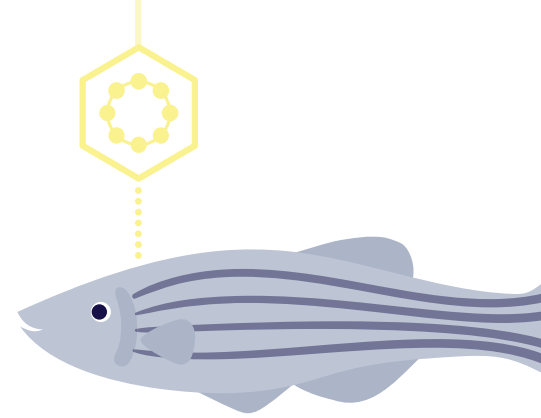


Vertiefung

Fallbeispiel: Arbeitsteilung im Gehirn



Zeitaufwand

ca. 30 Minuten plus Zeit
für Vorstellung und Diskussion

Vorkenntnisse

- Grundlegende Kenntnisse des Nervensystems
- Funktionsweise von Ionenkanälen-Gradienten

Der Zebrafisch (*Danio rerio*) als Modellorganismus für die Erforschung wie neuronale Schaltkreise das Verhalten steuern

Grundlagenforschung erscheint manchmal wie ein Mosaik. Ein einzelner Stein ergibt nicht viel Sinn. Es bedarf vieler kleiner Mosaiksteine, die zusammengefügt werden müssen, damit das eigentliche Bild erkennbar wird. So arbeiten Grundlagen-Forschende auf ganz verschiedenen Ebenen und mit ganz unterschiedlichen Methoden, um das "große Ganze" zu verstehen. Das ist auch bei diesen Forschungsbeispielen so, deren Ziel es ist zu verstehen, wie Gene neuronale Schaltkreise beeinflussen und wie diese Schaltkreise dann Verhalten steuern.

Am Anfang jeder Bewegung, jedes Gefühls und jeder Erinnerung steht die Aktivität von Nervenzellen, die miteinander verknüpft sind. Es ist inzwischen bekannt, dass diese Muster hochspezifisch sind und sich bestimmten Zelltypen zuordnen lassen. Jeder neuronale Typ ist wiederum mit einer begrenzten Zahl anderer Typen verknüpft. Durch die so entstehenden, komplexen Schaltkreise kann neuronale Aktivität – je nach Bedarf – in unterschiedliche Bahnen gelenkt werden, wodurch schließlich ein bestimmtes Verhalten entstehen kann. Doch die Forschenden wollen nicht nur verstehen, wie solche Schaltkreise ein Verhalten steuern können. Sie untersuchen auch die genetischen Grundlagen auf molekularer Ebene, denn diese sind letztlich für den Aufbau, die Ausprägung und auch Veränderungen der Schaltkreise verantwortlich.

Das vergleichsweise einfache Gehirn des Zebrafisches ermöglicht es den Forschenden zu untersuchen, wie Verhalten im Wirbeltiergehirn grundsätzlich gesteuert wird. Diese komplexe Fragestellung lässt sich nur beantworten, wenn der gesamte Organismus betrachtet wird.

Der Zebrafisch als Modellorganismus



© Max-Planck-Gesellschaft

Der Zebraäbrbling oder auch Zebrafisch genannt, gehört ebenso wie der Mensch zur Gruppe der Wirbeltiere. So gibt es auch genetisch viele Gemeinsamkeiten: Rund 70 Prozent der Zebrafisch-Gene kommen in ähnlicher Form auch beim Menschen vor. Über 80 Prozent der bislang bekannten Gene, die beim Menschen am Entstehen von Krankheiten beteiligt sind, gibt es auch im Fisch.

Die Fische verfügen zudem über einen anatomisch ähnlichen Gehirnaufbau wie wir. Sie bringen jedoch den Vorteil mit sich, dass ihr Nervensystem kleiner und genetisch manipulierbar ist. Viele Fragestellungen lassen sich auch deshalb so gut am Zebrafisch untersuchen, weil sich die Eier des Fisches außerhalb des Mutterleibs entwickeln und durchsichtig sind. Dadurch können die Forschenden die Entwicklung der Zellen und Organe gut beobachten, ohne die Embryonen verletzen zu müssen. Des Weiteren sind die aus den Eiern schlüpfenden Larven der Zebrafische ebenfalls transparent, was optischen Zugang zu ihrem Gehirn und damit Hirnforschung mit Einsatz optischer Methoden erlaubt.

Im Folgenden werden einige Methoden vorgestellt, mit denen eine Verhaltenssteuerung im Zebrafisch nachvollziehbar wird.

Angewandte Methoden, bei denen Tiermodelle verwendet werden

Optogenetik

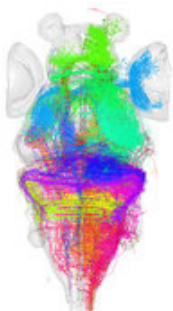
In genetisch entsprechend veränderten Zebrafisch-Larven (siehe Fallbeispiel: Chorea Huntington) können mit Hilfe von Lichtimpulsen einzelne Nervenzellen oder Nervenzell-Netzwerke an- oder abgeschaltet werden. Dies ist beim Zebrafisch *in vivo*, also im lebenden Tier, ohne invasiven Eingriff möglich. In den transparenten Fischlarven können stark fokussierte Laserpulse die entsprechenden Nervenzellen direkt erreichen und so den Fisch quasi optisch fernsteuern.

Bei dieser Technik verändern die Forschenden die Fische so, dass Nervenzellen des Gehirns lichtempfindliche Kanalproteine produzieren. Mit kurzen Lichtpulsen können die Neurowissenschaftler:innen dann die winzigen Kanäle öffnen oder schließen und so die Nervenzellen aktivieren oder "stumm schalten". So kann die Funktion der Zellen untersucht werden.

Während unter natürlichen Bedingungen das Verhalten durch einen entsprechenden Reiz aus der Umgebung ausgelöst wird, ist es jetzt denkbar, dass alleine durch die optische Aktivierung der entsprechenden Nervenzellen dieses Verhalten nachgeahmt werden kann. Die Beteiligung einzelner Zellen an einem Verhaltensmuster kann so gezielt beobachtet und überprüft werden.

Computersimulation

Die computergestützte, mathematische Simulation biologischer Prozesse und Systeme und sorgfältig durchdachte Datenanalysen sind hervorragende Ergänzungen zu Tierversuchen. Ein vollständiger Ersatz sind sie jedoch bisher nicht. Die grundlegenden Daten für eine Computersimulation müssen zunächst einmal erhoben werden – und das geht nur im Tier. Auch lässt das Vorhandensein zum Beispiel einer Verbindung zwischen Nervenzellen noch nicht darauf schließen ob, welche und wie viele Informationen die Zellen untereinander austauschen.



© MPI für biologische Intelligenz

Eine Mammutaufgabe ist das Erstellen eines Zell-Atlases des gesamten Zebrafisch-Gehirns. Mit der Rekonstruktion von über 2000 individuellen Neuronen in einem "Standardgehirn" haben die MPI-Forschenden den Atlas online gestellt. Seitdem haben viele Forschungsgruppen mitgeholfen diese einzigartige Datenbank zu erweitern. Dabei können die Daten der rekonstruierten Nervenzellen mit ganz unterschiedlichen Mikroskopie-Methoden, Fluoreszenzmarkierungen der Zellen und anderen genetischen Werkzeugen erhoben werden. Das Ergebnis ist eine ständig wachsende, interaktive Online-Karte, die Forschenden weltweit dabei hilft zu verstehen, welche Strukturen und Zelltypen welchen Funktionen in einem Wirbeltier zugeordnet werden können.

Weitere Infos:

<https://www.bi.mpg.de/baier/connectome>

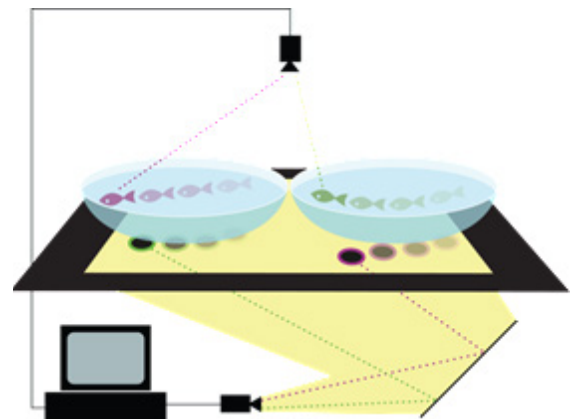
<http://fishatlas.neuro.mpg.de>

<https://www.bi.mpg.de/2019-07-Baier-Kunst/de>

Computergestützte Verhaltensmodulation

Einen Fischschwarm zu beobachten, der aus hunderten, wenn nicht tausenden Fischen besteht, ist ein faszinierendes Schauspiel, bei dem man sich unwillkürlich fragt: Wie schaffen die Fische es, nicht aneinander zu stoßen? Dabei gibt es nur einige wenige grundlegende Regeln, die dieses anmutige Fisch-Ballett auslösen: "Ausweichen, wenn der Nachbar zu nahekommt" oder "Annähern, wenn der Nachbar zu weit entfernt ist". An welchen Merkmalen Tiere solch einen Nachbarn jedoch überhaupt als Artgenossen erkennen, ist weitgehend ungeklärt. Die Forschenden am Max-Planck-Institut für biologische Intelligenz untersuchen diese und andere Schwarm-Verhaltensweisen mit eigens für die Fische gebauten virtuellen Umgebungen.

Schwimmen zwei Fische zusammen, orientieren sie sich aneinander. Doch auf welche visuellen Reize reagieren die Fische dabei? Um diese grundlegende Frage einzugrenzen, ließen die Forschenden zwei voneinander getrennte, freischwimmende Fische über eine Echtzeit-Projektion miteinander interagieren. Die Interaktion erfolgte über einen "Platzhalter", dessen Bewegungen durch die Position des jeweils andern Fisches kontrolliert wurde. Interessanterweise genügte bereits ein einfacher schwarzer Punkt, um das Interesse der Fische zu wecken – aber nur, solange der Punkt durch die Bewegungen des Partners gesteuert wurde, also ein bestimmtes Bewegungsmuster zeigte. Form oder Farbe waren für das Folgeverhalten unnötig. Die Fische folgten dem "Avatar" stundenlang, sofern er nur die für Zebrafische typischen, abwechselnden Schwimmbewegungen und Pausen machte. Wie genau die Fische ihre eigenen Bewegungen mit denen ihrer Artgenossen vergleichen ist jedoch noch völlig unklar.



© MPI für biologische Intelligenz

Über den beschriebenen Aufbau können auch andere soziale und Schwarm-Verhaltensweisen der Fische studiert und manipuliert werden. In Kombination mit anderen Methoden eröffnen solche Versuche spannende Möglichkeiten zu untersuchen, wie das Gehirn visuelle Hinweise definiert und verarbeitet, um darauf aufbauend soziales Verhalten zu steuern.

Weitere Infos: https://www.bi.mpg.de/1948701/research_report_14172628?c=2334068

Ausblick

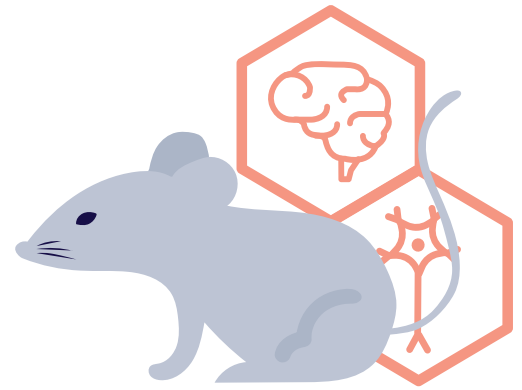
Unsere Sinnesorgane sind hoch spezialisiert um die verschiedenen Reize unserer Umwelt schnell und effizient aufnehmen zu können. Trotzdem ist es das Gehirn das bestimmt, wie die Welt wahrgenommen wird und worauf ein Tier – oder wir – mit welchem Verhalten reagiert. Deshalb ist es wichtig die neuronalen Verbindungen im Gehirn zu verstehen. Unterschiedliche Nervenzelltypen, die miteinander agieren, spielen dabei eine große Rolle.

Mit Hilfe neuester Methoden – und dem richtigen Modellorganismus – können mittlerweile Nervenzellen direkt im Gehirn bei der Arbeit beobachtet werden. Dies ist nicht nur als Momentaufnahme möglich, sondern auch über einen längeren Zeitraum hinweg. Unter diesen Voraussetzungen können die Forschenden jetzt auch tieferliegende Fragestellungen angehen: Was sind die Gehirnbereiche, Zelltypen und Schaltungsmotive, die beispielsweise das Schwarm-Verhalten antreiben? Solche Studien könnten auch für menschliche psychiatrische Erkrankungen interessante Basisdaten liefern. Denn das Erkennen von sozialen Signalen ist eine überlebenswichtige Leistung des Gehirns. Ein Defizit in diesen Prozessen spielt nicht zuletzt bei Erkrankungen wie Autismus oder Schizophrenie eine kritische Rolle, über die wir bislang sehr wenig wissen.



Vertiefung

Fallbeispiel: Chorea Huntington



Zeitaufwand

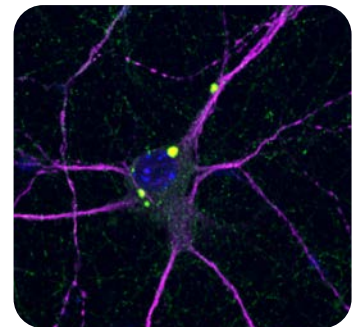
ca. 20 Minuten plus Zeit
für Vorstellung und Diskussion

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 biologische Intelligenz

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.

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.

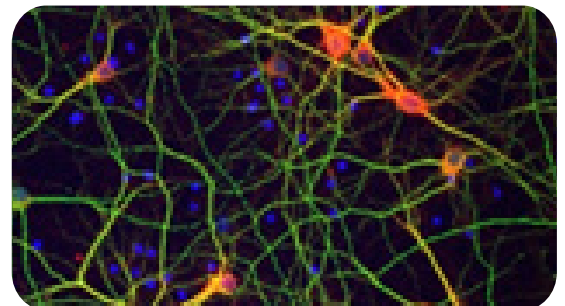
In einem aufwendigen Prozess können genetisch modifizierte Mäuse im sogenannten Knock-out oder Knock-in Verfahren geschaffen werden: Bei den Knock-out Mäusen werden bestimmte Gene auf dem DNA-Strang entfernt oder inaktiviert. Dadurch können Forschende die genaue Funktion eines Gens herausfinden – indem 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 biologische Intelligenz

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 Gewebereich 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.

Vertiefung

Fallbeispiel: Multiple Sklerose



Zeitaufwand

ca. 20 Minuten plus Zeit
für Vorstellung und Diskussion

Vorkenntnisse

keine

Grundlagenforschung mit klinischem Bezug:

Multiple-Sklerose-Forschung – eine Beziehung zwischen Mensch und Maus

Multiple Sklerose (MS) ist eine chronische, bislang nicht heilbare Erkrankung des zentralen Nervensystems. Sie ist weltweit die häufigste Autoimmunerkrankung, von der allein in Deutschland über 100.000 Menschen betroffen sind.

Bei einer Autoimmunerkrankung greifen fehlgeleitete Zellen des Immunsystems körpereigene Zellen an. Bei der MS sind Zellen in Gehirn und Rückenmark das Ziel dieses Angriffs. Im Laufe der Krankheit können so vielfältige, häufig irreversible neurologische Schäden auftreten.

Normalerweise ist das Gehirn durch die Blut-Hirn-Schranke vor Zellen und den meisten kleinen, im Blut zirkulierenden Partikeln geschützt. Aufgrund dieser normalerweise sehr effektiven Trennung zwischen dem zentralen Nervensystem und dem Blutkreislauf war es lange Zeit rätselhaft, wie Immunzellen die Barriere der Blut-Hirn-Schranke durchbrechen können. Doch genau dies geschieht, wie die Martinsrieder Forschenden zeigen und sogar erstmals live beobachten konnten.¹ Sogenannte autoaggressive T-Zellen verlassen bei der MS die Blutgefäße und dringen ins Hirngewebe ein. Einmal in dort angekommen, richten die T-Zellen großen Schaden an: Sie lösen Entzündungsreaktionen aus und greifen Nervenzellen an. Das perfide daran ist, dass potentiell autoaggressive T-Zellen in jedem gesunden Immunsystem vorkommen – doch sie werden nur aggressiv, wenn sie entsprechend aktiviert werden.

Die Multiple Sklerose entsteht somit aufgrund von Veränderungen des Immunsystems und nicht durch Störungen im Nervensystem selbst. Wie und wodurch die Immunzellen jedoch aktiviert und dadurch autoaggressiv werden, ist noch unklar.

¹ https://www.bi.mpg.de/1939523/news_publication_573742_transferred

Das Forschungsprojekt

Die Wissenschaftler:innen an den Max-Planck-Instituten für Biochemie und für biologische Intelligenz erforschen Aspekte zu den Auslösern und dem Verlauf der Multiplen Sklerose. Ob jemand an MS erkrankt hängt zu rund 30% von den Genen der Person ab und zu zirka 70% von ihren Lebensumständen.

So sind mittlerweile mehr als 200 Gene bekannt, die den Menschen für eine MS-Erkrankung empfänglich machen. Neben einer entsprechenden genetischen Veranlagung können Umweltfaktoren wie zum Beispiel Infektionen, Rauchen, Adipositas oder der Lifestyle das Risiko an MS zu erkranken erhöhen.

Neben diesen Umweltfaktoren rücken zunehmend auch die Bakterien der natürlichen Darmflora in den Fokus der Forschung. Die Darmflora ist jedoch von Mensch zu Mensch sehr verschieden, was eine Erforschung der beteiligten Faktoren nicht einfach macht. Zudem besteht das Mikrobiom, die Gesamtheit aller den Darm besiedelnden Mikroorganismen, beim Menschen aus geschätzten 100 Billionen Organismen. Wie kann man herausfinden, ob und welche Organismen dieses Mikrobioms an dem Ausbruch der MS beteiligt sind?

Sind die T-Zellen einmal aktiviert ist noch nicht ganz klar, wie sie es schaffen die Blut-Hirn-Schranke zu durchbrechen und was dann genau im Gehirn passiert. Die Hoffnung der Forschenden ist es, Schritt für Schritt mehr über die Eigenschaften und den Weg dieser aggressiven Zellen im lebenden Organismus zu lernen – Erkenntnisse, die essentiell für eine spätere Entwicklung von Therapien sind. Da die Krankheitsherde jedoch tief im empfindlichen Hirngewebe eingebettet sind, bleiben Untersuchungen auf Ebene einzelner Zellen am lebenden Menschen unerreichbar. Medizinische Hirnscans zeigen vor allem das Ausmaß der Schäden im Gehirn. Doch auch die Diversität der Menschen verhindert aussagekräftige Studien, da keine zwei Menschen wirklich vergleichbar sind.

Noch mehr als andere Zweige der Medizin ist die MS-Forschung daher auf geeignete Tiermodelle angewiesen. Nur so kann die Krankheit und ihr Verlauf dort untersucht und nachgebildet werden, wo sie passiert – auf der Ebene und Interaktion einzelner Zellen im umgebenden Gewebe. Durch den engen Austausch mit klinischer Forschung rücken die Studien zwischen Mensch und Maus in enge Beziehung und können gegenseitig aufeinander aufbauen. Einige der eingesetzten Methoden werden im Folgenden vorgestellt.

Angewandte Methoden, bei denen Tiermodelle verwendet werden

Das Maus-Modell für MS-Studien

Mäuse und, in älteren Studien, Ratten haben als Tiermodelle der Krankheit eine mechanistische Erforschung der MS-Grundlagen erst möglich gemacht. Nur in einem lebenden Organismus, der dem des Menschen ähnlich ist, können die komplexen Beziehungen zwischen Gehirn, Immunsystem und nun auch Darm untersucht werden. Die Maus als Modellorganismus ist näher in Fallbeispiel: Chorea Huntington beschrieben.

So waren es auch Studien an Mäusen, die den ersten Hinweis auf Darmbakterien als Auslöser der Multiplen Sklerose lieferten. Die Forschenden untersuchten ein genetisch verändertes Maus-Modell der Krankheit. (Nähere Informationen zur genetischen Veränderung in Fallbeispiel: Chorea Huntington). Diese Mäuse bilden einen hohen Anteil an autoreaktiven Zellen, die ohne äußeren Einfluss Entzündungsreaktionen im Gehirn der Tiere auslösen – mit einem ähnlichen Verlauf und Ausbildung wie bei der menschlichen Multiplen Sklerose. Im Verlauf der Krankheit zeigt sich das in unseren Breiten typische, schubförmige Muster der menschlichen MS. Erstaunlicherweise jedoch nur, wenn die Tiere eine intakte Darmflora besitzen. Mäuse dieses Modells, die in keimfreier Umgebung ohne Mikroorganismen im Darm aufwachsen und gehalten werden, bleiben gesund. Wenn die keimfrei aufgezogenen Tiere jedoch mit normalen Darm-Mikroorganismen geimpft werden, erkranken auch sie.²



© Max-Planck-Gesellschaft

² https://www.bi.mpg.de/1939894/news_publication_4613890_transferred

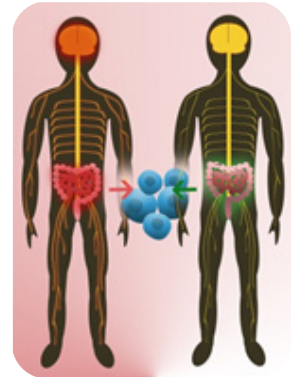
Zwillingsstudie: Vom Mensch zur Maus

Wie bereits erwähnt ist die Darmflora äußerst divers und von Mensch zu Mensch verschieden. Um die Rolle der Darmflora als Auslöser der MS beim Menschen eingrenzen zu können, müssten andere auslösende Faktoren weitgehend gleich sein. Die Forschenden haben daher in einer breit angelegten Studie eineiige Zwillingspaare untersucht, bei denen jeweils ein Zwilling an Multipler Sklerose erkrankt ist, um MS-relevante Unterschiede der Darmflora aufzudecken. So konnte der Einfluss der menschlichen Gene auf die Darmflora bei den paarweisen Vergleichen vernachlässigt werden.

Der Darmflora-Vergleich der Zwillinge zeigte einige interessante, wenn auch subtile Unterschiede. Jedoch sagt das Vorhandensein eines bestimmten Mikroorganismus bei MS-Patienten noch nichts darüber aus, ob dieser tatsächlich eine Funktion bei der Krankheitsentwicklung übernimmt.

Um dies zu untersuchen, impften die Forschenden bis dahin keimfrei gehaltene und somit gesunde Mäuse des MS-Mausmodells mit dem Mikrobiom der Zwillinge. Tatsächlich erkrankten daraufhin ein Großteil der Mäuse, die mit dem Mikrobiom der an MS-erkrankten Zwillingen infiziert wurden.³ Die Untersuchungen zeigten erstmals, dass Bestandteile der Darmflora von MS-Patienten ein Auslöser für Multiple Sklerose beim Menschen sein könnten.

³ <https://www.biochem.mpg.de/5625351/20170911-berer-krishnamoorthy-wekerle>

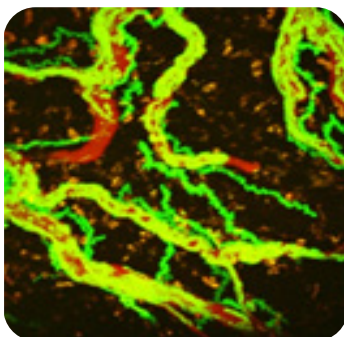


© MPI für Biochemie

Angreifende Zellen live beobachten

Die autoaggressiven T-Zellen, die nach der Impfung mit Darmbakterien die Blut-Hirn-Schranke überwinden, können durch moderne Mikroskopie-Methoden in vivo (im lebenden Organismus) im befallenen Gehirn beobachtet werden.

Um den Weg der autoaggressiven T-Zellen zum und im Gehirn nachvollziehen zu können, müssen die Zellen sichtbar werden und das möglichst auch noch „live“. Dies ist mit neusten Mikroskopiemethoden und der Markierung mit dem Fluoreszenzfarbstoff GFP (Green Fluorescence Protein) tatsächlich möglich. Ursprünglich wurde GFP in einer Tiefseequalle entdeckt. Heute sind GFP und ähnliche Fluoreszenzfarbstoffe ein essentielles Werkzeug der biomedizinischen Forschung und ein weiteres Beispiel dafür, wohin uns wissenschaftliche Neugier bringen kann.



© MPI für biologische Intelligenz

Die Entdeckung des GFP löste eine Forschungsrevolution aus. Für ihre Forschung bringen die Wissenschaftler:innen das Gen, sozusagen die „Bauanleitung“ für GFP, durch Gentransfer in einen anderen Organismus, wie beispielsweise eine Maus, ein. Dessen Zellen können daraufhin das GFP-Protein selbständig herstellen. Auf diese Weise können gezielt einzelne Strukturen, wie zum Beispiel die T-Zellen, zum Leuchten gebracht und damit beobachtbar gemacht werden. Im Laufe der Jahre kamen neue GFP-Farbvarianten hinzu. Durch die Technik der 2-Photonen-Mikroskopie (siehe Fallbeispiel: Chorea Huntington) lassen sich die so markierten Zellen sogar im lebenden Organismus auf ihrem zerstörerischen Weg ins Gehirn beobachten.

Es zeigte sich, dass die T-Zellen die Blut-Hirn-Schranke in mehreren Schritten überwinden. Wie auch andere Zellen ließen sich die meisten vom Blutstrom treiben. Nur vereinzelt blieben die Zellen für kurze Zeit an den Gefäßwänden haften.

Erreichten die T-Zellen jedoch die Gefäße des zentralen Nervensystems, so setzten sie sich in großer Zahl an den Gefäßwänden fest. Ab einem bestimmten Zeitpunkt zeigten die Zellen dann ein für T-Zellen bisher gänzlich unbekanntes Verhalten: Sie bewegten sich aktiv und gegen den Blutstrom entlang der Gefäßwände und einige zwängten sich dann durch die Gefäßwand. Dort traten sie in Kontakt mit sogenannten Fresszellen, die an den Außenwänden der Blutgefäße und auf der Oberfläche des Nervengewebes sitzen.

Dass diese beiden Zelltypen miteinander agieren war bekannt. Dass dies jedoch direkt an der Blut-Hirn-Schranke passiert war völlig neu. Erst nach dem Kontakt mit den Fresszellen begannen die T-Zellen entzündungsfördernde Botenstoffe auszuschütten und so den Angriff auf das Nervensystem einzuleiten. Die Begegnung von T-Zellen und Fresszellen an der Grenze zum Nervengewebe scheint somit ein entscheidendes Signal für den Angriff durch die Immunzellen zu sein.

Weitere Infos:

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

https://www.bi.mpg.de/1948650/research_report_410083

Ausblick

Auch wenn die Ursachen der Multiplen Sklerose noch nicht vollständig verstanden sind, so gibt es inzwischen viele Hinweise, dass der Auslöser wahrscheinlich ein Zusammenspiel von genetischer Veranlagung und Umweltfaktoren ist. Eine Beteiligung des Mikrobioms ist dabei sehr wahrscheinlich. „Wir gehen davon aus, dass die Ernährung über die Darmflora auf die MS einwirkt und so beim Entstehen der Erkrankung und vielleicht auch bei deren Fortschreiten eine Rolle spielt“, so Professor Hartmut Wekerle, Emeritus-Direktor am Max-Planck-Institut für biologische Intelligenz*. Welche Organismen Auslöser sein und ob sich daraus Diagnose- und Therapieverfahren ergeben können bleibt abzuwarten.

Multiple Sklerose wird auch die “Krankheit mit den tausend Gesichtern” genannt und vielleicht wird es so schnell keine Heilung der Krankheit geben. Es gibt jedoch einige vielversprechende Ansätze für Therapien. Aufgrund des oben beschriebenen Tiermodells konnten Forschende in Kalifornien 2006 das Medikament TYSABRI entwickeln, das sehr wirksam bei schubförmiger MS eingesetzt wird.

Studien, die ebenfalls mit Zwillingen durchgeführt wurden, weisen drauf hin, dass MS mit epigenetischen Veränderungen der Immunzellen einhergeht. Die epigenetische Forschung untersucht die Änderungen der Genfunktion, die nicht auf Veränderungen der DNA-Sequenz, etwa durch Mutation oder Rekombination beruhen, und dennoch an Tochterzellen weitergegeben werden. Dies geschieht zum Beispiel durch das Anhängen von Methylgruppen an die DNA. Diese Veränderungen werden tatsächlich auch weitervererbt und können für die Aktivität der Gene von Bedeutung sein. Die Wissenschaftlern:innen stellten fest, dass einige epigenetische Veränderungen durch die Gabe von Medikamenten oder durch bestimmte Lebensumstände entstehen können. Diese Studien zeigen erstmals einen Zusammenhang zwischen epigenetischen Mustern, Krankheit und Therapie.

Ob und welche Ergebnisse aus der Grundlagenforschung auch auf den Menschen übertragbar sind bleibt abzuwarten. Das Beispiel der Multiplen Sklerose Forschung zeigt jedoch, wie eng Grundlagenforschung und klinische Anwendung miteinander verknüpft sein können. Bereits jetzt sind daraus erste Medikamente und Therapieansätze entstanden. Ohne entsprechende Tiermodelle wären solche Studien nicht vorstellbar.⁴

⁴<https://www.mpg.de/10919613/multiple-sklerose-natalizumab>

Beantworten Sie folgende Fragen

- 1** Beschreiben Sie die Ursachen und Folgen von Multipler Sklerose.

- 2** Erläutern Sie stichwortartig die beiden beschriebenen Studien/Methoden.

- 3** Stellen Sie Ihr Fallbeispiel in einem Kurzvortrag der Klasse vor.

- 4** Diskutieren Sie die Notwendigkeit von Modellorganismen für die (neurobiologische) Forschung. Welche Gründe sprechen für und gegen diese Art der Forschung? Bilden Sie dazu eine Pro- und Contra Gruppe.

Vertiefung

Fallbeispiel: Was wir von Singvögeln lernen können



Zeitaufwand

ca. 30 Minuten plus Zeit
für Vorstellung und Diskussion

Vorkenntnisse

Grundlegende Kenntnisse zum Aufbau der Nervenzellen.

Der Zebrafink (*Taeniopygia guttata*) als Modellorganismus zur Erforschung des Spracherwerbs

Ähnlich wie bei uns Menschen müssen in einer Reihe von Tiergruppen Jungtiere ihre komplexen Lautäußerungen erst erlernen. Dazu gehören zum Beispiel Elefanten, Seehunde, Wale und auch Singvögel. Zebrafinken eignen sich daher als Modellorganismus, um an einem etwas "einfacheren" System die (neuronalen) Vorgänge beim Erwerb und dem späteren Abrufen komplexer Lautäußerungen zu untersuchen.

Zebrafinken stammen ursprünglich aus Australien und lassen sich als reine Körnerfresser relativ gut halten. Die Tiere sind gesellig und können in größeren Gruppen in Volieren recht problemlos gezüchtet werden. Bereits nach drei Monaten sind die Jungvögel geschlechtsreif – eine Zeit, zu der die männlichen Vögel ihren Gesang für die Partnerwahl beherrschen sollten.



© MPI für biologische Intelligenz /
Sue Anne Zollinger

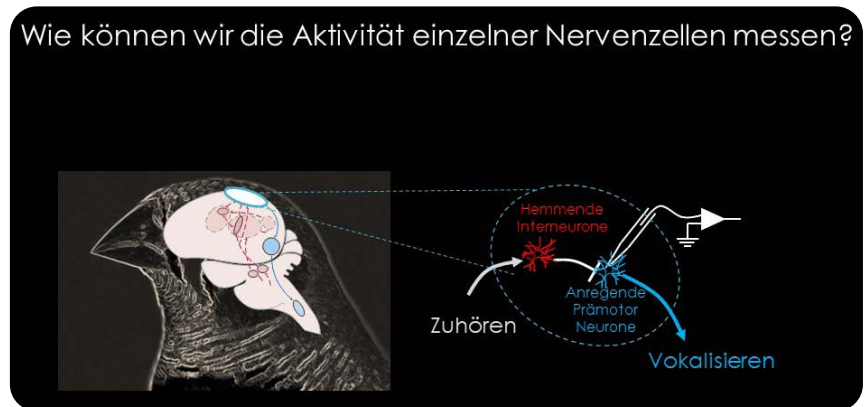
Bei Zebrafinken geben beide Geschlechter Rufe von sich, jedoch nur die Männchen singen. Der Gesang muss gelernt werden, wobei normalerweise der Vater als Tutor dient. Die Lernphase, in der das Gehörte antrainiert werden kann, ist auf die drei Monate nach dem Schlupf der Küken begrenzt. Zebrafinken gehören damit zu den sogenannten "closed-ended-learnern": Nach dieser definierten Phase ist die "Schulzeit" der Jungvögel vorbei und sie singen das bis dahin Gelernte fortan für den Rest ihres Lebens.

Das Forschungsprojekt

Die Forschenden am Max-Planck-Institut für biologische Intelligenz wollen verstehen, wie das Gehirn von Zebrafinken den Gesang erlernt, speichert und wieder abrufen. Dabei gibt es einige Analogien zum Spracherwerb des Menschen. Wie unser Sprachenlernen erfolgt das Gesangslernen bei Zebrafinken über ähnliche Muster im Gehirn.

Das sogenannte Gesangskontrollsystem im Singvogelhirn umfasst mehrere miteinander verknüpfte Gehirnbereiche. So ähnelt das sogenannte caudomediale Nidopallium in seiner Funktion dem Wernicke-Areal beim Menschen, das für das Sprachgedächtnis zuständig ist. Bei Singvögeln ist vor allem eine Gehirnregion namens HVC (higher vocal center) für das Erlernen und die Produktion von Lautäußerungen wichtig. Diese Region, die während des Lernvorgangs aktiviert wird, entspricht dem Broca-Zentrum im menschlichen Gehirn, das für die sprachliche Ausdrucksfähigkeit zuständig ist.

Während bei menschlichen Gehirnen jedoch ein Hirnareal für mehrere Aktivitäten zuständig ist, lassen sich bei Zebrafinken abgrenzbare Bereiche definieren. So ist der oben erwähnte HVC-Kern ausschließlich für das Zuhören und Vokalisieren zuständig. Das bedeutet, dass der Vogel ohne diesen Bereich nicht singen kann. Diese eindeutige Lokalisation einzelner Aufgaben macht die Vögel für die Forschenden zu einem hervorragenden Modellorganismus, um diese Aufgabe zu untersuchen.



Innerhalb dieser Bereiche gibt es zwei Nervenzelltypen. Einmal die anregenden prämotorischen Neuronen, die dafür sorgen, dass der Vogel singt. Zum anderen bestimmte Interneurone, die die Aktivität der prämotorischen Neuronen hemmen können.

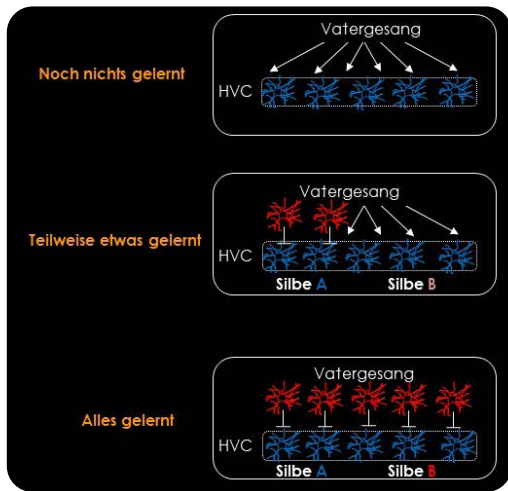
Ziel des Forschungsprojektes ist es auf einzelzellulärer Ebene zu verstehen, wie diese beiden Zelltypen sich gegenseitig beeinflussen und wie sich die Aktivität der Zelltypen auf das Gesangs-Lernverhalten der Zebrafinken auswirkt. Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

- Was verändert sich im Gehirn der Jungtiere während sie zu singen lernen?
- Welche Rolle spielen die hemmenden Neuronen?
- Ist es möglich erwachsenen Tieren noch etwas beizubringen oder die Lernphasen bei jungen Tieren zu beeinflussen, wenn diese Neuronen manipuliert werden?

Verwendete Methoden

Beobachten und Aufzeichnen von Spektrogrammen des Vogelgesangs

Wenn Jungvögel einen Gesang erlernen, hören sie zunächst zu und versuchen dann, das Gehörte zu imitieren. Dabei wird die vorgesungene Abfolge von Gesangssilben im akustischen Gedächtnis der Tiere abgespeichert. Sie dient als Vorlage, mit der der eigene Gesang abgeglichen wird. Auch bei den Vögeln gibt es, vergleichbar mit den Menschen, durchaus schnelle und etwas langsamere Schüler.



© MPI für biologische Intelligenz / D. Vallentin, F. Heim

Die Lautäußerungen können aufgezeichnet und so der Lernfortschritt dokumentiert und verfolgt werden. Um das Lernen mit der Aktivität einzelner Nervenzellen zusammen zu bringen, müssen die Ergebnisse dieser klassischen Methode durch Untersuchungen auf zellulärer Ebene, auf der auch genetische Manipulationen möglich sind, ergänzt werden.

Aktivitätsmessung der Neuronen

Die Forschenden haben vermutet, dass bei Jungtieren allein das aktive Zuhören ausreicht, um die prämotorischen Nervenzellen anzuregen. Im erwachsenen Tier sollten dagegen die hemmenden Interneurone aktiv sein und die Aktivität der prämotorischen Nervenzellen unterbinden. So würde die Fähigkeit noch etwas dazu zu lernen verhindert. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde den Jungvögeln eine isolierte Silbe (A) des Vogelgesangs vorgespielt,

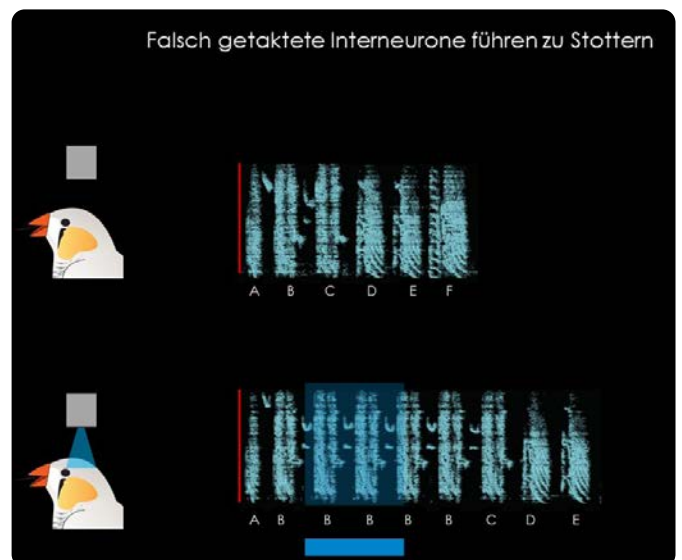
die sie perfekt lernten. Danach wurde eine weitere Silbe (B) integriert. Parallel dazu wurde die Aktivität der beteiligten Nervenzellen durch das Ableiten von Membranpotentialen gemessen.

Die äußere und innere Umgebung von Nervenzellen sind unterschiedlich geladen. Diese Ladungen ändern sich, wenn eine Nervenzelle aktiv ist. Die Membranpotentiale können daher Rückschlüsse auf die Aktivität der jeweiligen Nervenzelle geben (siehe auch Fallbeispiel 2).

Beim Messen der Nervenzellaktivität bestätigte sich, dass die hemmenden Interneurone nur bei der bereits gelernten Silbe (A) aktiv waren. Während des Lernens der neuen Silbe (B) zeigten sie hingegen nur geringere Aktivität. Die Interneurone stellen somit sicher, dass die gelernten Silben und der daraus zusammengesetzte Gesang stabil bleiben. Eine für die Forschenden spannende Frage war nach diesen Ergebnissen natürlich, ob die Lernphase verlängert oder sogar wieder geöffnet werden kann.

Moderne gentechnische Verfahren - Optogenetik

Wie auch schon in den anderen Forschungsbeispielen beschrieben, gibt es inzwischen Möglichkeiten durch genetische Manipulation gezielt einzelne Zellen zu verändern. Im vorliegenden Beispiel wurden die hemmenden Interneurone in den HVC-Kernen so verändert, dass sie auf Licht reagierten. Dabei wurden die Ionen-Kanäle in den Zellen so manipuliert, dass bei blauem Licht elektrische Potentiale in der Zelle ausgelöst wurden. Alternativ kann die Kanalaktivität durch gelbes Licht reduziert werden. Die Nervenzellen lassen sich somit quasi durch Licht "fernsteuern". Mit Hilfe dieser optogenetischen Methode (siehe dazu auch Fallbeispiel: Arbeitsteilung) versuchen die Wissenschaftler:innen zu verstehen, wie solch ein komplexes Verhalten wie das Gesangslernen auf Zellebene gesteuert wird.



© MPI für biologische Intelligenz / D. Vallentin, F. Heim

Als die Forschenden während des Gesangs eines erwachsenen, genetisch modifizierten Vogels blaues Licht einschalteten – und somit die Interneurone aktivierten – zeigte sich, dass der Vogel zwar immer noch die gelernten Silben sang, dabei jedoch quasi aus dem Takt geriet: Er unterbrach seinen Gesang immer wieder nach einer einzigen Wiederholung und begann von vorn. Die Ergebnisse zeigen, dass es möglich ist den Abruf des Gelernten zu beeinflussen. Als nächstes wollen die Forschenden unter anderem untersuchen, ob erwachsene Tiere durch Abschalten der Interneurone neue Silben erlernen können, oder ob die Lernphase bei Jungtieren durch das Aktivieren der Interneurone verkürzt werden kann.

Weitere Informationen:

https://www.bi.mpg.de/1505594/news_publication_14209948_transferred

https://www.bi.mpg.de/1504458/news_publication_14340921_transferred

Ausblick

Zebrafinken erlernen, ähnlich wie der Mensch, ihre grundlegenden Lautäußerungen während einer sensiblen Phase und können dabei aufgrund einer genetischen Disposition arteigene von fremden, sinnlosen Lauten unterscheiden. Sprache ist bei beiden essentiell für soziale Interaktion und Kommunikation.

Sowohl Menschen als auch Singvögel besitzen spezialisierte neuronale Schaltkreise, die für das Hören verantwortlichen Gehirnareale mit den Sprachzentren verbinden. Es ist daher denkbar, dass es auch Parallelen bei der Sprachsteuerung gibt, welche die Kommunikation koordiniert, oder auch zum schlechteren Spracherwerb im höheren Alter führt.

Die bei Zebrafinken als Modellorganismen gewonnenen Erkenntnisse können somit wichtige Grundlagen für ein besseres Verständnis von Kommunikation und den zugrundeliegenden neuronalen Abläufen liefern. Durch die Ähnlichkeit der Systeme können so auch wichtige Einblicke in mögliche Abläufe und Störungen der menschlichen Kommunikation gewonnen werden.

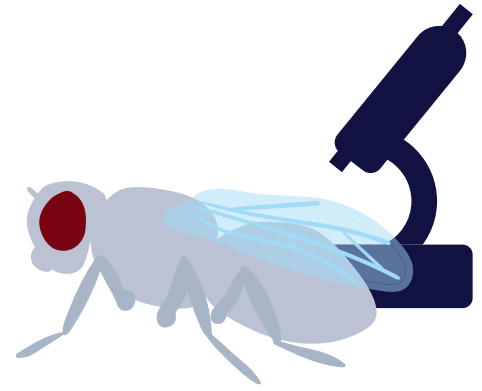
Beantworten Sie folgende Fragen

- 1** Stellen Sie Ihr Fallbeispiel in einem Kurzvortrag der Klasse vor. Welche Forschungsfragen sollen beantwortet werden?
- 2** Erläutern Sie stichwortartig die beschriebenen Methoden.
- 3** In welcher Art und Weise wurden im beschriebenen Beispiel Tierversuche durchgeführt?
- 4** Diskutieren Sie die Notwendigkeit von Modellorganismen für die Grundlagenforschung. Welche Gründe sprechen für und gegen diese Art der Forschung? Bilden Sie dazu eine Pro- und Contra-Gruppe.



Vertiefung

Fallbeispiel: Wie Fliegen sehen



Zeitaufwand

ca. 20 Minuten plus Zeit
für Vorstellung und Diskussion

Vorkenntnisse

- Aufbau der DNA und RNA
- Proteinbiosynthese
- Aufbau von Nervenzellen

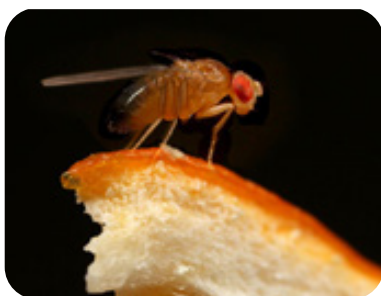
Die Fruchtfliege *Drosophila* als Modellorganismus zur Erforschung neuronaler Informationsverarbeitung

Der Sehsinn ist für den Menschen und auch für viele Tiere einer der wichtigsten Sinne. Die Wahrnehmung einer Bewegung ist ein komplizierter Vorgang, bei dem nicht nur die Augen, sondern vor allem die beteiligten Nervenzellen zum und im Gehirn eine bedeutende Rolle spielen. Um die Vorgänge auf Ebene einzelner Zellen und Schaltkreise verstehen zu können, braucht es einen Modellorganismus, dessen Gehirn visuelle Eindrücke effizient verarbeitet, aber nicht zu komplex ist.

Am Max-Planck-Institut für biologische Intelligenz untersuchen die Wissenschaftler:innen am Modell der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, wie ein Gehirn Informationen verarbeitet. Dabei untersuchen die Forschenden, wie eine visuelle Information der Umwelt, die von den Lichtsinneszellen im Auge nur als punktuelle Helligkeitsänderung wahrgenommen wird, vom Gehirn zum Beispiel in die Bewegung eines Objekts in eine bestimmte Richtung umgerechnet wird. Die dazu nötigen Berechnungen finden sowohl auf Ebene einzelner Nervenzellen als auch auf der Ebene von Zellschaltkreisen statt. Das Zusammenspiel der Zellen und neuronaler Schaltkreise zum Erkennen von Bewegungen kann nur im lebenden Organismus untersucht werden. Dass Fliegen hierfür ein hervorragendes Modell sind wird spätestens dann klar, wenn wir versuchen eine zu fangen.

Im Folgenden werden einige Methoden beschrieben, die faszinierenden Einblicke in die visuelle Welt der Fliegen ermöglichen.

Die Fruchtfliege als Modellorganismus



© Max-Planck-Gesellschaft

Uns fällt sie meist nur auf, wenn sie lästig um den Obstkorb herumfliegt. Für die Wissenschaft hat sie jedoch große Bedeutung: die Frucht- oder Taufliege *Drosophila melanogaster*. Diese Winzlinge sind nur 3 mm groß und ihr Gehirn ist mit rund 220.000 Nervenzellen relativ überschaubar. Aber genau das macht sie so interessant für die Forschung. Denn das Fliegengehirn lässt sich im Vergleich zum menschlichen Gehirn, das aus geschätzten 90 Milliarden Nervenzellen besteht, relativ einfach studieren. Trotz des Unterschieds in der Anzahl der Nervenzellen gibt es verblüffende Parallelen.

Ungefähr 60 Prozent der Fliegen-Gene kommen beim Menschen in ähnlicher Form vor. Zudem finden sich rund 75 Prozent der Gene, die beim Menschen als Ursache einer Erkrankung bekannt sind, auch in ähnlicher Form auch in der Fliege.

Das Erbgut der Fruchtfliege wurde als eines der ersten Organismen vollständig entschlüsselt. Darauf aufbauend entwickelten Forschende immer neue genetische Varianten der Tiere, um an ihnen bestimmte Fragestellungen gezielt untersuchen zu können. Heute gibt es weltweit mehrere zehntausend genetisch veränderte *Drosophila*-Stämme – viel mehr als von jedem anderen Organismus. Dabei gelten Experimente mit *Drosophila* rechtlich gesehen nicht als Tierversuche.

Grundsätzlich schützt das Tierschutzgesetz alle Tiere. Niemand darf einem Tier, egal welcher Art, ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen. Für Wirbeltiere und Kopffüßler (Cephalopoden, z.B. Tintenfische) und Zehnfüßkrebse (Dekapoden, z.B. Hummer und Langusten) sieht das Tierschutzgesetz aufgrund ihres komplexen Nervensystems und der damit verbundenen Fähigkeit Schmerzen und Leid zu empfinden, besondere Schutzmaßnahmen vor. Für diese Tiergruppen müssen tierexperimentelle Vorhaben daher von den zuständigen Behörden genehmigt werden. Auch ihre Halte- und Pflegebedingungen werden staatlich kontrolliert.

Angewandte Methoden, bei denen Tiermodelle verwendet werden

Verhaltensexperimente mit sich bewegenden Fliegen

Das Erkennen von Bewegungen ist selbst im Gehirn einer Fliege noch ein sehr komplexer Vorgang. Dies, und die Winzigkeit des Gehirns, macht die experimentelle Forschung durchaus zur Herausforderung für die Wissenschaftler:innen. Die Forschenden haben den Tieren daher eine Art "Fliegenkino" gebaut, in dem sie den Tieren verschiedene, bewegte Muster vorspielen können. Die am Rücken fixierten Fliegen können währenddessen mit den Beinen einen kleinen Ball bewegen. Mit entsprechenden Kameras können die Wissenschaftler:innen mögliche Reaktionen der Fliegen auf die verschiedenen Muster beobachten und auswerten. Eine mögliche Bewegungsreaktion auf die bewegten Muster ist die optomotorische Reaktion, mit der die Fliegen zum Beispiel ein Abdriften vom Kurs durch eine Windböe ausgleichen können.¹



© Max-Planck-Gesellschaft

In genetisch veränderten Fliegen können bestimmte Neurone im Bereich der visuellen Verarbeitung zum Beispiel durch Änderung der Raumtemperatur an- oder abgeschaltet werden. Dies kann zu Veränderungen im Verhalten führen, die dann wiederum Rückschlüsse darauf geben, was die Tiere wahrnehmen und welche Nervenzellen und Schaltkreise beteiligten sein können. Die Kombination aus Verhaltensbeobachtungen und Neurogenetik, also der Verwendung genetisch veränderter Organismen, bietet somit eine Möglichkeit für nicht-invasive Manipulationen und Untersuchungen sowohl auf Zellebene als auch in komplexen Schaltkreisen. So kann beispielsweise das Zusammenspiel der verschiedenen Nervenzellen eines Schaltkreises näher analysiert werden.

¹ Von der Wahrnehmung zur Verhaltensänderung: <https://www.bi.mpg.de/optischerfluss>

Ein Beispiel aus der Forschung: Relative Wahrnehmung der Welt (https://www.bi.mpg.de/1939847/news_publication_9766868_transferred)

Elektrophysiologie

Nervenzellen kommunizieren mit Hilfe von elektrischen Signalen, hervorgerufen durch selektive Ionenströme durch die Zellmembran. Basierend auf dieser Beobachtung entstand Anfang des 20. Jahrhunderts die Disziplin der Elektrophysiologie. Hierbei können mithilfe von Elektroden Ströme direkt im Gehirn untersucht werden. Spannungsänderungen wurden zunächst außerhalb der Zellen (extrazellulär) mit Hilfe von Wolfram-Elektroden gemessen. Mit Entwicklung winziger (Glas)Elektroden konnten auch Signale aus dem Inneren einzelner Nervenzellen (intrazellulär) ausgelesen werden.

Neben vielen Erkenntnissen zur Funktionsweise der Nervenzellen konnten Pioniere der Elektrophysiologie zeigen, dass die im Elektroenzephalogramm (EEG) beobachteten Signale auf der Kopfhaut ihren Ursprung in der elektrischen Aktivität vieler Nervenzellen der Hirnrinde haben. Mit Hilfe der später entwickelten Patch-Clamp-Methode konnte der Strom dann ganz lokal an der Membran lebender Zellen gemessen werden (für die Entwicklung der Methode erhielten Erwin Neher und Bert Sakmann im Jahr 1991 den Nobelpreis). Die dazu angesetzten Elektroden messen die elektrischen Impulse sehr isoliert, sogar bis hin zu einzelnen Ionen-Kanälen. Heute ist die Technik eine der wichtigsten neurophysiologischen Arbeitsmethoden und ermöglicht es die Aktivität einzelner Zellen mit einer Genauigkeit von weniger als einer Millisekunde selbst im Gehirn von Fruchtfliegen zu messen. So können die Reaktionen einzelner Nervenzellen im visuellen System der Fliege auf unterschiedliche visuelle Reize untersucht werden.

Diese klassische Technik kann jetzt mit Methoden der Gentechnik kombiniert werden. So können zum Beispiel einzelne Nervenzellen oder Gene „stummgeschaltet“ werden. Mit elektrophysiologischen Methoden kann dann bestimmt werden, ob und worauf diese oder benachbarte Nervenzellen noch reagieren. So können Rückschlüsse auf die Funktion und Aufgaben der betroffenen Gene und Nervenzellen für einen Bewegungsablauf gezogen werden.

Molekulare Charakterisierung

Heute steht der Forschung eine Vielzahl molekularer Werkzeuge zur Verfügung. Einige werden hier exemplarisch beschrieben.

RNA-Sequenzierung

Die RNA² stellt den Vermittler zwischen der DNA und den Proteinen während der Proteinbiosynthese dar. Sie ist damit ein Ausdruck, welche Gene in einer bestimmten Zelle tatsächlich abgelesen und damit in Information übersetzt wird. Die RNA-Sequenzierungen, also die Bestimmung der Nukleotid-Abfolge der RNA, ist die Voraussetzung für weitergehende Analysen. Diese Technik wurde aus der ursprünglichen Technik zur Analyse der DNA weiterentwickelt.

Transkriptionsanalyse

Bei der Fruchtfliege können die Forschenden inzwischen mehrere Nervenzellkategorien unterscheiden, die an der Wahrnehmung von Bewegung maßgeblich beteiligt sind. Die T4- und T5-Neuronen spielen dabei eine besondere Rolle. Die eine Gruppe (T4-Zellen) reagiert nur auf einen bewegten Übergang von dunkel zu hell, die andere Gruppe (T5-Zellen) wird umgekehrt nur bei Hell-Dunkel-Kanten aktiv. Innerhalb jeder Gruppe gibt es vier Untergruppen, die jeweils nur auf Bewegungen in eine bestimmte Richtung ansprechen – nach rechts, links, aufwärts oder abwärts. Was die Wissenschaftler:innen besonders interessiert ist die Lage und Verteilung von Synapsen in diesen Zellen.

² <https://www.max-wissen.de/max-hefte/biomax-25-ribosom/>

Dies ermöglicht Aussagen über die Verrechnung der Signale der untersuchten Zellen. Die Technik der Transkriptionsanalyse kann hier weiterhelfen. Dabei wird die Gesamtheit aller in eine RNA-Sequenz übersetzten Informationen analysiert. Bei der Untersuchung von fünf verschiedenen Stadien der Puppenentwicklung der Fliege fanden die Forschenden beispielsweise, dass die vier anatomisch unterschiedlichen T4/T5-Untergruppen während der Entwicklung ein eindeutiges, jeweils typisches Transkriptionsprofil aufweisen. So lassen sich die jeweiligen T4/T5-Untergruppen definieren und deren Rolle bei der Entwicklung ihrer typspezifischen Morphologien untersuchen.

Überexpression

Eine künstliche Überexpression bestimmter Gene (also die verstärkte Bildung des Gens) führt zu einer erhöhten Synthese des Proteins, das durch dieses Gen codiert wird. Die Idee ist, zu schauen was passiert, wenn ein Protein in einer zu großen Menge vorhanden ist. Dadurch kann die Eigenschaft des überexprimierten Proteins und sein Einfluss auf den Organismus analysiert werden.

Ausblick

Ein Verständnis für die neuronalen Zusammenhänge des visuellen Sinns zu bekommen, befriedigt nicht nur die Neugier von Wissenschaftlern:innen. Es liefert uns wichtige Einblicke, wie sich bewegungssensible Schaltkreise entwickelt haben und wie sie funktionieren. Darauf aufbauend können weitere weiterführende Studien geplant werden.

Für die Fragestellungen müssen neue Techniken gefunden oder etablierte Methoden weiterentwickelt werden. Leistungsstarke, genetische Werkzeuge wie das An- und Abschalten einzelner Gene, die für *Drosophila* verfügbar sind, beim Menschen jedoch aus ethischen Gründen nicht angewendet werden können, helfen die molekularen Grundlagen besser zu verstehen.

Bei dem beschriebenen Forschungsbereich handelt es sich um „klassische Grundlagenforschung“. Die Ergebnisse sind jedoch auch für den Menschen interessant, denn so groß ist der Unterschied zwischen Mensch und Fruchtfliege gar nicht. Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass Fruchtfliegen optische Informationen ganz ähnlich verarbeiten, wie alle bisher untersuchten Wirbeltiere.

In welche Richtung kann diese Forschung führen? Neben einem grundsätzlichen Verständnis, wie Informationsverarbeitung in Nervenzellen funktioniert, kann das Wissen zu den Vorgängen beim Bewegungssehen zum Beispiel auch bei technischen Entwicklungen nützlich sein.

