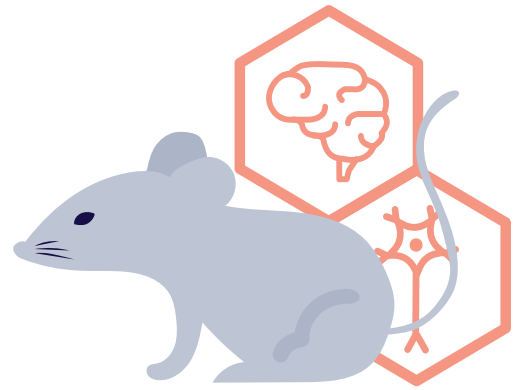


Vertiefung

Fallbeispiel: Chorea Huntington



Zeitaufwand

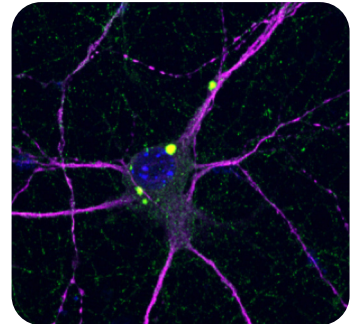
ca. 20 Minuten plus Zeit
für Vorstellung und Diskussion

Vorkenntnisse

- Aufbau der DNA
- Proteinbiosynthese

Die Bedeutung von Maus-Modellen für die Erforschung Neurodegenerativer Krankheiten am Beispiel von Chorea Huntington

Neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer, Parkinson oder Chorea Huntington sind bisher unheilbare, altersbedingte Krankheiten, die mit zunehmender Lebenserwartung der Bevölkerung immer häufiger werden. Ein typisches, gemeinsames Merkmal dieser Erkrankungen ist die Ablagerung fehlgefalteter Proteine, die sich innerhalb von Nervenzellen befinden (sogenannte Einschlusskörperchen) und/oder extrazellulär (sogenannte Plaques). Es wird vermutet, dass diese Ablagerungen eine schädliche Wirkung auf das Gehirn haben und mit dem zunehmenden Absterben der Nervenzellen im Verlauf der Krankheiten zusammenhängen. Die Folge sind Funktionsstörungen des Nervensystems.



© MPI für Neurobiologie

Welche molekularen Mechanismen diesen Vorgängen zugrunde liegen und wie das Absterben der betroffenen Nervenzelltypen die Funktion der neuronalen Schaltkreise beeinflusst, ist jedoch noch weitgehend unbekannt. Das Verständnis der neuronalen Schaltkreise, also der funktionalen Einheiten aus miteinander verbundenen Nervenzellen, ist daher eine wichtige Grundlage für die Erforschung und das bessere Verständnis der Vorgänge dieser Erkrankungen.

Im Fall von Chorea Huntington sind von der Zerstörung vor allem Nervenzellen der sogenannten Stammganglien und der Gehirnrinde betroffen. Die Stammganglien sind große Nervenzellverbände im Inneren der beiden Gehirnhälften. Die Ursache für das Zellsterben liegt in einer Trinukleotid-Erkrankung: Im sogenannten Huntingtin-Gen kommt das Basentriplett CAG in der Durchschnittsbevölkerung 16-20-mal hintereinander vor. Bei Chorea Huntington-Erkrankten kommt das Triplett jedoch 36-250-mal vor. Das Triplett CAG codiert für die Aminosäure Glutamin, die somit in einer deutlich erhöhten Anzahl in dem entsprechenden Protein vorkommt. Dies führt zu einer Fehlfaltung des Proteins, das sich dann im Gehirn ablagert.

Die äußeren Krankheitserscheinungen umfassen Störungen des Gefühlslebens, dem unkoordinierten Ablauf von Bewegungen (weshalb diese Krankheit früher auch als Veitstanz bezeichnet wurde), bis hin zu Demenz. Die meisten Patient:innen versterben zirka 15 Jahre nach Eintreten der Symptome.

Das Forschungsprojekt

Am Max-Planck-Institut für biologische Intelligenz* untersuchen Forscher:innen, welche neuronalen Signalwege und Veränderungen beim Fortschreiten von Chorea Huntington eine Rolle spielen. Das Ziel ist es, die zugrundeliegenden Mechanismen und Zusammenhänge auch auf molekularer Ebene aufzudecken und zu verstehen. Die Rolle der fehlgefalteten Proteinablagerungen und deren Einfluss auf die betroffenen Nervenzellen stehen dabei im Fokus. Ebenfalls werden die zellulären Abwehrmechanismen untersucht, welche an der Beseitigung der Ablagerungen beteiligt sein können. Bei dieser Art der Forschung geht es in erster Linie darum, Wissen zu erweitern und neue Erkenntnisse zu gewinnen. Das Verständnis der grundlegenden Zusammenhänge ist jedoch auch die Voraussetzung dafür, den Weg für klinische Forschung zu bereiten und neue Wege für therapeutische Ansätze zu eröffnen.

Wenn es um Funktionen oder Fehlfunktionen des Gehirns geht, so sind Experimente am lebenden Organismus/Gehirn unersetzlich, da kognitive Funktionen die Leistung des gesamten Gehirns erfordern und nicht nur einiger weniger Nervenzellen. Doch auch mit Hilfe von Zellkulturen können bereits viele Fragen untersucht werden. Wo immer möglich, wird natürlich auf alternative Methoden zurückgegriffen, sodass auch in dieser Forschung ganz unterschiedliche Methoden verwendet werden. Einige werden im Folgenden beschrieben um aufzuzeigen, dass eine Vielzahl von Forschungsansätzen und Methoden notwendig sind, um solch einer komplexen Krankheit näher zu kommen. Viele Methoden setzen den Einsatz von Tieren voraus, sei es direkt oder indirekt. Neben den beschriebenen Ansätzen kommt eine Vielfalt von Techniken zum Einsatz, wie zum Beispiel biochemische, histologische und molekularbiologische Analysen.

Das Maus-Modell

Die Maus (lat. *Mus musculus*) wird unter den Säugetieren am häufigsten als Modellorganismus eingesetzt. 95 Prozent der Gene im Erbgut der Maus besitzt der Mensch in ähnlicher Form. Auch sind die Maus-DNA und die Expression der Gene, sowie die anatomischen Strukturen und die physiologischen Vorgänge im Körper der Maus denen im Menschen sehr ähnlich. Aufgrund dieser Eigenschaften und Möglichkeiten ist die Maus ein sehr geeignetes Modell um Stoffwechselprozesse zu verstehen und Humankrankheiten zu erforschen.



© Max-Planck-Gesellschaft

Die als Labormaus bekannte Maus ist ein Hybrid. Das heißt, das Erbgut der Maus setzt sich aus drei Unterarten der ursprünglichen Hausmaus zusammen. Für verschiedene Forschungszwecke wurden daraus verschiedene Stämme mit jeweils unterschiedlichen Eigenschaften gezüchtet. So eignet sich der Stamm «NMRI» zum Beispiel für verhaltensbiologische Tests. Andere Stämme neigen zu früher Tumor-Bildung und werden daher in der Krebsforschung eingesetzt. Wieder andere Stämmen können zum Beispiel bei Medikamententests gegen epileptische Anfälle eingesetzt werden. Im Forschungsbeispiel zu Chorea Huntington werden Mäuse verwendet, die die Huntington Krankheit bestmöglich nachbilden.

* in Gründung; bis zu seiner offiziellen Gründung wird das Institut rechtlich durch seine Vorläuferinstitute, dem MPI für Neurobiologie in Martinsried und dem MPI für Ornithologie in Seewiesen, vertreten

Angewandte Methoden, bei denen Tiermodelle verwendet werden

Genetisch modifizierte Mäuse

Bei dem beschriebenen Forschungsprojekt zu Chorea Huntington werden unter anderem genetisch modifizierte Mäuse eingesetzt. Darunter versteht man Mäuse, deren Chromosomen verändert oder deren Genen fremde DNA zugefügt wurde. Die fremde DNA kann von einer anderen Maus, einer anderen Tierart oder auch vom Menschen stammen. Da diese Veränderungen meist im Embryonalstadium stattfinden ist die Fremd-DNA dann in der DNA jeder einzelnen Körperzelle vorhanden.

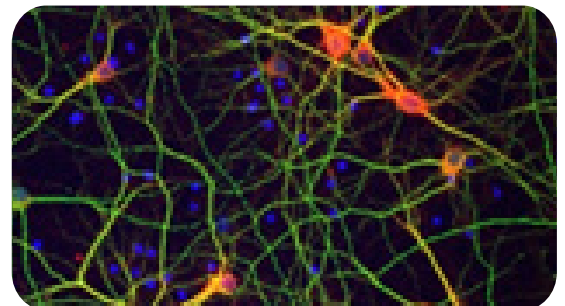
In einem aufwendigen Prozess können genetisch modifizierte Mäuse im sogenannten Knock-out oder Knock-in Verfahren geschaffen werden: Bei den Knock-out Mäusen werden bestimmte Gene auf dem DNA-Strang entfernt oder inaktiviert. Dadurch können Forschende die genaue Funktion eines Gens herausfinden – indem sich zum Beispiel ein verändertes Verhalten oder physiologische Veränderungen zeigen. Beim Knock-in von Genen (dem Einsetzen in einer exakten Position) wird ein Maus-Gen oft durch ein ähnliches Gen beispielsweise aus dem menschlichen Genom ersetzt. Diese genmanipulierten Mäuse können Krankheiten des Menschen nachahmen. Für die Erforschung der Huntington Krankheit werden beispielsweise Knock-In Mäuse mit unterschiedlichen CAG-Triplett-Längen eingesetzt, die dadurch diesen Aspekt der Krankheit entsprechend simulieren können.

Genetisch modifizierte Mäuse können zwar bisher nicht perfekt alle Aspekte der menschlichen Chorea Huntington und anderer Krankheiten reproduzieren. Sie sind jedoch hervorragende Modelle und oft auch die einzigen echten Annäherungen für viele menschliche Erkrankungen, die anderweitig zuvor nicht ausreichend erforscht werden konnten.

Neuronale Zellkulturen

Um im vorliegenden Fall der Huntington Krankheit die Proteinablagerungen oder die von ihnen verursachten Veränderungen auf molekularer Ebene zu erforschen, reichen oft Untersuchungen auf Zellebene aus. Diese werden in Zellkulturen durchgeführt.

Primäre Zellkulturen werden direkt aus frisch isoliertem Gewebe gezüchtet. Auch diese Methode verwendet somit, wenn auch nur indirekt, Modellorganismen. Die Zellen besitzen meist noch die volle Stoffwechsel-Kapazität des Ursprungsorgans bzw. -gewebes, welche sich aber mit der Zeit verändert. Diese Zellkulturen eignen sich dennoch hervorragend für biochemische und molekularbiologische Untersuchungen und führen die Wissenschaftler:innen näher an ein in-vivo Modell heran, also an ein natürliches System. Auch für Arzneimittel-Untersuchungen bieten Zellkulturen eine gute Voraussetzung, weil Substanzen viel schneller als im lebenden Tier getestet werden können.



© MPI für Neurobiologie

Mit Hilfe solcher Zellkulturen konnten die Forschenden einen Wachstumsfaktor identifizieren, der sowohl die Überlebensfähigkeit der primären Huntington-Nervenzellen in der Zellkultur verbessert, als auch die Häufigkeit der Eiweißablagerungen in diesen Zellen verringert. Auf Basis dieser vielversprechenden Zellkulturergebnisse konnten dann weiterführende Experimente mit Huntington-Mäusen durchgeführt werden, wobei der Wachstumsfaktor ins Gehirn eingeschleust wurde. Die so behandelten Mäuse zeigten weniger Ablagerungen im Gehirn, weniger Verhaltensstörungen, und auch eine verlängerte Lebensdauer.

In-vivo-Zweiphotonenmikroskopie

In der traditionellen Durchlichtmikroskopie können nur hauchdünn geschnittene Präparate betrachtet werden, also totes Gewebe. Mit der Zweiphotonenmikroskopie können jedoch auch Strukturen und Aktivitäten *in-vivo*, also im lebenden Organismus, beobachtet werden. Ein direkter Blick ins Gehirn quasi in Echtzeit wird somit möglich. Mit dieser Methode können Forschende durch ein Fenster im Schädel bis zu 1 mm ins Gehirn schauen, statt bisher nur 50-80 µm tief. Das klingt erstmal nicht viel. Doch damit wird die gesamte Hirnrinde der Maus erreicht, die vielleicht interessanteste Schicht des Gehirns. Der Kortex gilt als der Sitz höherer Hirnfunktionen und beherbergt neben Neuronen auch alle Typen von Gliazellen.

Bei der Zweiphotonenmikroskopie rastert ein Laserstrahl einen Gewebebereich Schicht für Schicht ab und bringt darin einen Fluoreszenzfarbstoff zum Leuchten. Ein Computer setzt das abgestrahlte Licht aus jeder Schicht im Anschluss wieder zu einem dreidimensionalen Bild zusammen. Anders als frühere Mikroskope schädigt das Laserlicht des Zwei-Photonen-Mikroskops Nervenzellen nicht.

Mit dieser Mikroskopiemethode werden somit Untersuchungen zur Aktivität neuronaler Schaltkreise und deren pathologische (krankhafte) Veränderungen wie bei der Huntington Krankheit möglich. Die Beobachtungen können im lebenden Organismus, über einen längeren Zeitraum und in einem komplexen Netzwerk durchgeführt werden. Verhaltensbeobachtungen von motorischen und kognitiven Ausfällen können in direkte Beziehung mit Aktivitäten, oder Ausfällen, entsprechender Nervenschaltkreise gebracht werden. Ein Vergleich mit gentechnisch veränderten Mäusen ist ebenfalls möglich.

Weitere Infos zu den Techniken:

<https://www.bi.mpg.de/borst/2P-imaging>

https://www.mpg.de/6825064/mpin_jb_20121

Ausblick

Chorea Huntington lässt sich noch nicht heilen. Es gelingt Forschenden jedoch zunehmend, die Grundlagen dieser Krankheit immer weiter zu verstehen. Dies wird ermöglicht durch die Entwicklung neuartiger Methoden, durch die zum Beispiel die neuronale Aktivität komplexer Nervenzell-Schaltkreise während des natürlichen Verhaltens überwacht und manipuliert werden kann.

Zudem lassen sich jetzt auch auf Einzelzellebene Veränderungen von Genexpressionen und Fehlfaltungen von Proteinen erkennen. Das gewonnene tiefere Verständnis eröffnet die Chance in klinischen Studien verfeinerte Therapien für diese Erkrankung zu entwickeln. Auch kann damit nach neuen Ansätzen gesucht werden, um immer früher in der Entstehung der Erkrankungen einzugreifen. Die Erkenntnisse und neu entwickelten Techniken können vielleicht auch bald auf andere neurodegenerative Krankheiten übertragen werden, bei denen ähnliche Proteinablagerungen eine Rolle spielen. Ein großer Fortschritt bei der Behandlung von Alzheimer oder Parkinson.

