: ein neuer Transmitter des Gehirns zur Modulation von Ängstlichkeit und Aufmerksamkeit
Tom Baden, Maja Zorovic und Berthold Hedwig

Neuropeptide S: ein neuer Transmitter des Gehirns zur Modulation von Ängstlichkeit und Aufmerksamkeit
Kai Jüngling, Thomas Seidenbecher, Jorg Lesting und Hans-Christian Pape

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 GmbH)
Sievogtstr. 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
Hammelbacherstr. 30, 69469 Weinheim
Tel./Fax: 06201/29092-0 /-20
E-Mail: info@top-ad-online.de

Satz und Layout:

BIOCOM Projektmanagement GmbH
Brunnenstr. 128, 13355 Berlin
Tel./Fax: 030/264 921-30 /-11

Druck und Auslieferung:

Stürtz GmbH, Würzburg

Abo-Service:

Springer Customer Service Center
Tiergartenstr. 17, 69121 Heidelberg
Tel.: 06221/487-8043
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 55,10, Ausland
EUR 57,20; Firmen, Bibliotheken Inland EUR
99,10, Ausland EUR 101,20; Studenten (bei
Vorlage der Immatrikulationsbescheinigung o.
ä.) Inland EUR 25,10, Ausland EUR 27,10.
Einzelheft Inland EUR 26,75. Alle Preise inkl.
Versandkosten (Abonnement: Inland EUR
10,10, Ausland EUR 12,20; Einzelheft: Inland
EUR 1,75) 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 vorausbezahlter
Bezugsgelder. Gerichtsstand, Erfüllungs- u.
Zahlungsort ist Heidelberg.

Mit René Descartes „Discours de la méthode“, dem Schlüsselwerk neuzeitlicher Wissenschaft, ist die Grundlage zu experimenteller Arbeit gelegt und der Reichtum des naturwissenschaftlichen Versuchs konnte sich entfalten. Das ist die helle, die Tagseite der Wissenschaft. Aber da ist auch eine verschwiegene, eine dunkle Seite - beherrscht von der nicht dominanten Hemisphäre mit meist fehlender sprachlicher Kristallisation. Intuition und Ahnungen, kognitive Gefühle, implizites Wissen um das Schöne und das Einfache. Wohin führt das? Die Kritik fundamentalistischen oder ideologischen Denkens wird hier vorgeführt. Wie später nochmals erfreut die kritische Analyse so einflussreicher Denker wie Gadamer oder Habermas, an anderer Stelle auch der historisch begründbaren romantisch idealisierenden Ideologien Grüner Parteien. Des Autors Fazit (S. 249): „Es ist und bleibt die analytisch-reduktionistische Forschungsmethode die alleinige Grundlage für eine kritische und kontrollfähige Wissenschaft“.

Die Explosion des Wissens und die genutzten Möglichkeiten der Wissensvermittlung zwischen den Fächern lassen deren Grenzen immer mehr verschwinden. So haben sich in den letzten Jahren immer mehr Wege ergeben, Wissen aus bisher trennenden Beschreibungsebenen zu verbinden. Als eine diese Grenzen überwindende, verbindende Disziplin haben sich die Strukturwissenschaften etabliert. Sie erforschen die Denkergerüste, die theoretischen meist mathematischen Grundlagen als „logische Leerform“ möglicher Wissenschaften. Hier haben sich gerade für die Neurowissenschaften mit Neuroinformatik, Netzwerktheorie oder der Theorie der Selbstorganisation komplexer Systeme neue Wege eröffnet.

Das Schlusskapitel ist eine „Warnung vor der Moral“. Es gehört Mut dazu, vor dem Übermaß an Moral basierend auf Unkenntnis und meist widersprüchlicher Glaubensgrundsätze in unserer Gesellschaft zu warnen. Hier spricht die Erfahrung eines in zahlreichen akademischen Sitzungen und Ethikkommissionen erprobten Hochschullehrers, der dort die Bestätigung der Volkswisheit gefunden hat, dass gut gemeint das Gegenteil von gut ist.

Am Ende der 540 Seiten angelangt ist klar, Philosophie ist schöner und auch wichtiger als noch ein Nature-Paper.

Bernd-Olaf Küppers

Nur Wissen kann Wissen beherrschen: Macht und Verantwortung der Wissenschaft
Fackelträger Verlag, 2008 Köln
570 Seiten, ISBN 978-3-7716-4360-7
EUR 32,00

Der perfekte Einstieg in die Neurowissenschaften

www.spektrum-verlag.de



Mark F. Bear / Barry W. Connors / Michael A. Paradiso

Neurowissenschaften

Ein grundlegendes Lehrbuch für Biologie, Medizin und Psychologie

Deutsche Ausgabe herausgegeben von Andreas K. Engel

3. Aufl. 2008, 980 S., 700 Abb., geb.
€ (D) 89,95 / € (A) 92,48 / CHF 140,-
ISBN 978-3-8274-2028-2

- ▶ **Ausgewogene Einführung in die Neurowissenschaften für Biologen, Mediziner und Psychologen**
- ▶ **Von den Grundlagen zu den aktuellen Forschungsthemen**

In den USA zählt diese didaktisch durchdachte, verständlich geschriebene und hervorragend illustrierte Einführung seit Jahren zu den führenden Lehrbüchern im Bereich der Neurowissenschaften. Mit der Übersetzung liegt nun auch im deutschen Sprachraum ein modernes Grundlagenwerk zur Hirnforschung vor, das sich an Studierende der Biologie, der Medizin und der Psychologie gleichermaßen richtet. Der Bogen spannt sich von der Anatomie des Gehirns bis zur Sinnesphysiologie, von der Entwicklungsbiologie bis zum Verhalten, von den Störungen des Nervensystems bis zur Kognitionswissenschaft, von den molekularen Mechanismen bis zu den neuen bildgebenden Verfahren.

Erste Reaktionen:

„Die Faszination der Neurowissenschaften wird vom deutschsprachigen „Bear“ didaktisch hochwertig vermittelt.“

Prof. Dr. Wolfgang Rössler, Universität Würzburg

„Hervorragendes Lehrbuch zum gesamten Stoffgebiet der Neurowissenschaften mit vorbildlicher Didaktik und Illustration.“

Prof. Dr. Kai Vogeley, Klinikum der Universität zu Köln

„Lang erwartet und gelungen.“

Prof. Dr. Bernd Walz, Universität Potsdam

„Eine echte Bereicherung!“

Prof. Dr. Klaus-Peter Hoffmann, Universität Bochum

Bild-DVD, Bear et al., Neurowissenschaften, 3. Aufl.
Diese DVD enthält die ungefähr 700 Abbildungen des Buches im JPEG- und PDF-Format sowie als Power-Point-Folien. Sie können so leicht in Präsentationen eingebaut oder in unterschiedlicher Größe mit oder ohne Legende ausgedruckt werden.

3. Aufl. 2008, DVD
€ (D) 25,- / € (A) 25,21 / CHF 37,-
ISBN 978-3-8274-2075-6



Bequem bestellen:

- ▶ direkt bei www.spektrum-verlag.de
- ▶ telefonisch: + 49 6221 345-0
- ▶ per Post: Springer Verlag Heidelberg
- ▶ per E-Mail: SDC-bookorder@springer.com
- ▶ per Fax: + 49 6221 345-4229
- ▶ 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 CHF-Preis ist eine unverbindliche Preisempfehlung.

Spektrum
AKADEMISCHER VERLAG

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



■ **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