

D

G

S

T

A

A

N

N

E

E

S

E

D

E

E

Z

N

L

DAS GANZE UND SEINE TEILE

GEGEN DAS GROSSE VERGESSEN

JOCHEN KUHSE

Weltweit leiden rund 45 Millionen Menschen an „Alzheimer“, einer schweren Erkrankung, bei der Nervenzellen zugrunde gehen, weil sich giftige Spaltprodukte von Proteinen im Gehirn ablagern. Die Alzheimer-Forschung hat auf Teilgebieten enorme Fortschritte erzielt, dennoch gibt es bis heute keine ursächliche Therapie. Das Zusammenführen der Einzel-erkenntnisse zu einem großen Ganzen könnte womöglich den Durchbruch erbringen.

D

Das Aufspalten eines Ganzen in seine Teile ist die Methode der reduktionistischen Wissenschaft: Das Ganze soll begriffen werden, indem man seine Teile isoliert untersucht und in ihren Funktionen versteht. In den gesamten Lebenswissenschaften ist dies das klassische Vorgehen. Auch wir in der Abteilung „Medizinische Zellbiologie“ des Anatomischen Instituts der Universität Heidelberg arbeiten an den Teilen eines Ganzen: Wir versuchen, die Alzheimer-Demenz zu verstehen, indem wir Proteine von Nervenzellen untersuchen und erkunden, wie sie zu der schweren Demenzerkrankung beitragen. Auch andere Forschungsgruppen weltweit verfolgen einen derart reduktionistischen Ansatz.

Das hat zu vielen verschiedenen Theorien geführt, die das Entstehen von Alzheimer aus dem jeweiligen Forschungsblickwinkel erklären. Eine zentrale Aufgabe der Alzheimer-Forschung wird es künftig sein, einen erweiterten Ansatz zu finden, um der Komplexität der Erkrankung gerecht zu werden und sie insgesamt zu erfassen – ganz im Sinne des Philosophen Nikolaus von Kues (1401 bis 1464), einst Student der Universität Heidelberg und einer der ersten deutschen Humanisten, der das Zusammenführen der Vielfältigkeit als eigentlichen Weg zur Erkenntnis betrachtete. Gerade in der Alzheimer-Forschung gilt es, neue Methoden zu finden, um einzelne Erkenntnisse miteinander zu verknüpfen und Strukturen zu organisieren, die alle wichtigen Aspekte miteinander verbinden lassen. Das ist von großer Bedeutung, auch im Hinblick auf eine effektive Behandlung, gibt es doch trotz einer jahrzehntelangen intensiven Alzheimer-Forschung, die auf einzelnen Teilgebieten enorme Fortschritte erzielen konnte, noch immer keine ursächliche Therapie.

Eine Erkrankung namens Alzheimer

Weltweit sind derzeit bis zu 45 Millionen Menschen von der Alzheimer-Demenz betroffen, viele Studien prognostizieren eine weitere dramatische Zunahme. Eine der Hypothesen zum Entstehen des schweren Leidens ist die „Amyloid-beta-Kaskaden-Hypothese“. Sie besagt, dass sich „Amyloid beta“, ein kleines toxisches Proteinfragment, im Gehirn ansammelt und Nervenzellen absterben lässt. Amyloid beta ist das Spaltprodukt eines größeren Proteins, das natürlicherweise die Membran von Nervenzellen

durchspannt und Amyloid-Vorläuferprotein, kurz APP, genannt wird.

Folgerichtig war es ein Ziel vieler klinischer Studien, die Konzentration von Amyloid beta im Gehirn mit geeigneten Wirkstoffen zu reduzieren. Erprobt wurden beispielsweise Antikörper, die sich gezielt gegen das giftige Proteinfragment richten, Enzyme und diverse Hemmstoffe. Keiner dieser Therapieansätze hat jedoch bislang zu einem überzeugenden Erfolg geführt. Warum das so ist, wird in der Wissenschaft intensiv diskutiert; eine Erklärung lautet, dass die Behandlung zu spät erfolgt: Die Erkrankung beginnt schleichend, etwa zehn bis 20 Jahre, bevor sie sich mit ersten Symptomen bemerkbar macht. Deshalb müsse auch die Therapie zu einem sehr viel früheren Zeitpunkt beginnen.

Auf das frühe Entstehen nimmt die „Synapsenfehlfunktion-Hypothese“ Bezug. Sie nimmt an, dass es zur Alzheimer-Demenz kommt, weil sich Synapsen – die Kontaktstellen zwischen zwei Nervenzellen (Neuronen) – zu einem frühen Zeitpunkt verändern. An den chemischen Synapsen des Nervensystems werden natürlicherweise Signale mithilfe von Botenstoffen (Neurotransmittern) von einer Nervenzelle zur nächsten übertragen. Die Wirkung der Botenstoffe kann erregend (exzitatorisch) oder hemmend (inhibitorisch) sein, weshalb man auch von erregenden und hemmenden Synapsen spricht.

Bei der Ausarbeitung der Synapsenfehlfunktion-Hypothese konzentrierte sich die Forschung zunächst auf die erregenden Synapsen des Gehirns. Doch auch die fehlerhafte Funktion inhibitorischer Synapsen ist von Bedeutung; sie wird etwa für das Zustandekommen epileptischer Erkrankungen verantwortlich gemacht. Bei unseren wissenschaftlichen Arbeiten sind wir davon ausgegangen, dass Veränderungen der inhibitorischen Synapsen womöglich auch zum Entstehen der Alzheimer-Demenz beitragen könnten. Um diese Annahme zu prüfen, haben wir im Tiermodell – der Alzheimer-Demenz-Maus-Linie APP-PS1 – Proteine untersucht, die am Aufbau inhibitorischer Synapsen beteiligt sind. APP-PS1-Mäuse sind genetisch gezielt verändert; aufgrund dessen wird Amyloid beta vermehrt gebildet und es entstehen im Gehirn der Tiere die für die Alzheimer-Demenz charakteristischen, auch in menschlichen Gehirnen zu findenden Ablagerungen (Plaques), deren Hauptbestandteil Amyloid beta ist. Wie Verhaltenstests zeigen, geht dies auch bei den Tieren mit einer verminderten Gedächtnisleistung einher.

Frühe Veränderungen

Unsere Untersuchungen mit APP-PS1-Mäusen ergaben, dass die Synthese von Proteinen inhibitorischer Synapsen gestört ist. Wie wir zeigen konnten, wird von den inhibitorischen Synapsen zunächst ein Schlüsselprotein,

„Gephyrin“, vermehrt gebildet und stärker phosphoryliert. Dies geschieht zu einem frühen Zeitpunkt, wenn die APP-PS1-Mäuse noch keine Symptome zeigen. Auch die Konzentration des für die Phosphorylierung verantwortlichen Enzyms, die Proteinkinase CDK5/p35, erwies sich als erhöht. Bei älteren APP-PS1-Mäusen hingegen mit ausgeprägten Symptomen und starker Plaque-Bildung waren Gephyrin und andere Schlüsselproteine deutlich reduziert; deutlich erhöht indes waren spezifische Gephyrin-Spaltprodukte. Ähnliche Veränderungen sind auch im Gehirn von Alzheimer-Patienten nachgewiesen worden. Unseren Befunden nach könnte der frühe Nachweis von Veränderungen der inhibitorischen Synapsen ein prognostischer Marker für das Entstehen der Alzheimer-Demenz sein.

Die Bildung von Gephyrin – das ist von anderen Geweben bekannt – kann von „Artemisininen“ beeinflusst werden. Dabei handelt es sich um eine Gruppe pflanzlicher Wirkstoffe, die aus der traditionellen chinesischen Medizin als entzündungshemmend bekannt sind. Als wir APP-PS1-Mäuse mit Artemisinin behandelten, zeigte sich, dass damit die Reduktion von Proteinen inhibitorischer Synapsen verhindert werden konnte. Unsere Untersuchungen lassen zudem darauf schließen, dass sich mit der Artemisinin-Gabe auch die vermehrte Bildung von APP-Spaltprodukten unterdrücken lässt, dementsprechend weniger toxisches Amyloid beta entsteht und desto weniger Plaques im Gehirn der mit Artemisinin behandelten Mäuse auftreten.

Damit bestätigten wir die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, die gezeigt haben, dass Artemisinine die kognitiven Fähigkeiten der Versuchsmäuse verbessern. Aufgrund dieser Befunde werden Artemisinine als aussichtsreiche Wirkstoffkandidaten für die Behandlung von Alzheimer-Patienten vorgeschlagen. Da diese Substanzen von der Weltgesundheitsorganisation WHO bereits als Anti-Malaria-Medikamente zugelassen sind und in klinischen Studien zur Behandlung von Krebs- und Covid-19-Patienten eingesetzt wurden, wäre es von Interesse, die von uns beschriebene Reduktion toxischer Spaltprodukte des APP-Eiweißes und toxischer Ablagerungen in weiteren Tiermodellen zu bestätigen.

Um die potenzielle therapeutische Bedeutung der Artemisinine noch besser beurteilen zu können, müssten an den Mäusen beispielsweise unter der Behandlung die Erregungsübertragung sowie Lernvorgänge untersucht werden. Aufschlussreich wäre es auch, andere wichtige Zellbestandteile zu betrachten, etwa die Rolle, die das Botenmolekül mRNA (messenger ribonucleic acid = Boten-Ribonukleinsäure) spielt. Wie alle anderen Proteine wird auch das Amyloid-Vorläuferprotein APP in der Zelle unter Mitwirkung der linearen Boten-Ribonukleinsäure hergestellt. Es gibt jedoch auch zirkuläre Ribonukleinsäuren

„Wir versuchen, Alzheimer zu verstehen, indem wir Proteine von Nervenzellen untersuchen und erkunden, wie sie zu der schweren Demenzerkrankung beitragen.“

„In der Alzheimer-Forschung gilt es, neue Methoden zu finden, um einzelne Erkenntnisse miteinander zu verknüpfen und Strukturen zu organisieren, die alle wichtigen Aspekte miteinander verbinden lassen.“

(cRNA) und besonders kleine Varianten, sogenannte Micro-RNAs. Sie bestimmen darüber, in welchem Umfang die Zelle Proteine synthetisiert. Zirkuläre Ribonukleinsäuren und Micro-RNAs wurden erst vor wenigen Jahren entdeckt; sie sind Teil einer komplexen, hierarchisch organisierten Netzwerkstruktur in der Zelle. Störungen dieses Netzwerks werden von einigen Arbeitsgruppen als mögliche Ursache der Alzheimer-Demenz angesehen.

Spaltung durch molekulare Scheren

Um ein noch vollständigeres Bild des Ursache-Wirkung-Zusammenhangs bei der Alzheimer-Demenz zu erlangen, gilt es, das Amyloid-Vorläuferprotein APP eingehender zu betrachten. Bei APP handelt es sich um ein durch die Membran der Zelle verlaufendes großes Protein (Transmembranprotein), das die Stabilität und Funktion der chemischen Synapsen reguliert: Es wird durch Spaltung fortlaufend entfernt – dabei entstehen Botenstoffe, die die Funktion der Synapsen modulieren. Die Spaltung von APP erfolgt durch Enzyme, die wie molekulare Scheren arbeiten. Die von ihnen herausgeschnittenen Proteinfragmente gelangen in den Raum außerhalb der Zelle

(extrazellulär), aber auch in ihr Inneres. Einige Wissenschaftler machen in erster Linie die innerzellulären Spaltprodukte für das Fortschreiten der Alzheimer-Demenz verantwortlich, zumal die Spaltung von APP nicht allein an den Oberflächen der Nervenzellen geschieht, sondern an allen Membran-umhüllten „Innenräumen“ der Zellen (Kompartimente), die der Modifizierung, dem Transport, der Sortierung und dem endgültigen Abbau von Zellbestandteilen dienen.

Extrazellulär erfolgt der Abtransport der APP-Fragmente über die Gewebeflüssigkeit und den Strom des Blutes. Von den ins extrazelluläre Milieu abgegebenen APP-Fragmenten gibt es mehrere Varianten, die eine unterschiedliche Wirkung auf Synapsen haben können: Amyloid beta schädigt in hohen Konzentrationen Synapsen und Nervenzellen, ein weiteres während der APP-Spaltung entstehendes größeres Fragment „sAPP alpha“ hingegen entfaltet einen fördernden Effekt auf Synapsen. Störungen in der empfindlichen Balance dieser gegensätzlichen Wirkungen werden für die Schäden an erregenden Synapsen verantwortlich gemacht.



PROF. DR. JOCHEN KUHSE leitete seit dem Jahr 2003 eine Arbeitsgruppe in der Abteilung für Medizinische Zellbiologie des Anatomischen Instituts der Universität Heidelberg. Zuvor war er am Max-Planck-Institut für Hirnforschung in Frankfurt am Main und an der medizinischen Fakultät Ulm tätig. Nach früheren Arbeiten über den NMDA-Rezeptor im zentralen Nervensystem beschäftigt sich Jochen Kuhse in Heidelberg mit der Phosphorylierung des Brückenproteins Gephyrin von inhibitorischen Synapsen. Dank einer Förderung der „Alzheimer Forschung Initiative“ arbeitet Jochen Kuhse gemeinsam mit Prof. Dr. em. Karin Gorgas (Universität Heidelberg), Prof. Dr. Stefan Kins (Universität Kaiserslautern) und Dr. Eva Kiss (Medizinische Universität in Târgu Mures (Rumänien)), an inhibitorischen Synapsen eines Maus-Modells der Alzheimer-Erkrankung.

Kontakt: jochen.kuhse@urz.uni-heidelberg.de

THE WHOLE AND ITS PARTS

THE BATTLE AGAINST OBLIVION

JOCHEN KUHSE

Alzheimer's disease (AD), the most common cause of dementia, is characterised by progressive loss of memory formation. Extracellular deposits of amyloid precursor protein (APP) peptides (beta-amyloid, A β) in plaques are a hallmark of AD. There is still no cure for Alzheimer's. One possible treatment strategy might be an intervention in the early stages of the disease, before the onset of symptoms.

Based on the analysis of a mouse model (APP-PS1), we proposed that changes to inhibitory synapses might be an early prognostic marker of AD pathology. Moreover, we showed that a derivative of plant-derived artemisinin (artesunate) is able to preserve the expression of key proteins of inhibitory synapses in the brain and, importantly, to reduce the burden of toxic APP fragments in the examined mice. Thus, our data supports the hypothesis that artemisinin might be a candidate for treatment of AD in humans.

Our proposals were the result of an analysis of inhibitory synapses in APP-PS1 mice at different ages. We demonstrated a robust increase in the expression and phosphorylation of key proteins in the hippocampus of APP-PS1 mice in the pre-symptomatic stage, whereas in later stages the expression of these proteins was strongly reduced. Moreover, we demonstrated an early increase of parvalbumin-positive interneuron projections and elevated protein levels of a kinase (CDK5/p35). We were also able to show a functional correlation between increased gephyrin phosphorylation and altered GABA_A receptor gamma2 subunit density.

Artemisinin have been shown to reduce neuroinflammation and improve cognitive capabilities in other mouse models of AD. We demonstrated the rescue of gephyrin and other key protein levels in the brain of mice treated with both artemisinin and artesunate. Remarkably, plaque load and the level of carboxyterminal APP fragments were significantly reduced with artesunate. Thus, our data supports the neuroprotective effects of artemisinin. ●

PROF. DR JOCHEN KUHSE has been heading a research group in the Department of Medical Cell Biology of Heidelberg University's Institute for Anatomy and Cell Biology since 2003. He previously worked at the Max Planck Institute for Brain Research in Frankfurt/Main and at the medical faculty of Ulm University. Following his earlier works on the NMDA receptor in the central nervous system, Jochen Kuhse is now focusing on the phosphorylation of the gephyrin protein of inhibitory synapses. With the support of the Alzheimer's Research Initiative (AFI), Jochen Kuhse and his colleagues Prof. Dr em. Karin Gorgas (Heidelberg University), Prof. Dr Stefan Kins (TU Kaiserslautern) and Dr Eva Kiss (Medical University in Târgu Mures (Romania)) are researching inhibitory synapses of a mouse model of Alzheimer's Disease.

Contact: jochen.kuhse@urz.uni-heidelberg.de

“Some scientists believe that the progression of Alzheimer’s Disease is caused primarily by intracellular decomposition products.”

Amyloid beta ist nicht allein in seiner löslichen Form für Nervenzellen giftig. Das Molekül hat zudem die Fähigkeit, hoch organisierte fadenförmige Strukturen (Filamente) zu bilden. Sie können ihre Form wechseln und den Formwechsel auf benachbarte Amyloid-beta-Fragmente übertragen. Auf diese Weise entstehen sehr stabile Filamente. Die stabilen langkettigen Strukturen können aus den Zellzwischenräumen im Gehirn nur unzureichend abtransportiert werden; sie lagern sich zusammen, was zu entzündlichen Prozessen sowie zur direkten Schädigung und zum Untergang von Nervengewebe führt. An den Entzündungsprozessen und am Fortschreiten der Demenz sind weitere Zelltypen des Gehirns beteiligt, etwa Fresszellen (Mikroglia) und Astrozyten. Für den Krankheitsprozess ebenfalls bedeutend sind chemische Modifikationen, die Amyloid beta aufgrund des Einwirkens bestimmter Enzyme erfährt: Das dabei entstehende „Pyroglutamat-Aß“ (AβpE3) soll besonders toxisch auf das Gehirn wirken. Einige Wissenschaftler erachten deshalb Wirkstoffe, mit denen die für die Modifikationen verantwortlichen Enzyme gehemmt werden können, als zukunftsweisende Strategie auf dem Weg zu einer wirksamen Therapie gegen die Alzheimer-Demenz, während dieser Ansatz von anderen Wissenschaftlern ignoriert beziehungsweise abgelehnt wird.

Nicht unerwähnt bleiben darf das „Tau-Erklärmodell“, das mit der Amyloid-Hypothese lange Zeit konkurrierte. Das Protein „Tau“ ist an Stützstrukturen der Zellen gebunden und reguliert deren Zusammenbau. In aggregierter Form werden Tau-Proteine in abgestorbenen Nervenzellen von Alzheimer-Patienten gefunden. Es gibt Dutzende weiterer Theorien zum Entstehen der Alzheimer-Demenz: Schädigungen der Mitochondrien, der Energiegeneratoren der Zelle, werden ebenso als ursächlich betrachtet wie ein gestörtes Gleichgewicht von Kalzium-Ionen, oxidativer Stress, APP-abhängige Veränderungen im Gefäßsystem des Gehirns oder – neuerdings – Einflüsse des Darm-Mikrobioms, der Gesamtheit aller Mikroorganismen im Darm.

Von den Teilen zum großen Ganzen

Alle diese Beispiele beleuchten die derzeitigen, zum Teil divergierenden Forschungsansätze und Arbeitsrichtungen. Zu einem gemeinsamen Modell konnten die Hypothesen bislang nicht zusammengeführt werden. Womöglich ist die Zusammenführung aber der Schlüssel, um schneller Erfolge auf dem Weg zu einer wirksamen Therapie zu erzielen.

In den letzten Jahrzehnten hat in den Lebenswissenschaften ein Paradigmenwechsel stattgefunden: Die bloße Betrachtung linearer Kausalketten wurde erweitert durch eine multidimensionale Darstellung der inneren Zusammenhänge von Zell- und Gewebeprozessen – das ist die Sichtweise der sogenannten Systembiologie. Auch und gerade die Alzheimer-Forschung steht vor der Notwendigkeit, einen erweiterten Ansatz zu finden, der das Potenzial hat, das

„Einige Wissenschaftler machen in erster Linie die innerzellulären Spaltprodukte für das Fortschreiten der Alzheimer-Demenz verantwortlich.“

komplexe Entstehen der Alzheimer-Demenz in einem kompletten Bild zu erfassen und auf diese Weise Wege aufzuzeigen, wie der schweren Erkrankung effektiv entgegengewirkt werden kann. Es gilt deshalb, neue Methoden der Verknüpfung von Einzelerkenntnissen zu finden und Strukturen zu organisieren, die es erlauben, alle wichtigen Aspekte einer Fragestellung zu verbinden. Wenn dies mit den vorhandenen Instrumentarien der Forschungspolitik schwer zu bewerkstelligen ist, bedarf es eines erweiterten Ansatzes, um Verbindungen zwischen den oftmals weit auseinanderliegenden Interessen herzustellen. ●