

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Sonderforschungsbereich 507

Die Bedeutung nicht-neuronaler Zellen bei neurologischen Erkrankungen

Sprecheruniversität:



Humboldt Universität zu Berlin

Abschlussbericht (1995-2007)

und

Ergebnisbericht (2005 – 2007)

	Seite
Allgemeine Angaben zum Sonderforschungsbereich	
1 Listen und Übersichten	3
1.1 Liste aller am Sonderforschungsbereich während der gesamten Förderzeit beteiligten Teilprojektleiter/Teilprojektleiterinnen	3
1.2 Liste aller Teilprojekte, die im Rahmen des SFB gefördert wurden, gegliedert nach Projektbereichen	6
1.3 Übersicht über alle während der verschiedenen Förderperioden beteiligten Fachbereiche, Institute und Einrichtungen der antragstellenden Hochschule, weiterer beteiligter Hochschulen und außeruniversitären Institute	12
1.4 Für den SFB insgesamt in allen Förderperioden bewilligte Ergänzungsausstattung	13
2 Zentrale wissenschaftliche Ergebnisse des Sonderforschungsbereichs	15
2.1 Wissenschaftliche Entwicklung des Sonderforschungsbereichs	16
2.2 Entwicklung der Kooperation im Sonderforschungsbereich und Außenwirkung des Sonderforschungsbereichs	21
2.3 Erläuterung zur internen Organisation des SFB und zum Umgang und zu den Verfahrensweisen mit den Mitteln des SFB	22
2.4 Veröffentlichungen und Patente aus dem SFB	23
2.5 Zahl der Promotionen, Habilitationen und Berufungen von Nachwuchswissenschaftlerinnen und Nachwuchswissenschaftlern aus dem SFB (Grund- und Ergänzungsausstattung)	27
3 Strukturelle Veränderungen an der Hochschule	28
3.1 Strukturwirkung des Sonderforschungsbereichs im personellen Bereich	28
3.2 Strukturwirkung des Sonderforschungsbereichs im Bereich der Infrastruktur	30
4 Arbeitsberichte der Teilprojekte	33
Projektbereich A	
A1 'Cortical spreading ischemia', Dreier/Einhäupl	33
A5 Mechanismen der Rekrutierung von myeloiden Zellen in das Gehirn, Priller/Dirnagl	45
A9 Angiogenese und Vaskulogenese nach milder zerebraler Ischämie, Endres	53
Projektbereich B	
B6 Zelluläre Schädigung der Blut-Hirn-Schranke - Ein Schlüsselmechanismus in der Schadenskaskade der bakteriellen Meningitis, Weber/Braun	61
B11 Die Rolle des Netzwerkes nicht-neuronaler Zellen bei axonalem Auswachsen, Nitsch/Hendrix	71
B14 Mechanismen der Immunzell-vermittelten Schädigung in der chronischen Entzündung des Zentralnervensystems, Zipp/Aktas	79

Inhaltsverzeichnis

	Seite
B16 Die Rolle der Mikroglia bei postläsionalen Veränderungen in Schichten anterog-rader axonaler Läsion, Bechmann	85
B18 Das Proteasom in Mikroglia und Astrozyten und seine Rolle bei Infektions- und Entzündungsprozessen im ZNS, Kloetzel/Dahlmann	89
Projektbereich C	
C3 Funktionen von Gliazellen während epileptogener Prozesse, Heinemann/Kann	103
C7 <i>In situ</i> Untersuchungen zu physiologischen Mechanismen der Mikrogliaaktivierung unter pathophysiologischen Bedingungen, Schilling/Eder	109
C10 Kommunikation von Mikrogliazellen mit Astrozyten und Neuronen, Kettenmann	113
C12 The role of blood-brain barrier disruption in cerebral cortex dysfunction, Friedmann/Heinemann	119
5 Veranstaltungsverzeichnis	129
6 Gäste des SFB 507	173
7 Kongressbesuche	177

1. Listen und Übersichten

1.1 Liste aller am Sonderforschungsbereich während der gesamten Förderzeit beteiligten Teilprojektleiter/Teilprojektleiterinnen

Name, Vorname, akad. Titel	Geschlecht	Geburtsjahr	Institut	Teilprojekt	Gefördert im SFB von - bis
Aktas, Orhan, PD Dr.	m	1972	Institut für Neuroimmunologie Charité, CCM, Berlin	B14	01/2005 - 12/2007
Back, Tobias, Prof. Dr.	m	1962	Neurologische Klinik Sächsisches Krankenhaus Arn- sdorf, Arnsdorf	A1	07/1995 - 06/1998
Bechmann, Ingo, Prof. Dr.	m	1968	Institut für Anatomie Universität Frankfurt/ Main	B16	01/2005 - 12/2007
Blasig, Ingolf E., PD Dr.	m	1951	Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie, Berlin	A2	07/1995 - 12/2001
Braun, Johann S., Dr.	m	1963	Neurologische Klinik Charité, CCM, Berlin	B6	01/2002 - 12/2007
Brück, Wolfgang, Prof. Dr.	m	1961	Abteilung für Neuropathologie Universität Göttingen	B12	01/2002 - 12/2003
Dahlmann, Burkhardt, Prof. Dr.	m	1948	Institut für Biochemie Charité, CCM, Berlin	B18	01/2005 - 12/2007
Deimling v., Andreas, Prof. Dr.	w	1959	Institut für Neuropathologie Universität Heidelberg	B10 C9	02/1999 - 12/2001 01/2002 - 12/2004
Dirnagl, Ulrich, Prof. Dr.	m	1960	Neurologische Klinik Charité, CCM, Berlin	A1 A5	07/1995 - 12/2001 07/1998 - 12/2007
Dreier, Jens, PD Dr.	m	1965	Neurologische Klinik Charité, CCM, Berlin	A1	07/1998 - 12/2007
Eder, Claudia, PD Dr.	w	1965	Division of Basic Medical Sci- ence, St. Georg's, University of London	C7	01/2002 - 12/2007
Einhäupl, Karl Max, Prof. Dr.	m	1947	Neurologische Klinik Charité, CCM, Berlin	A1 A3 B6	01/2002 - 12/2007 07/1995 - 06/1998 07/1998 - 12/2001
Endres, Matthias, Prof. Dr.	m	1969	Neurologische Klinik Charité, CCM, Berlin	A9	01/2005 - 12/2007
Friedman, Alon, Dr.	m	1964	Zlotowski Center for Neurosci- ence, Beersheva, Israel	C12	01/2005 - 12/2007
Grantyn, Rosemarie, Prof. Dr.	w	1941	Institut für Physiologie Charité, CCM, Berlin	B4	07/1995 - 06/1998
Grune, Tilman, Prof. Dr.	m	1962	Institut für Biologische Chemie und Ernährungswissenschaften Universität Hohenheim	A7	07/1998 - 12/2004
Hanisch, Uwe, Prof. Dr.	m	1961	Institut für Neuropathologie Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin	B9	07/1998 - 12/2004

Allgemeiner Teil

Name, Vorname, akad. Titel	Geschlecht	Geburtsjahr	Institut	Teilprojekt	Gefördert im SFB von - bis
Heinemann, Uwe, Prof. Dr.	m	1944	Institut für Physiologie Charité, CCM, Berlin	C3 C12	07/1995 - 12/2007
Hendrix, Sven, Dr.	m	1968	Institut für Zell- und Neurobiologie, Charité, CCM, Berlin	B11	01/2005 - 12/2007
Kann, Oliver, Dr.	m	1971	Institut für Physiologie Charité, CCM, Berlin	C3	01/2005 - 12/2007
Kettenmann, Helmut, Prof. Dr.	m	1955	Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin	B1 C8 C10	07/1995 - 12/2001 01/2002 - 12/2004 01/2005 - 12/2007
Klee, Rolf, Dr.	m	1966	Neurologisches Zentrum der Segeberger Kliniken Gruppe, Bad Segeberg	A6	07/1998 - 12/2001
Klötzel, Peter-M. Prof. Dr.	m	1948	Institut für Biochemie Charité, CCM, Berlin	B18	01/2005 - 12/2007
Lindauer, Ute, PD Dr.	w	1964	Neurologische Klinik Charité, CCM, Berlin	A6	07/1998 - 06/2005
Müller, Wolfgang, Prof. Dr.	m	1956	Dep. of Neurosurgery University of New Mexico Albuquerque, USA	C4	07/1995 - 12/2000
Nitsch, Robert, Prof. Dr.	m	1962	Institut für Zell- und Neurobiologie, Charité, CCM, Berlin	B11 C1	01/2002 - 12/2007 07/1995 - 12/2001
Ohm, Thomas-Georg, Prof. Dr.	m	1954	Institut für Anatomie Charité, CCM, Berlin	C2	07/1995 - 12/2001
Patt, Stephan, Prof. Dr.	m	1662	Institut für Pathologie, Universität Jena	B1	07/1995 - 06/1998
Paul, Martin, Prof. Dr.	m	1958	Dekan Charité, Berlin	A4	07/1995 - 06/1998
Priller, Josef, Prof. Dr.	m	1970	Psychiatrische Klinik Charité, CCM, Berlin	A5	01/2002 - 12/2007
Reszka, Regina, Dr.	w	1953	Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin Berlin	B3	07/1995 - 06/1998
Schilling, Tom, Dr.	m	1966	Division of Basic Medical Science, St. Georg's, University of London	C7	01/2005 - 12/2007
Stangel, Martin, Prof. Dr.	m	1964	Klinik für Neurologie Med. Hochschule Hannover	B12	01/2002 - 12/2003
Stein, Christoph, Prof. Dr.	m	1954	Klinik für Anästhesiologie/ operative Intensivmedizin, Klinikum Benjamin Franklin, Berlin	B8	12/1998 - 12/2001
Ullrich, Oliver, Prof. Dr. Dr.	m	1970	Institut für Immunologie Universität Magdeburg	C6	01/2002 - 12/2004
Volk, Hans-Dieter, Prof. Dr.	m	1953	Institut für Medizinische Immunologie, Charité, CCM, Berlin	B15 C5	01/2002 - 12/2004 07/1998 - 12/2001
Walther, Wolfgang, PD Dr.	m		Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin; Berlin	B3	07/1995 - 06/1998

Name, Vorname, akad. Titel	Geschlecht	Geburtsjahr	Institut	Teilprojekt	Gefördert im SFB von - bis
Weber, Friedrich, Prof. Dr.	m	1958	Neurochirurgische Klinik Krankenhaus Merheim	B3	07/1995 - 06/1998
Weber, Jörg R., Prof. Dr.	m	1959	Abteilung für Neurologie Landeskrankenhaus Klagenfurt	A3 B6	07/1995 - 06/1998 07/1998 - 12/2007
Welte, Martin, PD Dr.	m	1957	Klinik für Anästhesiologie/ operative Intensivmedizin, Klinikum Benjamin Franklin, Berlin	B8	12/1998 - 12/2001
Woiciechowsky, Christian, Prof. Dr.	m	1962	Neurologisch-Neurochirurgische Klinik/ Infektionsimmunologie Charité, CVK, Berlin	B15 C5	01/2002 - 12/2004 07/1998 - 12/2001
Zipp, Frauke, Prof. Dr.	w	1963	Cecilie-Vogt-Klinik für Neurologie, Berlin	B14	01/2002 - 12/2007

1.2 Liste aller Teilprojekte, die im Rahmen des SFB gefördert wurden, gegliedert nach Projektbereichen

Teil projekt	Titel	Fachgebiet und Arbeitsrichtung	Leiter/in, Institut, Ort	Gefördert im SFB von (Monat/Jahr) bis (Monat/Jahr)
A1	-Mechanismen der Blutflußveränderungen bei Spreading Depression -Cortical spreading ischaemia	Neurologie	Prof. Dr. Ulrich Dirnagl Dr. Jens P. Dreier Prof. Dr. Karl M. Einhäupl Neurologische Klinik, Charité, CCM, Berlin Prof. Dr. Tobias Back Sächsisches Krankenhaus Arnsdorf, Arnsdorf	07/1995 - 12/2007
A2	Stickstoffmonoxidradikale und Hypoxie an Zellen der Blut-Hirn-Schranke	Neurobiologie Pathobiochemie Pharmakologie	PD Dr. Ingolf E. Blasig Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie, Berlin	07/1995 - 12/2001
A3	Gliaaktivierung- Ein Schlüsselmechanismus in der Schadenskaskade der bakteriellen Meningitis	Neurologie	Prof. Dr. Karl M. Einhäupl Neurologische Klinik, Charité, CCM, Berlin Prof. Dr. Jörg Weber Abteilung für Neurologie, Landeskrankenhaus Klagenfurt	07/1995 - 06/1998
A4	Untersuchung der zellulären und molekularen Regulationsmechnismen des Endothelinsystems im Gehirn	Molekularbiologie, Neurobiologie, Pharmakologie	Prof. Dr. Martin Paul Dekan Charité Berlin	07/1995 - 06/1998
A5	-Fokale cerebrale Ischämie und induzierte Ischämietoleranz: Rolle von Makrophagen und Mikroglia -Rolle hämatogener Zellen und residenter Mikroglia bei der zerebralen Ischämie -Mechanismen der Rekrutierung von myeloiden Zellen in das Gehirn	Neurologie Experimentelle Neurologie Schlaganfallforschung	Prof. Dr. Ulrich Dirnagl Neurologische Klinik Prof. Dr. Josef Priller Psychiatrische Klinik, Charité, CCM, Berlin	07/1998 - 12/2007

Teil projekt	Titel	Fachgebiet und Arbeitsrichtung	Leiter/in, Institut, Ort	Gefördert im SFB von (Monat/Jahr) bis (Monat/Jahr)
A6	-Rolle von Stickstoffmonoxid bei der Kalium-vermittelten Dilatation zerebraler Arterien unter physiologischen Bedingungen und nach zerebraler Ischämie und Spreading Depression -Rolle der endothelialen NO Synthase bei zerebraler Gefäßreaktivität: Beeinflussung der Enzymaktivität mittels HMG-CoA Reduktase-Inhibition und Einfluss auf die Infarkt volumenentwicklung bei fokaler zerebraler Ischämie -Zerebrovaskuläre Reaktivität und zerebrale Perfusion nach Präkonditionierung durch volatile Anästhetika	Neurologie Neurophysiologie	PD Dr. Ute Lindauer Neurologische Klinik, Charité, CCM, Berlin Dr. Rolf Klee Neurologisches Zentrum der Segeberger Kliniken Gruppe, Bad Segeberg	07/1998 - 06/2005
A7	Rolle der Microglia im Eisen-Stoffwechsel des Gehirns- Schädigung Eisen-bindender Proteine bei hypoxischer und radikaler Belastung	Neurobiologie Biochemie Molekularbiologie	Dr. Tilman Grune Universität Hohenheim, Institut für Biologische Chemie und Ernährungswissenschaften	07/1998 - 12/2004
A9	Gefäßneubildung nach milder zerebraler Ischämie	Neurologie Schlaganfallforschung	Prof. Dr. Matthias Endres Klinik für Neurologie, Charité, CCM, Berlin	01/2005 - 12/2007
B1	Physiologische Eigenschaften glialer Tumore	Zelluläre Neurobiologie Neuroonkologie	Prof. Dr. Helmut Kettenmann Zelluläre Neurowissenschaften, Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin Prof. Dr. Stephan Patt Institut für Pathologie, Universität Jena	07/1995 - 12/2001
B3	Veränderungen von Zell-Zell-Wechselwirkungen glialer Tumorzellen in vitro und in vivo nach retroviralem und liposomalem Zytokingentransfer	Neurobiologie Neurochirurgie Neuroonkologie	Dr. Regina Reszka Dr. Wolfgang Walther Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin Dr. Friedrich Weber Neurochirurgische Klinik, Klinikum Neubrandenburg	07/1995 - 06/1998

Teil projekt	Titel	Fachgebiet und Arbeitsrichtung	Leiter/in, Institut, Ort	Gefördert im SFB von (Monat/Jahr) bis (Monat/Jahr)
B4	Funktionelle Eigenschaften und manipulierte Differenzen von Retinoblastomzellen	Zelluläre Neurobiologie Neuroonkologie	Prof. Dr. Rosemarie Grantyn Physiologisches Institut, Charité, CCM, Berlin	07/1995 - 06/1998
B6	-Gliaktivierung- Ein Schlüsselmechanismus in der Schadenskaskade der bakteriellen Meningitis -Inflammation der Blut-Hirnschranke- Ein Schlüsselmechanismus in der Schadenskaskade der bakteriellen Meningitis -Zelluläre Schädigung der Blut-Hirn-Schranke- Ein Schlüsselmechanismus in der Schadenskaskade der bakteriellen Meningitis	Neurologie	Prof. Dr. Karl M. Einhäupl Dr. Johann Braun Klinik für Neurologie, Charité, CCM, Berlin Prof. Dr. Jörg R. Weber Abteilung für Neurologie, Landeskrankenhaus Klagenfurt	06/1998 - 12/2007
B8	Schmerzinhibition durch Migration Opioidenthaltender Immunzellen in entzündetes Gewebe	Anästhesiologie Schmerzmechanismus	Prof. Dr. Christoph Stein PD Dr. Martin Welte Klinik Anästhesiologie/ operative Intensivmedizin, Klinikum Benjamin Franklin, Berlin	12/1998 - 12/2001
B9	Intrazelluläre Signalverarbeitung bei mikroglialer Aktivierung: Beteiligung von Oroteinkinasen und Proteinphosphatasen der JAK/STAT- und ERK/MAPK-Kaskaden -Thrombin als Stimulus und Modulator mikroglialer Aktivierung	Neurobiologie Biochemie	Prof. Dr. Uwe-Karsten Hanisch Institut für Neuropathologie, Universität Göttingen	07/1998 - 12/2004
B10	Molekulare Charakterisierung von Gliomen	Neuropathologie Molekulare Neuroonkologie Molekulargenetik	Prof. Dr. Andreas v. Deimling Institut für Neuropathologie, Universität Heidelberg	02/1999 - 12/2001
B11	-Die Rolle von Glia- und T-Zellen bei neuronaler Protektion und Reorganisation im ZNS- Untersuchungen im entorhinal-hippocampalen Modellsystem -Die Rolle des Netzwerkes nicht-neuronaler Zellen bei axonalem Auswachsen	Anatomie Zell- und Neurobiologie	Prof. Dr. Robert Nitsch Dr. Sven Hendrix Institut für Anatomie, Charité, CCM, Berlin	01/2002 - 12/2007

Teil projekt	Titel	Fachgebiet und Arbeitsrichtung	Leiter/in, Institut, Ort	Gefördert im SFB von (Monat/Jahr) bis (Monat/Jahr)
B12	Die Rolle von oligodendroglialen Chemokinrezeptoren bei der Myelinisierung und Demyelinisierung- funktionelle in vitro-in vivo Korrelation	Neuroimmunologie Molekularbiologie Neurologie Neuropathologie	Prof. Dr. Wolfgang Brück Abteilung für Neuropathologie, Universität Göttingen Prof. Dr. Martin Stangel Klinik für Neurologie, Med. Hochschule Hannover	01/2002 - 12/2003
B14	-Funktionelle Charakterisierung und Bedeutung des TRAIL-Rezeptor/TRAIL-Systems für Pathogenese und Therapie der Multiplen Sklerose -Mechanismen der Immunzell-vermittelten Schädigung in der chronischen Entzündung des Zentralnervensystems	Neurologie Neuroimmunologie	Prof. Dr. Frauke Zipp Dr. Orhan Aktas Institut für Neuroimmunologie, Charité, CCM, Berlin	01/2002 - 12/2007
B15	Interaktionen zwischen Entzündungsprozessen im ZNS und dem peripheren Immunsystem: Untersuchungen zwischen Infektionsrisiko und –prävention bei einer ZNS-vermittelten systemischen Immunsuppression am Ratten-Modell	Klinische Neuroimmunologie Neurochirurgie Infektionsimmunologie	Prof. Dr. Christian Woiciechowsky Klinik für Neurochirurgie, Charité, CVK, Berlin Prof. Dr. Hans-Dieter Volk Institut für Medizinische Immunologie, Charité, CCM, Berlin	01/2002 - 12/2004
B16	Die Rolle der Mikroglia bei postläsionalen Veränderungen in Schichten anterograder axonaler Läsion	Neuroanatomie Neurobiologie	Prof. Dr. Ingo Bechmann Institut für Anatomie, Universität Frankfurt/ Main	01/2005 - 12/2007
B18	Das Proteasom in Mikroglia und Astrozyten und seine Rolle bei Infektions- und Entzündungsprozessen im ZNS	Biochemie Immunologie	Prof. Dr. Peter-M. Klötzel Prof. Dr. Burkhardt Dahlmann Institut für Biochemie, Charité, CCM, Berlin	01/2005 - 12/2007
C1	Die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen Veränderungen nach entorhinaler Läsion	Neuroanatomie Experimentelle Neurobiologie	Prof. Dr. Robert Nitsch Institut für Anatomie, Charité, CCM, Berlin	07/1995 - 12/2001
C2	Expression und Regulation von Apolipoprotein E (APOE) in Gliazellen nach experimenteller und neuropathologischer Läsion (M. Alzheimer)	Neuroanatomie Neuropathologie Experimentelle Neurobiologie	Prof. Dr. Thomas-Georg Ohm Institut für Anatomie, Charité, CCM, Berlin	07/1995 - 12/ 2001

Teil projekt	Titel	Fachgebiet und Arbeitsrichtung	Leiter/in, Institut, Ort	Gefördert im SFB von (Monat/Jahr) bis (Monat/Jahr)
C3	Funktionen von Gliazellen während epileptogener Prozesse	Neurophysiologie	Prof. Dr. Uwe Heinemann Dr. Oliver Kann Institut für Physiologie, Charité, CCM, Berlin PD Dr. Claudia Eder Division of Basic Medical Science, St. Georg's, University of London	07/1995 - 12/2007
C4	Änderung der intrazellulären Calciumkonzentration, freier Fettsäuren und der Glutathionspiegel in pathologisch veränderten und normalen Astrozyten und Neuronen	Physiologie	Prof. Dr. Wolfgang Müller Dep. of Neurosurgery, University of New Mexico, Albuquerque Prof. Dr. Uwe Heinemann Institut für Physiologie, Charité, CCM, Berlin	07/1995 - 12/2000
C5	Untersuchungen zur Kommunikation zwischen Neural- und Immunzellen mittels akuter und chronischer intracerebro-ventrikulärer Applikation pro- und anti-inflammatorischer Zytokine im Tierversuch	Klinische Immunologie Psychoneuroimmunologie Infektionsimmunologie	Prof. Dr. Christian Woiciechowsky Klinik für Neurochirurgie, Charité, CVK, Berlin Prof. Dr. Hans-Dieter Volk Institut für Medizinische Immunologie, Charité, CCM, Berlin	07/1998 - 12/2001
C6	Mikrogliaaktivierung durch geschädigte Neurone: Signalwege oxidativ modifizierter Lipide	Neurobiologie Biochemie	Prof. Dr. Dr. Oliver Ullrich Institut für Immunologie, Universität Magdeburg	01/2002 - 12/2004
C7	-Physiologische Mechanismen der Lysophospholipid-vermittelten Aktivierung von Mikrogliazellen -In situ Untersuchungen zu physiologischen Mechanismen der Mikrogliaaktivierung unter pathophysiologischen Bedingungen	Physiologie	PD Dr. Claudia Eder Dr. Tom Schilling Division of Basic Medical Science, St. Georg's, University of London	01/2002 - 12/2007
C8	Physiologische Eigenschaften glialer Tumore	Zelluläre Neurowissenschaften	Prof. Dr. Helmut Kettenmann Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin	01/2002 - 12/2004

Teil projekt	Titel	Fachgebiet und Arbeitsrichtung	Leiter/in, Institut, Ort	Gefördert im SFB von (Monat/Jahr) bis (Monat/Jahr)
C9	Molekulare Mechanismen der Invasion von Gliomzellen	Neuropathologie Molekulare Neuroonkologie Molekulargenetik	Prof. Dr. Andreas v. Deimling Institut für Neuropathologie, Universität Heidelberg	01/2002 - 12/2004
C10	Kommunikation von Mikrogliazellen mit Astrozyten und Neuronen	Neurowissenschaften	Prof. Dr. Helmut Kettenmann Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin, Berlin	01/2005 - 12/2007
C12	Die Bedeutung von Bluthirnschrankenstörungen für Dysfunktionen des cerebralen Cortex	Neurophysiologie	Prof. Dr. Uwe Heinemann Institut für Physiologie, Charité, CCM, Berlin Alon Friedman, MD, PhD Zlotowski Center for Neuroscience, Ben-Gurion-University, Beersheva, Israel	01/2005 - 12/2007

Allgemeiner Teil

1.3. Übersicht über alle während der verschiedenen Förderperioden beteiligten Fachbereiche, Institute und Einrichtungen der antragstellenden Hochschule, weiterer beteiligter Hochschulen und außeruniversitären Institute

Charité- Universitätsmedizin Berlin

CC02 für Grundlagenmedizin

Centrum für Anatomie

Institut für Neuroanatomie

Institut für Zell- und Neurobiologie

Johannes-Müller-Institut für Physiologie

Institut für Biochemie

CC04 für Therapieforschung

Institut für Pharmakologie und Toxikologie

CC06 für diagnostische und interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin

Institut für Röntgendiagnostik

CC07 für Anästhesiologie, OP-Management und Intensivmedizin

Anästhesiologie CBF

CC12 für Innere Medizin und Dermatologie

Klinik für Physikalische Medizin und Rehabilitation

CC15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie

Neurologische Klinik

Abteilung für Experimentelle Neurologie

Klinik für Neurochirurgie

Klinik für Psychiatrie

Institut für Neuropathologie

Cecilie-Vogt-Klinik für Neurologie

Institut für Neuroimmunologie

Max-Delbrück-Centrum Berlin

Forschungsgruppe für Zelluläre Neurowissenschaften

Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie (FMP) Berlin

Ben-Gurion University, Beersheva

Zlotowski Center for Neuroscience

Klinikum Neubrandenburg

Neurochirurgische Klinik

1.4 Für den SFB insgesamt in allen Förderperioden bewilligte Ergänzungsausstattung

Haushaltsjahr	Ergänzungsausstattung			Gesamt in €
	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	
1995/2	227.268,41	142.292,01		369.560,41
1996	466.449,87	183.399,72		649.849,59
1997	454.843,58	207.123,58		661.967,16
1998/1	232.534,69	95.918,00		328.452,70
			Zwischensumme	2.009.829,86
1998/2	282.692,24	166.118,12	282.487,73	731.298,09
1999	705.733,59	259.684,19	22.138,86	987.556,64
2000	725.213,74	250.736,62		975.950,35
2001	706.193,75	235.500,17		941.693,92
			Zwischensumme	3.636.499,00
2002	796.800,00	359.589,00	40.596,00	1.196.985,00
2003	777.600,00	293.376,00		1.070.976,00
2004	715.400,00	265.211,00		980.611,00
			Zwischensumme	3.248.572,00
2005	799.200,00	364.200,00	76.500,00	1.239.900,00
2006	788.400,00	298.700,00		1.087.100,00
2007	788.400,00	306.200,00		1.094.600,00
			Zwischensumme	3.421.600,00
			Gesamtsumme	12.316.500,86

2. Zentrale wissenschaftliche Ergebnisse des Sonderforschungsbereichs

Ausgangspunkt

Im Jahre 1994 war der SFB mit folgender Frage- und Zielstellung angetreten (Auszug aus dem Antragsband):

'Während in der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts der Glia bereits großes wissenschaftliches Interesse entgegengebracht wurde, hat sich die moderne Hirnforschung in den letzten drei Dekaden überwiegend auf die Betrachtung der Neuronen und neuronaler Netzwerke konzentriert. Daraus ergab sich zwangsläufig, dass die meisten neurologischen Erkrankungen heute als eine Störung des Neurons und seiner Verbindungen betrachtet werden. Im Zentrum des Interesses standen vor allem morphologische Befunde wie der Verlust neuronaler Zellen (Ischämie, Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson), Schrumpfung von Neuronen (Morbus Alzheimer), Rarefizierung von Dendriten (Epilepsie, traumatische Läsionen), sowie funktionelle Störungen wie veränderte Projektionsmuster (posttraumatische Läsionen, transiente Ischämie, Regeneration), veränderte Kanal- und Transmitterexpression (Epilepsie, Ischämie, Morbus Alzheimer), veränderte Regulationskaskaden (z. B. c-fos, c-jun, Wachstumsfaktoren), sowie bei zahlreichen Erkrankungstypen veränderte Freisetzungseigenschaften von Transmittern (Epilepsie, Morbus Parkinson). Trotz dieser weitreichenden Kenntnisse über pathologische Veränderungen neuronaler Strukturen kann bis heute keine neurologische Erkrankung ausschließlich über die Störungen neuronaler Prozesse verstanden werden. Letztendlich kann man pointiert formulieren, daß es bisher überhaupt nicht gelungen ist, durch eine rein neuronale Betrachtung neurologische Erkrankungen kausal befriedigend zu erklären (z. B. Morbus Alzheimer, Epilepsie, Ischämie). Obzwar eine Beteiligung nicht-neuronaler Zellen, etwa der Gliazellen, bei den genannten Erkrankungen aufgrund histopathologischer Untersuchungen seit langer Zeit bekannt ist, ist die funktionelle Rolle der nicht-neuronalen Zellen bei der überwiegenden Zahl der ZNS-Erkrankungen ungeklärt. Zum komplexen Verständnis der Pathogenese neurologischer Erkrankungen fehlt damit weitgehend die Einbeziehung nicht-neuronaler Strukturen in die Krankheitsbetrachtung. Angesichts der oben dargestellten großen Bedeutung nicht-neuronaler Zellen und unseres im Vergleich geringen Wissens, ist es Ziel dieses Sonderforschungsbereiches die Bedeutung nicht-neuronaler Zellen, ihrer Interaktion untereinander und ihrer Interaktion mit neuronalen Zellen aufzuklären. [...] Der geplante Sonderforschungsbereich wird daher als innovativer Ansatz zum komplexen Verständnis neurologischer Erkrankungen des zentralen Nervensystems verstanden. Es wurde deshalb in der Strukturierung dieses Sonderforschungsbereiches besonders darauf Wert gelegt, molekularbiologisch orientierte Arbeitsgruppen mit klinisch orientierten Arbeitsgruppen zu integrieren. Unser Ansatz soll uns ein komplexeres Verständnis von den Pathomechanismen neurologischer Erkrankungen vermitteln und somit die Grundlage für die Entwicklung neuer, diagnostischer und therapeutischer Ansätze schaffen.'

Der SFB positionierte sich damit vor 14 Jahren an der Vorderfront der Etablierung eines Bereiches der Neurowissenschaften, welcher heute international durchgesetzt ist und geradezu als 'Mainstream' bezeichnet werden muss: Die 'neurozentrische Sichtweise' von Funktion und Dysfunktion des Hirns wurde zugunsten einer integrierenden Betrachtung der Interaktion von Neuronen mit glialen, endothelialen und vaskulären glattmuskulären Elementen, sowie der Einbeziehung der Wechselwirkung des Hirns mit dem Immunsystem verlassen. Zu dieser Entwicklung hat der SFB mit seinen weithin beachteten Resultaten einen wichtigen Beitrag geleistet. Mitglieder des SFBs haben in ihren Projekten und unter intensiver Kooperation innerhalb des SFBs eine Vielzahl bisher nicht bekannter Interaktionen von nicht-neuronalen Elementen untereinander und mit Neuronen entdeckt und diese charakterisiert. Diese Wechselwirkung betraf physiologische ebenso wie pathophysiologische Prozesse. Eine Reihe der Projekte hat mittlerweile zu weiterführenden klinischen Studien geführt, welche nicht nur die klinischen Existenz und Relevanz der untersuchten Phänomene zeigen konnten, sondern auch zu ersten 'proof of concept' Studien der therapeutischen Beeinflussbarkeit. Diese Entwicklung soll nun an konkreten Beispielen illustriert werden.

Allgemeiner Teil

2.1 Wissenschaftliche Entwicklung des Sonderforschungsbereichs

Im folgenden werden ausgewählte Schlüsselbefunde von SFB Projekten dargestellt:

Neuer nicht-neuronaler Mechanismus, der Infarkte auslösen kann:

Normalerweise führt neuronale Aktivierung zur Erhöhung des cerebralen Blutflusses ('neurovaskuläre Kopp- lung'. Während der Laufzeit des SFB wurde ein Mechanismus entdeckt, bei dem eine besondere Variante neuronaler Aktivierung in Form einer Massendepolarisation von Neuronen und Astrozyten eine starke Va- sokonstriktion induziert, in deren Folge eine Mangeldurchblutung bis hin zur Ischämie und zum Gewebe- schaden entstehen kann: die sog. 'Spreading Ischemia'. Pathomechanistisch im Zentrum steht dabei die Er- höhung der extrazellulären Kaliumkonzentration bei gleichzeitiger Reduktion der Konzentration von ‚nitric oxide‘ (NO) sowie eine pathologisch gestörte Signaltransduktion von Astrozyten zu den kleinen Gefäßen der Hirnrinde. Klinisch könnte diese Konstellation z.B. bei Subarachnoidalblutung auftreten, wobei der Zerfall von Erythrozyten zur Freisetzung des NO-Scavengers Hämoglobin sowie von Kalium führt. Das Phänomen könnte daher zur Erklärung der typischerweise Tage nach Blutung auftretenden verzögerten ischämischen Hirninfarkte beitragen. Nicht nur konnte die Gruppe von Dreier dieses Phänomen erstmals beschreiben. Im Rahmen der Laufzeit des SFB, und in enger Kooperation mit den Projekten von Lindauer und Heinemann konnten auch die zugrundeliegenden biochemischen, molekularen und zellulären Mechanismen weitgehend aufgeklärt werden. Im Rahmen einer internationalen, interdisziplinären Kollaboration wurde dann mit inva- siven subduralen Streifenelektroden sowie bildgebenden Verfahren (CT/MRT) nachgewiesen, dass dies Phänomen tatsächlich bei Patienten mit Subarachnoidalblutung auftritt, und mit dem Auftreten verzögerter ischämischer Schlaganfälle nach der Blutung korreliert. International wurde das Phänomen im weiteren Ver- lauf auch bei anderen Formen ischämischer Schlaganfälle gefunden und als ein Kernmechanismus der Scha- densprogression diskutiert. Unter federführender Beteiligung des SFB wurde eine große, internationale Stu- die (COSBID) initiiert, in der das Phänomen derzeit prospektiv an einem großen Kollektiv von Patienten mit Subarachnoidalblutung, Schädel-Hirn-Trauma und malignem ischämischen Schlaganfall nach Verschluss der mittleren Hirnarterie untersucht wird.

Immundepression und Infektion nach akutem neuronalen Schaden

Woiciechowsky und Volk konnten in ihrem SFB-Projekt erstmals zeigen, dass ein Schädel-Hirn-Trauma zur akuten Herabregulation der peripheren innaten und adaptiven Immunität führt. Die enge Kollaborati- on zwischen den Abteilungen für Immunologie (Volk) und experimentelle Neurologie (Dirnagl) im SFB bildete den Nucleus für weitere Untersuchungen von Arbeitsgruppen der Abteilungen (C. und A. Meisel, Prass), in denen sich zeigte, dass es beim ischämischen Schlaganfall über das sympathische Nervensys- tem (und in geringerem Masse auch die Hypophysen-Nebennieren-Achse) innerhalb von Stunden zum Untergang bzw. Funktionswandel (Th1 zu Th2) von Immunzellen kommt, der über Wochen anhalten kann. Auch die klinische Relevanz dieses Phänomens konnte zunächst in präklinischen Untersuchungen belegt werden: Die durch die Läsion ausgelöste Immundepression ist mitverantwortlich für die erhöhte Infektionsneigung nach Hirnläsion. Hieraus konnten therapeutische Strategien (präventive Antibiotika- gabe, Immunmodulation) abgeleitet und im Experiment getestet werden. Diese Befunde wurden nun er- folgreich in eine deskriptive (ISAS-Studie) sowie in eine Investigator Sponsored Phase IIb kontrollierte und randomisierte Studie (PANTHERIS-Studie) übertragen. Dabei ergab sich, dass die Immundepression mit sehr ähnlichen Charakteristika auch bei Patienten mit ischämischen Schlaganfall auftritt, und dass sie in direktem Zusammenhang mit den nach Schlaganfall auftretenden Pneumonien (Todesursache Nr. 1 beim Schlaganfall!) steht. In der PANTHERIS Studie konnte auch gezeigt werden, dass die präventive Gabe eines Antibiotikums die Infektionsrate signifikant vermindern kann. Ein SFB-Projekt hat damit die Grundlagen gelegt für ein neues Feld der 'Neuroimmunologie', der Untersuchung der Auswirkungen von akuter Hirnläsion auf das periphere Immunsystem, sowie der Auswirkungen von peripherer Infektion auf Hirnläsionen. Unter federführender Beteiligung von SFB-Wissenschaftlern wird derzeit eine internationa- le Phase III Studie zur Verhinderung der Schlaganfall-induzierten Infektion vorbereitet. In verschiedenen Ländern (u.a. USA und England) werden demnächst unabhängig davon ähnliche Studien starten.

Beschreibung des hohen Turnovers von Mikroglia durch hämatogen eingewanderte Zellen - kritische Betrachtung des Transdifferenzierungspotentials

Im SFB Projekt von Priller und Endres konnte erstmals gezeigt werden, dass eine Störung der Bluthirnschranke (z.B. durch Bestrahlung) bzw. eine Hirnläsion wie sie beim Schlaganfall auftritt zu einer massiven Einwanderung von monozytären Zellen aus dem Blut führt, und diese partiell einen mikroglialen Phänotyp annehmen, um dann für viele Monate im Hirnparenchym zu persistieren. Mit diesen Befunden war dieses SFB-Projekt an der Vorderfront einer sich neu etablierenden, stark im internationalen Fokus befindlichen Forschungsrichtung, die sich mit dem Differenzierungspotential adulter (hämatogener) Stammzellen im Hirn befasste ('Blood to brain'). Initialen Berichten einer möglichen Transdifferenzierung von myeloiden Zellen in neuronale Phänotypen ist mittlerweile eine weitaus kritischere Betrachtung des Differenzierungspotentials dieser Zellen gewichen. Zu beiden 'Sichtweisen' konnte das Projekt beitragen. Erste Befunde, dass sich einige hämatogen eingewanderte Zellen im Kleinhirn über einen langen Zeitraum hin zu Purkinjezellen differenzieren könnten, wichen der Erkenntnis, dass es sich hier um Fusionsphänomene und zelluläre Reprogrammierung handelte: dies sind allerdings ebenso neue und potentiell relevante Ereignisse wie die Transdifferenzierung selbst. Im weiteren konnte das Projekt zeigen, dass eine Vielzahl von teilweise hochrangig publizierten Befunden anderer Arbeitsgruppen, welche eine massive Integration und Transdifferenzierung von hämatopoetischen oder mesenchymalen Stammzellen nach Schlaganfall fanden und damit eine regelrechte 'Euphorie' auslösten, nicht reproduzierbar waren. Diese Befunde des SFB - Projekts standen anfangs noch isoliert, mittlerweile ist das gesamte Feld einer kritischen Betrachtung des Transdifferenzierungs- und damit auch therapeutischen Potentials dieser Zellen gefolgt.

Neue IL-4-vermittelte, regenerative Rolle von T-Zellen

Seit über einer Dekade wurde die Rolle von T-Zellen im Rahmen traumatischer ZNS-Verletzungen kontrovers diskutiert, da in zum Teil identischen experimentellen Ansätzen einerseits schädigende und andererseits protektive Effekte beschrieben wurden. Interessanterweise wurden die Subtypen der dabei verwendeten T-Zellen nie genauer untersucht und der Mechanismus einer protektiven T-Zell-Wirkung nie überzeugend charakterisiert. Im Rahmen des SFBs konnte erstmals nachgewiesen werden, dass T-Helferzellen vom Subtyp 2 axonales Auswachsen nach Hirn- und Rückenmarksläsion *in vivo* signifikant fördern. Nitsch und Hendrix konnten ferner unter Verwendung verschiedenster Knockout-Mauslinien nachweisen, dass dieser Effekt durch IL-4 vermittelt wird und zwar nicht über den klassischen Stat-6-Signalweg sondern über den AKT- und MAPK-Signalweg. Damit konnte erstmals ein überzeugender Mechanismus gezeigt werden, über den T-Zellen regenerative Effekte fördern. Die erfolgreiche therapeutische Verwendung von IL-4 und IL-4-produzierenden T-Zellen zur Stimulation der axonalen Regeneration und funktionellen Wiederherstellung nach Rückenmarksläsion führte zur Etablierung zweier internationaler Kollaborationen, um diese innovative Therapiestrategie einerseits mit der bisher erfolgreichsten Therapie von Rückenmarksverletzungen, nämlich der Gabe von Anti-Nogo-Antikörpern, zu kombinieren und sie andererseits mit der vielversprechenden periläsionalen Gabe neuraler Stammzellen zu kombinieren, da IL-4 neben seinen axon-stimulierenden Funktionen auch eine neuronale Differenzierung periläsionaler Stammzellen fördert.

TRAIL – Pfad zur Vermittlung neuronalen Schadens und Immunregulation bei akuter und chronischer Entzündung des ZNS:

Die zentrale Rolle des *Tumor necrosis factor Related Apoptosis Inducing Ligand* (TRAIL) bei entzündlichen Schadensprozessen im ZNS wurde in einer Reihe von SFB-Arbeiten herausgearbeitet. So konnten das Projekt von Aktas und Zipp, in enger Zusammenarbeit mit Nitsch im Tiermodell der Multiplen Sklerose – der hierzulande häufigsten chronisch-entzündlichen Erkrankung des ZNS – erstmals zeigen, wie Myelin-reaktive T-Lymphozyten durch den Apoptose-Liganden TRAIL direkt neuronalen Schaden im ZNS verursachen. Damit lieferte der SFB einen konkreten molekularen Mechanismus und therapeutischen Ansatzpunkt für die massive neuronale Kollateralschädigung, die bei der Multiplen Sklerose in den wissenschaftlichen Brennpunkt geraten ist und für die fixierten neurologischen Defizite von Patienten verantwortlich gemacht wird. Gleichzeitig konnten regulatorische TRAIL-Funktionen für die Homöostase des Immunsystems herausgearbeitet werden: so lässt sich die Proliferation von aktivierten T-Lymphozyten durch TRAIL hemmen, und die TRAIL-Expression in peripheren Immunzellen kann das Ansprechen von Patienten mit multipler Sklerose auf eine immunmodulatorische Therapie mit IFN- β vorhersagen. Ausgehend von diesen Befunden gelang dank der interdisziplinären Vernetzung innerhalb

Allgemeiner Teil

des SFB mit Hoffmann, Priller und Weber die wichtige Erkenntnis, dass TRAIL auch bei der akuten bakteriellen Meningitis einen immunregulatorischen Effekt ausübt, indem es die massive granulozytäre Entzündungsreaktion vermindert und in Folge den neuronalen Schaden begrenzt. Ausgangspunkt war die Beobachtung, daß TRAIL im Liquor von Meningitis-Patienten in einer deutlich erhöhten Konzentration nachweisbar ist. Damit gelang gleichzeitig die Identifikation von TRAIL als relevantes Element eines endogenen Mechanismus zur Limitierung einer überschießenden Immunreaktion bei der Meningitis. Hier ergibt sich ein wichtiger Ansatz, dass TRAIL bei bakterieller Meningitis – einer auch heute noch lebensgefährlichen Erkrankung – als neues antiinflammatorisches Prinzip eingesetzt werden könnte.

Identifizierung von neuen Schädigungsmechanismen in der akuten bakteriellen Meningitis.

In zahlreichen Einzeluntersuchungen des SFB Projekts zur bakteriellen Meningitis (Weber/Braun/Hoffmann) wurde die herausragende Bedeutung des Immunsystems für die Induktion typischer Komplikationen der bakteriellen Meningitis deutlich. Es wurde im Rattenmodell reduzierte Ödembildung, Hyperämie und intrakranielle Hypertension nach Hemmung der Leukozytenrekrutierung gezeigt, während im Mausmodell ein Effekt auch auf den resultierenden neuronalen Schaden belegt werden konnte. Im Projektverlauf wurden daher einerseits wirtsseitige Determinanten der Immunantwort untersucht. Erstmals wurde eine proinflammatorische Rolle der Neuropeptidfreisetzung aus Schmerzfasern in der Dura mater während Meningitis gezeigt, die pharmakologisch blockiert werden konnte. Auch wurde eine wichtige Rolle von Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke als Produzenten proinflammatorischer Zytokine nachgewiesen. Wie bereits weiter oben erwähnt wurde erstmals gezeigt, dass dem von immunkompetenten Zellen gebildeten Zytokin TRAIL in der bakteriellen Meningitis eine inflammationsbegrenzende Wirkung zukommt, die u.a. auf einer Verkürzung der Lebensdauer der aktivierten Leukozyten im ZNS beruht. Weitere Untersuchungen bezogen sich auf die Erkennung bakterieller Zellwandbestandteile durch das innate Immunsystem. Im Projekt wurde gezeigt, dass das LPS-bindende Protein (LBP) zur Erkennung von bakteriellem Peptidoglykan durch den TLR2-Rezeptor notwendig ist. Damit wurde eine neuartige Rolle dieses Proteins entdeckt. Die außerordentliche Potenz von TLR2 zur Auslösung einer akuten meningealen Inflammation konnte durch Verwendung eines synthetischen bakteriellen Lipopeptids *in vivo* erstmals klar von anderen bakteriell aktivierten Signalwegen abgegrenzt werden. Weiterhin untersuchte das SFB Projekt neue erregenseitige Schädigungsmechanismen von *S. pneumoniae*. Von Pneumokokken gebildetes H₂O₂ stellt einen starken Vasodilatator dar, der in der Frühphase der Meningitis direkt in die Blutflußregulation des Wirts eingreift. In einer weiteren Untersuchung wurde weiterhin gezeigt, dass die Neurotoxizität des von Pneumokokken gebildeten H₂O₂ z.T. durch Interaktion mit wirtsseitig gebildetem NO vermittelt wird. Die Befunde legten zudem eine neue Rolle für NO nahe, einem bekannten Neurotoxin in der Meningitis, nämlich eine Inhibition der Neuroregeneration. Für Pneumolysin, ein weiteres Exotoxin von *S. pneumoniae*, wies das Projekt einen neuartigen neurotoxischen Mechanismus nach, der auf direkter Schädigung mitochondrialer Membranen und direkter Hemmung von Caspasen beruht. Entsprechend konnte gezeigt werden, dass Pneumokokken in Endothelzellen zwei Formen von Apoptose induzieren können, wobei Zellwandbestandteile einen Caspase-abhängigen, lebende Pneumokokken jedoch einen Caspase-unabhängigen Signalweg aktivieren. Wie aus dieser Darstellung deutlich wird, gelang es dem SFB-Projekt, die verwendeten *in vivo*- und *in vitro*-Modelle der akuten bakteriellen Meningitis zu solchen mit allgemeiner immunologischer Relevanz weiterzuentwickeln.

Mitochondriale Schadensmechanismen bei Status epilepticus

Über die Kopplung neuronaler Aktivität mit den Funktionen der Mitochondrien in intakten Nervenzellen war bisher wenig bekannt. Dies galt insbesondere für pathologische Bedingungen wie die Epilepsie. Während der Laufzeit des SFB konnte von der Gruppe um Heinemann und Kann für komplexe Hirnschnittpräparate gezeigt werden, dass unter Bedingungen physiologischer neuronaler Aktivität eine sehr enge neurometabolische Kopplung existiert, die zum Teil von Ca²⁺-Ionen vermittelt ist. Bei akuter epileptiformer Aktivität bzw. Status epilepticus führt diese enge Kopplung zu synchroner Membran-Depolarisation der Mitochondrien in neuronalen Dendriten und Somata, was mit erhöhter Produktion von toxischen freien Radikalen und Schädigungen des mitochondrialen Energiemetabolismus (metabolische Dysfunktion) einhergeht. Diese metabolische Dysfunktion während neuronaler Aktivität konnte auch in 'ex vivo' Hippocampus-Gewebe von chronisch-epileptischen Ratten (Pilocarpin-Modell) und von Patienten mit Temporallappen-Epilepsie nachgewiesen werden; sie steht möglicherweise in Zusammenhang mit mitochondrialer DNA-Schädigung durch freie Radikale. Mit diesen Ergebnissen konnte die Existenz von

chronischer mitochondrialer Dysfunktion bzw. Schädigung bei Epilepsie grundsätzlich belegt und es konnten die zugrundeliegenden pathologischen zellulären Mechanismen weitgehend aufgeklärt werden. Diese Befunde haben das internationale wissenschaftliche Interesse an mitochondrialen Schadensmechanismen bei Epilepsie stark befördert. Die Studien werden gegenwärtig in enger Kooperation mit anderen Arbeitsgruppen (Molekulargenetik, Biochemie) fortgesetzt.

Erstnachweis einer direkten, Antigen-unabhängigen und Calcium-abhängigen Schädigung von Neuronen durch T-Zellen im EAE Modell

Neben indirekten Schadensmechanismen könnten enzephalitogene, d.h. die MS bzw. EAE verursachende T-Zellen, direkten Kontakt mit Neuronen aufnehmen und hierdurch Schaden anrichten. Daher haben das SFB Projekt Zipp, in enger Zusammenarbeit mit dem Projekt Nitsch ein Kokultur-System etabliert, bei dem murine Antigen-spezifische T-Zellen auf lebende Hirnschnitte appliziert werden. Die T-Zellen werden vor der Kokultur mit einem intravitalem Farbstoff markiert, der für die Dauer der Beobachtung in den T-Zellen verbleibt. Für die Analyse der neuronalen Aktivität werden die Hirnschnitte (ebenfalls vor der Kokultur) mit einem intravitalem Farbstoff markiert, der die intrazelluläre Kalzium-Konzentration anzeigt. Mit Hilfe der 2-Photon-Mikroskopie konnte in der Tiefe des Hirnschnittes, in der die Neurone intakt sind, Interaktionen von T-Zellen und Neuronen in ihrem organotypischen Gewebeverbund über einige Stunden in Echtzeit beobachtet werden. Dabei zeigte sich, dass sich CD4-positive Lymphozyten, die spezifisch für das Proteolipid-Protein (PLP) sind und für die Induktion der passiven EAE genutzt werden, aktiv im Hirngewebe fortbewegen und sowohl mit anderen T-Zellen als auch mit Zellen des ZNS in Kontakt treten. Insbesondere konnte gezeigt werden, dass diese T-Zellen direkt mit dem Zellkörper und -fortsätzen von Neuronen interagieren und in diesen zu einem zunächst oszillierenden Kalzium-Anstieg führen. In der Mehrzahl der Beobachtungen führte diese Aktivierung zu einer schließlich anhaltenden, letalen Erhöhung des Kalzium-Spiegels in den Neuronen. Daraus folgt, dass T-Zellen in aktiviertem Zustand wahrscheinlich generell in der Lage sind, unabhängig von ihrer Antigen-Spezifität, direkt mit Neuronen zu interagieren und neuronalen Schaden zu verursachen.

Aufklärung der modulatorischen Rolle von NO in der Regulation der Hirndurchblutung: Aktivierung von K-Kanäle an der glatten Gefäßmuskelzelle

Mit der Identifizierung des Stickstoffmonoxids als endothelium derived relaxing factor (EDRF) glaubte man Anfang der 90er Jahre, einen wesentlichen Mediator der zerebralen Blutflussregulation aufgedeckt zu haben. Untersuchungen während der Laufzeit des SFB zeigten allerdings erstmals, dass ein basaler, v.a. über cGMP vermittelter NO Spiegel im Sinne eines Modulators für die zerebrale Blutflussregulation von zentraler Bedeutung ist. Von diesem basalen NO-Spiegel wird in erster Linie die Funktion von Kaliumkanälen (hier v.a. Ca^{2+} -abhängige und ATP-sensitive Kaliumkanäle) der glatten Gefäßmuskelzellen positiv beeinflusst. Somit gelang es der Gruppe Lindauer, einen wesentlichen Mechanismus dieser wichtigen Modulatorfunktion des NO an zerebralen Gefäßen aufzuklären. Zudem konnten wir die auf eine Reihe von pathophysiologischen Prozessen des Gehirns resultierende Störung der zerebrovaskulären Regulation auf eine relativ unspezifische, aber effektive Beeinträchtigung der Funktion von glattmuskelzelligen Kaliumkanälen zurückführen, die möglicherweise durch eine Reduktion des physiologischen basalen NO-Spiegels verursacht wird.

Neurotransmitter kontrollieren die Aktivierung von Mikrogliazellen.

Mikrogliazellen werden als die pathologischen Sensoren im Zentralnervensystem angesehen. Jegliche pathologische Veränderung im CNS führt zu einer Aktivierung von Mikrogliazellen. Daten aus dem Labor von Kettenmann haben aber gezeigt, dass die Aktivierung kontextabhängig ist, d.h. unterschiedliche Pathologien führen zu unterschiedlichen Formen der Aktivierung. Ein herausragendes Beispiel ist dabei die Aktivierung der Mikrogliazellen im Kontext von Hirntumoren. Die Mikrogliazellen haben keinen inflammatorischen Phänotyp, obwohl sie nach ihrer Morphologie aktiviert sind. Dafür werden andere Gene exprimiert. Der Aktivierungsprozess wird durch eine Vielzahl von Faktoren geregelt. Man unterscheidet zwischen zwei Typen von Signalen: 'On-Signale' sind Faktoren, die neu in einem pathologischen Kontext auftreten. Beispiele dafür sind Zellwandbestandteile von Bakterien in Zusammenhang mit Meningitis oder Blutfaktoren wie der Komplementfaktor 5a im Zusammenhang mit einer Ischämie. Im Gegensatz dazu gibt es 'Off-Signale', die konstitutiv vorhanden sind und in einer Pathologie reduziert

Allgemeiner Teil

werden. Im SFB Projekt Kettenmann wurde etabliert, dass Neurotransmitter solche 'Off-Signale' darstellen. Im Zuge dieser Untersuchungen wurden erstmals eine Reihe von Transmitterrezeptoren an Mikrogliazellen beschrieben und deren Existenz dokumentiert. Diese Rezeptoren umfassen GABA_B Rezeptoren, verschiedene purinerge Rezeptoren, adrenerge Rezeptoren, Dopaminrezeptoren und - bisher unpubliziert - auch Serotoninrezeptoren. Generell reduziert eine Aktivierung dieser Rezeptoren den proinflammatorischen Phänotyp der Mikroglia. Dabei zeigen die verschiedenen Rezeptoren ein unterschiedliches Muster in der Suppression von z. B. Interleukin-6 oder NO. Generell etabliert sich nun das Konzept, dass die Anwesenheit von Transmittern einen anti-inflammatorischen Effekt auf Mikroglia hat, während das Fehlen zu einer leichteren Aktivierung führt. Damit wirken die Transmitter wie eine Bremse der Mikroglia-Aktivierung.

Bluthirnschrankenstörung und Dysfunktionen des cerebralen Cortex

Die Bluthirnschranke trennt Blutplasma und Interstitialraum des Nervensystems und verhindert die Übertragung systemischer Veränderungen auf das Gehirn. Eine große Zahl von neurologischen Erkrankungen (Tumoren, Fehlbildungen, Trauma, Schlaganfall) ist mit Störungen der Bluthirnschrankenfunktion verbunden. Die unmittelbare Folge sind vasogene Hirnödeme, die durch den Einstrom von Plasmaproteinen - insbesondere Albumin - bedingt sind. In den Studien des SFB-Projektes Heinemann und Friedman wurde nach isolierter Bluthirnschrankenöffnung erstmals gezeigt, dass Astrozyten neben Perizyten Albumin aufnehmen können und so das vasogene Ödem begrenzen. Die Albuminaufnahme führt zu einer Aktivierung von Astrozyten. Der Prozess ist TGF- β abhängig. Öffnung der Bluthirnschranke, aber auch direkte Applikation von Albumin und Aktivierung von TGF- β Rezeptoren führt mit einer Verzögerung von Tagen zur Entstehung eines hyperexzitablen Herdes und zu einer verschlechterten motorischen Funktion. Diese pathologischen Veränderungen halten viele Wochen an, obwohl die Bluthirnschranke wieder geschlossen ist. Blockade der TGF- β Rezeptoren verhindert den pathogenetischen Prozess, der auf veränderten Eigenschaften von Astrozyten beruht. Diese betreffen die Fähigkeit zur Kaliumregulation und die Fähigkeit, die extrazellulären Glutamatspiegel zu regulieren. Das Projekt konnte damit einen neuen molekularen Mechanismus etablieren, welcher die kortikale Dysfunktion nach Bluthirnschrankenstörung erklären kann. Hieraus ergeben sich offensichtliche therapeutische Strategien, welche derzeit präklinisch getestet werden.

Rolle von Angiogenese und Vaskulogenese nach milder zerebraler Ischämie

Während Gefäßneubildung nach ischämischen Infarkten sowohl im Tier als auch beim Menschen als Phänomen gut beschrieben ist, war bislang gänzlich unklar, ob dies von irgendeiner Relevanz für die funktionelle Erholung ist. Im SFB Projekt Endres gelang es erstmals nachzuweisen, dass eine Gefäßneubildung die Erholung nach Schlaganfall verbessern kann. Als therapeutische Intervention wurden Mäuse körperlich trainiert. Nach sehr milden Schlaganfällen mit mehrwöchigem Überleben zeigte sich nun nicht nur eine erhöhte Produktion von endotheliale Stickstoffmonoxid in der Gefäßwand, sondern auch eine höhere Anzahl zirkulierender endothelialer Vorläuferzellen im Blut. Endotheliale Vorläuferzellen wandern dabei signifikant häufiger in das ischämische Hirn ein. Viele Wochen nach Schlaganfall zeigten sich schließlich im Vergleich zur Kontrollgruppe eine größere Anzahl neugeborener Endothelzellen, eine höhere Dichte perfundierter Gefäße mit normaler Morphologie und guter vaskulärer Reaktivität sowie signifikant höhere cerebrale Blutflüsse. Dass es sich bei der NO-vermittelten Gefäßneubildung nicht nur um ein bloßes Epiphänomen sondern vielmehr um einen neuen Mechanismus zur Schlaganfallerholung handelt, zeigen die folgenden Experimente: die protektiven Effekte körperlicher Aktivität waren völlig verschwunden in 1) Mäusen die keine Produktion von endotheliale NO aufweisen (sog eNOS knockout Mäuse), 2) in Mäusen, die nach Induktion des Schlaganfalls einen Hemmstoff des NO-produzierenden Enzyms erhielten, 3) weiterhin in Mäusen, die ebenfalls nach dem Schlaganfall mit einem spezifischen Angiogenesehemmstoff, wie aus der Krebstherapie bekannt (Endostatin), behandelt wurden. Das SFB Projekt, das sehr eng mit dem Projekt Priller und Dirnagl interagiert (Kochenmarkschimären), konnte damit erstmals einen kausalen Zusammenhang zwischen induzierter Angio/Vaskulogenese und funktioneller Erholung nach Schlaganfall nachweisen. Die Arbeitsgruppe arbeitet derzeit an der Überprüfung der klinischen Relevanz und Anwendbarkeit dieser Befunde.

Diese Auswahl von Befunden aus dem SFB, welche allesamt international hochrangig publiziert und beachtet wurden, und in vielen Fällen von Editorials begleitet wurden, demonstriert, dass es dem SFB mit-

tels intensiver Kollaboration innerhalb, aber auch außerhalb des SFBs, gelungen ist eine Vielzahl von bisher unbekanntem, aber offensichtlich klinisch hochrelevanten Interaktionen von nicht-neuronalen Elementen mit Neuronen zu beschreiben und diese zellulär und molekular zu charakterisieren. Durch die starke Wechselwirkung der Kliniker und Grundlagenforscher im SFB ist es auch möglich gewesen, hieraus neue diagnostische und therapeutische Strategien bei verschiedenen Hirnerkrankungen abzuleiten. Einige davon befinden sich derzeit in der klinischen Prüfung.

2.2 Entwicklung der Kooperation im Sonderforschungsbereich und Außenwirkung des Sonderforschungsbereichs

Wie bereits aus der Zusammenfassung der wissenschaftlichen Ergebnisse (2.1) ersichtlich, und in den Erläuterungen zur strukturellen Wirkung des SFB (3.) weiter ausgeführt, war der Sonderforschungsbereich von Anfang an stark interdisziplinär und kooperativ angelegt. Aufgrund der nicht-neuronalen Ausrichtung interagierten im SFB nicht nur 'klassische Neurowissenschaftler' (Neurologie, Neuroanatomie, Neurophysiologie, Neuropathologie, Neurochirurgie, Neuroimmunologie, Neuroonkologie), sondern auch Mikrobiologen, Endothelforscher, Biochemiker, Immunologen, etc. Am Anfang der Förderperiode war die Interaktion noch sehr breit angelegt und es war unklar, welche Schwerpunkte sich herauskristallisieren würden. Interessanterweise waren immunologische Aspekte am Anfang noch unterrepräsentiert und es war eines der Desiderate der Gutachter nach der ersten Förderperiode, diesen Bereich zu verstärken. Während nun immunologisch/inflammatorische Themen und Interaktionen immer mehr in den Fokus rückten, wurde klar, dass es z.B. im Bereich Neuroonkologie und chron. Neurodegeneration (insbes. Alzheimer'sche Erkrankung) keine kritische Masse gab.

Im Laufe der Förderperioden rückten die Projekte immer näher aneinander, wobei die Basis für die Zusammenarbeit zunehmend übergeordnete Pathomechanismen waren. Hier zu nennen sind vor allem die Gebiete 'Akuter/chron. Gewebeschaden', 'endogene Protektion', 'Inflammation', 'Interaktion Hirn-Immunsystem', und 'Regeneration'. Trotz der von den einzelnen Projekten beforschten unterschiedlichen Hirnerkrankungen (Schlaganfall, MS, Epilepsie, Meningitis, Hirntumor, etc.) wurde deutlich, dass bei diesen Erkrankungen sehr ähnliche, überlappende Mechanismen beim Gewebeschaden bzw. beim Schutz vor Schaden und bei der Regeneration gibt. Als Beispiel sollen hier nur die die DAMP- (Danger-associated molecular pattern) Signalwege, der TRAIL-Signalweg, oder die komplexe Rolle von Zellen des adaptiven Immunsystems bei Schaden, Schutz, und Regeneration genannt werden, welche gleichermaßen bei Schlaganfall, Meningitis, Hirntrauma, MS, und Epilepsie eine wichtige, von SFB-Projekten teilweise erstmals beschriebene Rolle spielen.

Maß für den Erfolg der Interaktion ist dabei zum einen die Vielzahl der gemeinsamen, auch hoch- und höchstrangigen Publikationen von Wissenschaftlern aus verschiedenen SFB-Projekten. Hierzu zählen auch eine Vielzahl von Editorials, News and Views, etc. welche sich mit diesen Befunden befassen. Ein ebenso wichtiger Indikator ist aber auch die gemeinsame Weiterführung wesentlicher Bereiche der Forschung des SFB507 in kollaborativen Forschungsprojekten. Hierzu zählen ein kürzlich etablierter Transregio (TR43 'The brain as a target of inflammatory processes' Berlin/Göttingen, Sprecherin SFB 507-Mitglied Zipp, aus dem SFB507 beteiligt: Aktas, Dirnagl, Endres, Kettenmann, Klötzel, Nitsch, Priller), ein seit ca. einem Jahr laufendes Graduiertenkolleg (GRK 1258 'Der Einfluss von Entzündung auf die Funktion des Nervensystems', Sprecher Zipp, Kettenmann, weitere SFB507 Mitglieder: Aktas, Dirnagl, Nitsch, Priller, Hendrix, Weber, Bechmann), sowie in der Exzellenzcluster 'NEUROCURE' (beteiligte PIs aus dem SFB507: Dirnagl, Dreier, Einhüpl, Endres, Heinemann, Kettenmann, Klötzel, Meisel, Nitsch, Zipp). Es kann ohne Übertreibung gesagt werden, dass diese erfolgreichen Initiativen unmittelbares Resultat der sehr intensiven Zusammenarbeit und der gemeinsamen Formulierung von Hypothesen im SFB507 waren. Es wird somit möglich sein, die Kooperationen, welche sich im SFB507 entwickelt haben, auf einer neuen Stufenleiter fortzuführen, und weitere Wissenschaftler für die gemeinsamen Projekte zu rekrutieren und zu begeistern.

Allgemeiner Teil

2.3 Erläuterung zur internen Organisation des SFB und zum Umgang und zu den Verfahrensweisen mit den Mitteln des SFB

Interne Organisation des SFB

Die enge räumliche Nähe der Projektleiter, deren intensive wissenschaftliche Interaktion, auch in anderen Förderinitiativen (z.B. GRK 238 und 1258, SFB-TR3 und SFB-TR43, SFB515, Graduate Program Medical Neurosciences, Berlin Neuroscience Forum), sowie innerhalb der medizinischen Fakultät, ermöglichte schnelle, kollegiale Entscheidungen und eine sehr 'flache Hierarchie' innerhalb des SFBs. Konflikte, welche mittels Satzung hätten gelöst werden müssen, sind in der gesamten Förderzeit nie aufgetreten.

Flexibilität des Einsatzes der bewilligten Mittel

Zunächst wurde den Teilprojekten selbst die Möglichkeit gegeben, ihre in einzelnen Ausgabegruppen eingesparten Mittel, hier zumeist Personalkosten, in andere Ausgabegruppen umzuwidmen. Dabei wurde auch innerhalb der Teilprojekte die 30% - Umwidmungsregelung angewandt, d. h. Teilprojekte, die z.B. Personalkosten eingespart haben, konnten zunächst nur eingesparte Personalkosten in Höhe von 30% ihres eigenen Sachmittelansatzes in zusätzliche Sachmittel umwidmen. Eine darüber hinaus gehende Umwidmung musste im SFB-Sekretariat beantragt werden und wurde dann entsprechend der Gesamtausgabesituation im SFB bewilligt.

Kriterien und Verfahren des SFB zur internen Vergabe der zentral bewilligten Mittel

Die zentralen Mittel für Reisen und Gastwissenschaftler wurden in gleicher Höhe an die Teilprojekte vergeben. Die Teilprojekte haben dann selbst über die Verwendung der ihnen bewilligten Mittel aus dem Z-Projekt entschieden.

Bei den Gastwissenschaftlermitteln wurde ein Betrag zurückbehalten (ca. 5.000 - 8.000 € jährlich), um daraus z. B. Gastredner des Berlin Neuroscience Forums zu bezahlen oder langjährige Kooperationen einzelner Teilprojekte zu unterstützen.

Im Laufe des Bewilligungsjahres wurde vor allem die Verwendung der Gastwissenschaftlermittel mit den Teilprojekten abgesprochen, um eventuell nicht benötigte Mittel anderen Teilprojekten mit höherem Bedarf zur Verfügung stellen zu können.

Pauschale Mittel für unvorhergesehene Ausgaben

In der letzten Förderperiode hatte die Med. Fakultät 60.000 € p.a. für unvorhergesehene Ausgaben ('Havarien') zugesagt, bei der DFG waren hierfür keine Mittel beantragt worden. Diese Mittel haben sich als ausgesprochen wichtig erwiesen, um Ersatzbeschaffungen von Geräten zu realisieren (Investitionen konnten über den Haushalt der Fakultät praktisch nicht mehr getätigt werden). In einigen Fällen konnten auch neue Geräte angeschafft werden: Auch eine gute Idee, die eine neue Methode bzw. Gerät erfordert, könnte als 'Havarie' bezeichnet werden (Frömmel, ehem. Forschungsdekan der Charité). Die Bewilligung erfolgte auf formlosen Antrag durch den Vorstand. In der Rückschau kam es über die Förderperiode zu einer etwa gleichen Verteilung der Summe auf die einzelnen Charité-Projekte (außeruniversitäre Einrichtungen, z.B. MDC, konnten aus diesem Pool selbstverständlich nicht bedient werden).

Öffentlichkeitsarbeit

Mit Mitteln des SFB wurde diese nicht unterstützt. Einerseits waren hierfür mehrfach beantragte Mittel nicht bewilligt worden, zum anderen konnte für Presseerklärungen etc. die Presseabteilung der Charité eingesetzt werden. Mehrfach ist der SFB bei Veranstaltungen wie der 'Berliner langen Nacht der Wissenschaften', oder des 'Tages der offenen Tür der Charité' aufgetreten, z.B. mit Postern, Laien-Quizfragen, nicht-invasiven Untersuchungen (Opt. Hirnuntersuchung mit Nahinfrarot, etc.). Hierfür waren jedoch keine gesonderten Mittel erforderlich.

2.4 Veröffentlichungen und Patente aus dem SFB

Auswahl von wesentlichen Publikationen und Patenten aus dem gesamten Förderzeitraum des SFB

A1 (Dreier/Einhäupl):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Petzold GC, Einhäupl KM, Dirnagl U, Dreier JP (2003) Ischemia triggered by spreading neuronal activation is induced by endothelin-1 and hemoglobin in the subarachnoid space. *Ann Neurol* 54:591-598 (IF 8.481)
2. Windmüller O, Lindauer U, Foddiss M, Einhäupl KM, Dirnagl U, Heinemann U, Dreier JP (2005) Ion changes of spreading ischaemia induce rat middle cerebral artery constriction in absence of NO. *Brain* 128:2042-2051 (IF7.967)
3. Dreier JP*, Woitzik J*, Fabricius M*, Bhatia R, Major S, Drenckhahn C, Lehmann T-N, Sarrafzadeh A, Willumsen L, Hartings JA, Sakowitz OW, Seemann JH, Thieme A, Lauritzen M, Strong AJ (2006) Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarisations. *Brain* 129:3224-3237 (IF 7.535)
Featured in: (2007) Spreading depolarizations are indicators of brain damage after subarachnoid hemorrhage. *Nat Clin Pract Neurol* 3: 67-68

Patente:

1. Monitoring und Imaging von Hämoglobinkonzentration mit breitbandiger Spektroskopie (CH379/2007)

A2 (Blasig):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Balla Z, Hoch B, Karczewski P, Blasig IE, Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II δ 2 and γ isoforms regulate K⁺ currents of rat brain capillary endothelial cells under hypoxic conditions. *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 21306-21314
2. Andreeva YA, Krause E, Müller E-C, Blasig IE, Utepbergenov DI, Protein kinase C regulates the phosphorylation and cellular localization of occludin. *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 38480-38486

A5 (Priller/Dirnagl):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Priller J, Flügel A, Wehner T, Boentert M, Haas CA, Prinz M, Fernández-Klett F, Prass K, Bechmann I, de Boer BA, Frotscher M, Kreutzberg GW, Persons DA, Dirnagl U (2001) Targeting of gene-modified hematopoietic cells to the central nervous system: use of the green fluorescent protein uncovers microglial engraftment. *Nat Med*, 7: 1356-1361
2. Priller J, Persons DA, Klett FF, Kempermann G, Kreutzberg GW, Dirnagl U (2001) Neogenesis of cerebellar Purkinje neurons from gene-marked bone marrow cells in vivo. *J Cell Biol*, 155: 733-738
3. Mildner A, Schmidt H, Nitsche M, Merkler D, Hanisch U-K, Mack M, Heikenwälder M, Brück W, Priller J*, Prinz M* (2007) Microglia in the adult brain arise from Ly-6Chi monocytes only under defined host conditions. *Nat Neurosci*, 10: 1544-1553 *equal contribution

A7 (Grune):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Shringarpure, R., T. Grune, J. Mehlhase, K.J.A. Davies: Ubiquitin conjugation is not required for the degradation of oxidized proteins by proteasome. *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 311-318.
2. Mehlhase, J., G. Sandig, K. Pantopoulos, T. Grune: Oxidation-induced ferritin turnover in microglial cells: role of proteasome, *Free Radic. Biol. Med.* 38 (2005) 276-285.

Allgemeiner Teil

A9 (Endres):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Stroh A, Zimmer C, Weir K, Werner N, Gertz K, Kronenberg G, Zimmer C, Mueller S, Sieland K, Nickenig G, **Endres M** (2006) Tracking of systemically administered mononuclear cells in the ischemic brain by high-field magnetic resonance imaging. *Neuroimage* 33:886-897
2. Gertz K, Priller J, Kronenberg G, Winter B, Schröck H, Ji S, Milosevic M, Harms C, Böhm M, Dirnagl U, Laufs U, **Endres M** (2006) Physical activity improves long-term stroke outcome via eNOS-dependent augmentation of neo-vascularization and cerebral blood flow. *Circulation Res* 99: 1132-1140

B6 (Weber/Braun):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Bermpohl D., Halle A., Freyer D., Dagand E., Braun J. S., Bechmann I., Schroder N. W., and Weber J. R. (2005) Bacterial programmed cell death of cerebral endothelial cells involves dual death pathways. *J Clin. Invest* 115, 1607-1615.
2. Hoffmann O., Priller J., Prozorovski T., Schulze-Topphoff U., Baeva N., Lunemann J. D., Aktas O., Mahrhofer C., Stricker S., Zipp F., and Weber J. R. (2007) TRAIL limits excessive host immune responses in bacterial meningitis. *J Clin. Invest* 117, 2004-2013.
3. Hoffmann O., Braun J. S., Becker D., Halle A., Freyer D., Dagand E., Lehnardt S., and Weber J. R. (2007) TLR2 mediates neuroinflammation and neuronal damage. *J Immunol.* 178, 6476-6481.

Preise:

J. Weber hat den H.G. Mertenspreis 2006 der DGNI gewonnen.

B8 (Stein/Welte):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Machelska H, Cabot PJ, Mousa SA, Zhang Q, Stein C: Pain control in inflammation governed by selectins. *Nature Med* 1998, 4(12):1425-1428. Comment in: *Nature Med* 1998, 4(12):1359-1360
2. Machelska H, Mousa SA, Brack A, Schopohl JK, Rittner HL, Schäfer M, Stein C: Opioid control of inflammatory pain regulated by intercellular adhesion molecule-1. *J Neurosci* 2002, 22(13):5588-5596

B9 (Hanisch):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Hanisch UK, van Rossum D, Gast K, Misselwitz R, Goldstein G, Koistinaho J, Kettenmann H and Möller T (2004) The microglia-activating potential of thrombin: The protease is not involved in the induction of proinflammatory cytokines and chemokines. *J Biol Chem* 279: 51880-51887.
2. Hanisch UK, Kettenmann H (2007) Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 10: 1387-1393.*

B11 (Nitsch/Hendrix):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Eljaschewitsch E, Witting A, Mawrin C, Lee T, Schmidt PM, Wolf S, Hörtnagl H, Raine CS, Schneider-Stock R, Nitsch R*, Ullrich O* (2006) The Endocannabinoid Anandamide Protects Neurons during CNS Inflammation by Induction of MKP-1 in Microglial Cells. *Neuron* 49: 67-79

* these senior authors contributed equally

B14 (Zipp/Aktas):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Aktas O, Prozorovski T, Smorodchenko A, Savaskan NE, Lauster R, Kloetzel PM, Infante-Duarte C, Brocke S, Zipp F. Green tea epigallocatechin-3-gallate mediates T cellular NF-kappa B inhibition and exerts neuroprotection in autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol.* 2004 Nov 1;173(9):5794-800.
2. Aktas O, Smorodchenko A, Brocke S, Infante-Duarte C, Schulze Topphoff U, Vogt J, Prozorovski T, Meier S, Osmanova V, Pohl E, Bechmann I, Nitsch R, Zipp F. Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL. *Neuron.* 2005 May 5;46(3):421-32.
3. Zipp F, Aktas O. The brain as a target of inflammation: common pathways link inflammatory and neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci.* 2006 Sep;29(9):518-27. Epub 2006 Aug 1. Review.

B16 (Bechmann):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Bechmann I, Galea I, Perry VH (2007) What is the blood-brain barrier (not)? *Trends Immunol* 28(1):5-11.
2. Kwidzinski E, Bunse J, Aktas O, Richter D, Mutlu L, Zipp F, Nitsch R, Bechmann I (2005) Indoleamine 2,3-dioxygenase is expressed in the CNS and down-regulates autoimmune inflammation. *FASEB J* 19(10):1347-9.
3. Bechmann I, Goldmann J, Kovac AD, Kwidzinski E, Simbürger E, Naftolin F, Dirnagl U, Nitsch R, Priller J (2005) Circulating monocytic cells infiltrate layers of anterograde axonal degeneration where they transform into microglia. *FASEB J.* 2005 Apr;19(6):647-9

C3 (Heinemann/Kann):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Huchzermeyer C, Albus K, Gabriel HJ, Otáhal J, Taubenberger N, Heinemann U, Kovács R, Kann O. Gamma oscillations and spontaneous network activity in the hippocampus are highly sensitive to decreases in pO₂ and concomitant changes in mitochondrial redox state. *J Neurosci.* 2008 Jan 30;28(5):1153-62.
2. Kann O, Kovács R, Njunting M, Behrens CJ, Otáhal J, Lehmann TN, Gabriel S, Heinemann U. Metabolic dysfunction during neuronal activation in the ex vivo hippocampus from chronic epileptic rats and humans. *Brain.* 2005 Oct;128(Pt 10):2396-407.
3. Kovács R, Kardos J, Heinemann U, Kann O. Mitochondrial calcium ion and membrane potential transients follow the pattern of epileptiform discharges in hippocampal slice cultures. *J Neurosci.* 2005 Apr 27;25(17):4260-9.
4. Schuchmann S, Müller W, Heinemann U. Altered Ca²⁺ signaling and mitochondrial deficiencies in hippocampal neurons of trisomy 16 mice: a model of Down's syndrome. *J Neurosci.* 1998 Sep 15;18(18):7216-31.

C6 (Ullrich):

- 1 Diestel A, Aktas O, Hackel D, Häke I, Meier S, Raine CS, Nitsch R, Zipp F, Ullrich O (2003). Activation of microglial poly(ADP-ribose)-polymerase-1 by cholesterol breakdown products during neuroinflammation: A link between demyelination and neuronal damage. *J. Exp. Med.* 198(11), 1729-1740

C7 (Eder/Schilling):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Stock C., Schilling T., Schwab A. & Eder C. Lysophosphatidylcholine stimulates IL-1beta release from microglia via a P2X₇ receptor-independent mechanism. *J. Immunol.*, 177: 8560-8568, 2006.

Allgemeiner Teil

C9 (von Deimling):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Mueller W, Hartmann C, Hoffmann A, Lanksch W, Kiwit J, Tonn J, Veelken J, Schramm J, Weller M, Wiestler O, Louis D, von Deimling A (2002) Genetic signature of oligoastrocytomas correlates with tumor location and denotes distinct molecular subsets. *American Journal Pathology*. 161(1):313-9.

C10 (Kettenmann):

Wissenschaftliche Arbeiten:

1. Hoffmann A., Kann O., Ohlemeyer C., Hanisch U-K and Kettenmann H. (2003) Elevation of basal intracellular calcium as a central element in the activation of brain macrophages (microglia): suppression of receptor-evoked calcium signaling and control of release function. *J. Neurosci*. 23: 4410-4419.
2. Rappert A., Bechmann I., Pivneva T., Mahlo J., Biber K., Nolte C., Kovac A.D., Gerard C., Boddeke H.W.G.M., Nitsch R. and Kettenmann H. (2004) CXCR3-dependent microglial recruitment is essential for dendrite loss after brain lesion. *J. Neurosci.*, 24: 8500-8509.

Reviews:

1. Hanisch, UK and Kettenmann, H. (2007) Microglia – active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain, *Nat. Neurosci*. 10:1387 – 1394.

C12 (Heinemann/Friedman):

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

1. Ivens S, Kaufer D, Flores LP, Bechmann I, Zumsteg D, Tomkins O, Seiffert E, Heinemann U, Friedman A. TGF-beta receptor-mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain*. 2007 Feb;130(Pt 2):535-47. Epub 2006 Nov 21.
2. Seiffert E, Dreier JP, Ivens S, Bechmann I, Tomkins O, Heinemann U, Friedman A. Lasting blood-brain barrier disruption induces epileptic focus in the rat somatosensory cortex. *J Neurosci*. 2004 Sep 8;24(36):7829-36

2.5 Zahl der Promotionen, Habilitationen und Berufungen von Nachwuchswissenschaftlerinnen und Nachwuchswissenschaftlern aus dem SFB (Grund- und Ergänzungsausstattung)

	Anzahl 1. FP		Anzahl 2. FP		Anzahl 3. FP		Anzahl 4. FP	
	w	m	w	m	w	m	w	m
Promotionen	2	5	14	14	10	10	11	8
Habilitationen		3	1	2	1	4		3
Berufungen von Nachwuchswissenschaftlern auf Professuren nach C3, C4, W2 oder W3		1		2		6	1	4

Allgemeiner Teil

3. Strukturelle Veränderungen an der Hochschule

Die Gründung des SFBs fiel in eine Zeit in der die Zukunft der Charité in Berlin Mitte noch stark umkämpft war. Die Einwerbung des SFB 507 und eines begleitenden Graduiertenkollegs stabilisierte neben der Beteiligung am SFB 515 die Vorklinik. Während der weiteren Laufzeit des SFB 507 wurde die Berliner Hochschullandschaft weiter restrukturiert. Krankenhäuser der Berliner Hochschulmedizin fusionierten zweimal (Charité - Rudolph Virchow, dann Charité - Benjamin Franklin), nun vereint als größtes Universitätsklinikum Europas als Charité Universitätsmedizin Berlin unter zwei Hochschulen (Humboldt-Universität, Freie Universität). Der Landeszuschuss Forschung/Lehre wurde bis 2010 um 1/3 (100 Millionen €) gekürzt, nachdem in den Jahren zwischen 1994 und 1997 90 Millionen DM gestrichen werden sollten. Das Klinikum eines Standortes (Charité Campus Buch) wurde zudem privatisiert (Helios AG). Nach einem ersten Universitätsmedizingesetz wurde nun ein zweites 'Universitätmedizingesetz' verabschiedet. Dies gab der Charité eine neue Struktur, mit einer deutlichen Stärkung des Vorstandes (Dekan, Verwaltungsdirektor, und Vorstandsvorsitzender). Vor diesem Hintergrund, und drei Evaluierungen durch den Wissenschaftsrat, setzte die Charité verstärkt auf Fokussierung ihrer Ressourcen, insbesondere in der Forschung. Ausgehend von der Etablierung des SFB 507, und durch die sich hieraus entwickelnde wissenschaftliche Exzellenz, konnten sich die Neurowissenschaften als wichtigster Schwerpunkt der Charité etablieren und wurde durch Forschungsverfügungsflächen für Nachwuchswissenschaftler gestützt. Der SFB 507 spielte hierbei eine instrumentelle Rolle, er war gewissermaßen der Kristallisationskern für die Rekrutierung und Berufung einer Reihe weiterer exzellenter Neurowissenschaftler, sowie einer Vielzahl von über den SFB hinausgehenden neurowissenschaftlichen Kollaborationen in Forschung und Lehre (Klinische Forschergruppe, Berlin Neuroimaging Center, Center for Stroke Research Berlin, Kompetenznetz Schlaganfall, GRKs, Transregios, SFBs, internat. Studiengang Medical Neurosciences, Bernstein Center for Computational Neuroscience etc.), bei denen immer Forscher und Themen des SFB 507 eine Schlüsselrolle spielten und noch spielen. Mit Ablauf der Förderung des SFB ist es gelungen, die Neurowissenschaften an der Charité und darüber hinaus in Berlin auf eine solide Grundlage zu stellen, die ihren Höhepunkt in der Bewilligung des Exzellenzclusters NEUROCURE gefunden hat, der wesentliche Ansätze und Fragestellungen des SFB weiter verfolgen wird. Der SFB war auch Grundlage für den Ausbau der Neurowissenschaften im MDC. Darüber hinaus waren Vertreter des SFBs stark an der Neustrukturierung der Medizinischen Fakultät Charité beteiligt. Hierzu zählen die Einführung leistungsorientierter Mittelvergabe, die Schaffung eines Professorenpools für C3/W2-Professoren mit Ansätzen eines Tenure Track, und später von Juniorprofessuren sowie eines Professorenpools für die Nachfinanzierung von Stiftungsprofessuren.

3.1 Strukturwirkung des Sonderforschungsbereichs im personellen Bereich

Berufungspolitik der Hochschule

Wie oben ausgeführt war der SFB 507 instrumentell für die Etablierung der Neurowissenschaften als wesentlicher Schwerpunkt der Charité und der Berliner Forschungslandschaft. Dies wird auch in der Vielzahl von Berufungen deutlich, auf welche die Existenz des SFBs entscheidenden Einfluss hatte (siehe Tab. unten). Auch bei der Abwehr einer Reihe von Rufungen war der Erhalt der Integrität und Exzellenz des SFB ein wichtiges Argument für die Fakultät, attraktive Angebote zu machen (Nitsch, Priller, Weber, Zipp, Heinemann, Grantyn). Der Zuwachs an Professuren sowie die leistungsorientierte Mittelvergabe der Charité ermöglichte es zudem, Stellen für wiss. Mitarbeiter und techn. Assistenz in den SFB-relevanten Bereichen substantiell zu verstärken (Grundausrüstung + Leistungspool).

Rufe innerhalb des SFBs	Position	Hochschule/Bereich
Aktas	Heisenberg-Professur (Ruf)	Molek. Neurologie
Dirnagl	C4	Exp. Neurologie
Endres	W2 (Ruf auf W3)	Interdisz. Schlaganfallforschung
Paul	C4	Pharmakologie
Priller	W2	Molekulare Psychiatrie
Volk	W3	Med. Immunologie/BCRT
Zipp	W3	Molekulare Neurologie
Wegberufungen		
Bechmann	W3	Uni Frankfurt, Anatomie
Brück	W3	Uni Göttingen, Neuropathologie
Eder	Senior lecturer/Reader	University College London
Grune	W3	Uni Hohenheim, Biologische Chemie
Hanisch	W2	Uni Göttingen, Neuropathologie
Müller	Associate professor	Albuquerque New Mexico, USA
Ullrich	Ordentl. Professor	Uni-Zürich, Anatomie
von Deimling	W3	Uni-Heidelberg
Weber	Primarius	Uni-Klagenfurt
Rufe unter Beteiligung des SFB		
Vajkoczy	W3	Neurochirurgie
Heppner	W3	Neuropathologie
von Deimling	W3	Neuropathologie

Maßnahmen zur Förderung der Lehre und des wissenschaftlichen Nachwuchses

Unmittelbares Resultat der gemeinsamen Forschung im SFB507 war die Gründung zweier DFG-Graduiertenkollegs sowie eines internationalen Master-MD/PhD-PhD Studienganges durch die Mitglieder des SFBs. Ziel war die Strukturierung der Ausbildung in SFB-relevanten Gebieten sowie die Schaffung eines Angebotes für talentierte Studenten welche in SFB-Projekten mitarbeiten wollen.

Zunächst wurde durch die Initiative von Heinemann und eng an den SFB assoziiert, das GRK 238 'Schadensmechanismen im Nervensystem - Einsatz von bildgebenden Verfahren' etabliert (Sprecher Heinemann, Kettenmann; aus dem SFB 507: Blasig, Dirnagl, Eder, Endres, Hanisch, Lindauer, Müller, Nitsch, Zipp). Das Forschungsprogramm dieses neurowissenschaftlichen Graduiertenkollegs basierte auf der Zusammenarbeit von neurowissenschaftlichen Arbeitsgruppen des SFB, reichte jedoch darüber hinaus. Die Teilnehmer am Graduiertenkolleg wurden fundiert in methodische Ansätze zur Untersuchung von Schadensmechanismen im ZNS eingearbeitet und konnten dabei besonders moderne bildgebende Verfahren [Zweiphotonen- und konfokale Laserscannmikroskopie, Fluoreszenz imaging, Funktionelle Kernspintomographie (fMRI), Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS)] in Kombination mit elektrophysiologischen Techniken und zellbiologischen Methoden erlernen und nutzen.

Nach Auslauf des GRK 238 entstand durch Initiative von Zipp und Kettenmann das GRK 1258 'The impact of inflammation on CNS function'; (Sprecher Zipp, Kettenmann; aus dem SFB 507: Bechmann, Dirnagl, Hendrix, Nitsch, Priller, Weber). Andere Aspekte des SFB werden in der Graduiertenschule Mind and Brain weiterbearbeitet.

Allgemeiner Teil

Untersuchungen des SFB hatten gezeigt, dass immunologische Prozesse nicht nur an den klassischen Entzündungserkrankungen des Nervensystems beteiligt sind, sondern auch eine wichtige Rolle bei primär nicht-inflammatorischen Schädigungen spielen. Zentrale Hypothese des GRK ist damit, dass es gemeinsame Mechanismen der Kommunikation zwischen Immun- und Nervensystem gibt. Das wissenschaftliche Ziel dieses Programms fokussiert sich auf Interaktionen von proinflammatorischen und regulatorischen Immunzellen mit Zellen des Nervensystems, den Astrozyten, Mikrogliazellen und Neuronen, also einem zentralen Thema des SFB 507.

Gegründet und geleitet von Neurowissenschaftlern des SFB507 (Vorsitzender der Studienkommission und Projektleiter des DAAD: Dirnagl, Vorsitzender des Zulassungs- und Prüfungsausschusses: Kettenmann, weitere Gründungsmitglieder: Nitsch, Heinemann) besteht seit 2002 an der Humboldt-Universität ein internationaler Master-MD/PhD Studiengang, dessen Ziel die strukturierte Ausbildung in den translationalen Neurowissenschaften ist: das International Graduate Program Medical Neurosciences (www.medical-neurosciences.de). Der in Englisch gehaltene Studiengang hat derzeit ca. 90 Studenten, wovon ca. 50 % aus dem Ausland kommen, und in dem sich Mediziner und Naturwissenschaftler etwa die Waage halten. An der Schnittstelle von Grundlagenforschung und akademischer klinischer Medizin stehen sich Naturwissenschaftler und Mediziner gegenüber, deren unterschiedliche Ausbildung, Methodenkompetenz, 'Sprache', Karriereziele, etc. sich häufig wenig förderlich auf einen bidirektionalen Austausch und damit auf Translation auswirken. Eine mögliche, innerhalb der ersten Förderperioden des SFB etablierte Lösung dieses Problems besteht in der strukturierten Ausbildung von Klinik-Wissenschaftlern, die spezialisiert auf bestimmte Fachgebiete/Erkrankungen sowohl grundlagenwissenschaftliche als auch medizinische Kompetenz besitzen, und welche an dieser Schnittstelle auch attraktive Berufsbilder und Arbeitsbedingungen vorfinden. Der vom DAAD geförderte Studiengang zielt auf die Verbesserung der o.g. Situation. Fakultäts-übergreifend (u.a. Math. Nat. Fakultät) und außeruniversitäre Einrichtungen (u.a. MDC) einbindend, wird ein Master in Medical Neurosciences vergeben, der die Ausbildung in den Grundlagen wie in den klinischen Aspekten des Faches einschließt. Der Abschluss kann, und dies ist einmalig in Deutschland, studienbegleitend zum Medizinstudium erworben werden. Das Graduate Program Medical Neurosciences nahm damit die Grundgedanken des SFB 507 der klinischen Translation sowie der an gemeinsamen Pathophysiologien über 'Krankheitsgrenzen' hinweg orientierten Forschung auf, und konnte eine erfolgreiches, internationales Programm etablieren, das den SFB 507 überdauert und die Rekrutierung von hochmotivierten und talentierten Studenten in neurowissenschaftliche Projekte von Berliner Neurowissenschaftlern ermöglicht. Das Graduiertenprogramm hat eben den Preis des Stifterverbandes und des DAAD für die 10 besten Masterprogramme an Hochschulen in Deutschland gewonnen.

Auf Initiative von Heinemann wurde in der Laufzeit des SFB das Neurowissenschaftliche Zentrum (NWFZ) gegründet, unter starker Beteiligung von Wissenschaftlern des SFB. Ohne die Existenz eines neurowiss. SFBs an der Fakultät wäre es nicht gelungen, ein solches Zentrum zu realisieren. Das NWFZ bietet Nachwuchsgruppen für einen begrenzten Zeitraum Forschungsflächen und Forschungsinfrastruktur (z.B. Multiphotonenmikroskopie, Kleintier-Ultrahochfeld-MR) und unterstützt sie darin, wissenschaftliche Unabhängigkeit zu erlangen. Aufnahmebedingung ist das Vorhandensein von eigenen Drittmittel, die Aufnahme erfolgt kompetitiv durch einen internationalen Beirat.

Ebenfalls auf einer Initiative des SFB, insbesondere von Kettenmann, beruht das Berlin Neuroscience Forum (BNF). Alle 2 Jahre präsentieren sich hier vor allem junge Berliner Nachwuchs-Neurowissenschaftler, sowie neue nach Berlin rekrutierte Wissenschaftler. Das Meeting mit über 300 Teilnehmern hat 'Retreat'-Charakter und findet außerhalb von Berlin in einer Ferienanlage statt. Dadurch ist eine starke Interaktion der Forscher und Kliniker gewährleistet. Das Abschluss-symposium des SFB wird im Juni dieses Jahres unter internationaler Beteiligung beim BNF 2008 stattfinden.

3.2 Strukturwirkung des Sonderforschungsbereichs im Bereich der Infrastruktur

Aus Mitteln des SFB 507 und der Med. Fakultät wurde eine 2-Photonen-Mikroskopieranlage angeschafft. Dies war eine der ersten Installationen dieser Art, völlig neu war die Konfiguration eines NIR-Lasers mit 2 Mikroskopen (eines für *in vitro*, eines für *in vivo* Messungen). Das Gerät wurde im NWFZ aufgestellt, wurde und wird von einer Vielzahl von Gruppen des SFBs genutzt und hat zu einer Vielzahl von Publikationen beigetragen. Wegen der Kofinanzierung durch die Fakultät steht die Anlage auch nicht SFB-

Mitgliedern zur Verfügung, was zu einer Reihe von sehr erfolgreichen Kollaborationen über die Grenzen des SFB hinaus geführt hat.

Bei der Anschaffung eines 7-T Tierscanners mit Mitteln des BMBF (Berlin Neuroimaging Center) war die Existenz des SFB 507 ebenfalls instrumentell, ohne ihn wäre eine Bewilligung vermutlich nicht erfolgt. Das Gerät ist ebenfalls im NWFZ aufgestellt und wurde von SFB Gruppen intensiv genutzt.

Das bereits oben beschriebene NWFZ ist eine klare 'Infra-Strukturwirkung des SFB', es konnte so ein Gebäude (mit Ausstattung und laufenden Kosten) zur Nachwuchsförderung etabliert werden, das sich außerordentlich bewährt hat und mittlerweile innerhalb der Fakultät und darüber hinaus als Vorbild für ähnliche Initiativen dient.

Der SFB hatte während seiner Laufzeit eine intensive Beteiligung von und Zusammenarbeit mit Gruppen von außeruniversitären Einrichtungen. Insbesondere zu nennen ist hier das Max Delbrück Centrum (Berlin-Buch), das mit mehreren Projekten beteiligt war, das Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie (FMB) (ein Projekt), sowie das Max Planck Institut für Infektionsforschung und das Deutsche Rheumaforschungszentrum (DRFZ), mit denen intensive Kollaborationen bestanden. Der gute Verlauf und Erfolg dieser Zusammenarbeiten wird auch dadurch deutlich, dass sie in den aus dem SFB 507 entwickelten Initiativen (z.B. SFB-TR3, SFB-TR43, Exzellenzcluster NEUROCORE) noch weiter ausgebaut und institutionalisiert wurden.

Der SFB war auch ein treibendes Agens möglichst rasch mit relativ einfachen Baumaßnahmen Arbeitsfähigkeit für die Laboratorien der Neurologie, der Anatomie, der Neurophysiologie und Biochemie herzustellen, und war ein Grund für die vorrangige Renovierung des Baus für das NWFZ sowie die Anatomie. Ebenfalls wurde in moderne Tierlaboratorien der Physiologie (jetzt Pharmakologie) und in die Einrichtungen der ehemaligen Frauenklinik investiert.

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 A1

4.1.1 Titel:

Cortical spreading ischaemia

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

4.1.3 Leiter:

Dr. Dreier, Jens P., 11.09.1965
Neurologische Klinik Campus Charité Mitte
Charité Universitätsmedizin Berlin
Schumannstr. 20/21
10117 Berlin
Tel: +49-30-450-560024
Fax: +49-30-450-560932
E-mail: jens.dreier@charite.de

Prof. Dr. Einhäupl, Karl M., 11.01.1947
Neurologische Klinik Campus Charité Mitte
Charité Universitätsmedizin Berlin
Schumannstr. 20/21
10117 Berlin
Tel: +49-30-450-560102
Fax: +49-30-450-560932
E-mail: karl.einhaeupl@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung

Ausgangspunkt bei Antragstellung war ein von den Antragstellern entdecktes, neues Ischämieprinzip, die ‚cortical spreading ischaemia‘, welches bei der Entstehung von ‚delayed ischaemic neurological deficits‘ (DIND) nach Subarachnoidalblutung (SAB) eine Rolle spielen könnte. Die CSI wird durch eine ‚cortical spreading depolarisation‘ (CSD) ausgelöst, die als Folge einer veränderten vaskulären Reaktivität nicht zur Vasodilatation mit konsekutiver Hyperämie, sondern zu einer schweren Vasokonstriktion mit konsekutiver Ischämie führt. D.h. eine ‚Inversion der Kopplung‘ zwischen neuronaler Depolarisation und regionalem cerebralen Blutfluss (CBF) ist hier die Ursache eines Schlaganfalls. In der zurückliegenden Antragsperiode wurden die Eigenschaften der CSI weiter tierexperimentell charakterisiert und es wurde begonnen, Methoden zum Nachweis von CSD und CSI vom Tierexperiment zum Menschen zu translätieren (Elektrokortikographie plus Laser Doppler-Flussmessung über einen subduralen Opto-/Elektrodenstreifen). Darüber hinaus haben wir auch begonnen, Methoden beim Menschen voranzutreiben, um CSD nicht-invasiv nachweisen zu können (Nahinfrarotspektroskopie, grundlegende Arbeiten zu Strategien für die funktionelle Kernspintomographie). Im Einzelnen wurden folgende Projektteile bearbeitet:

In vitro-Modell der CSI in der isolierten mittleren Zerebralarterie der Ratte: Bei Antragstellung hatten wir bereits die Änderungen der extrazellulären Ionenkonzentrationen (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , pH, Extrazellulärraumvolumen) während CSI in der Ratte mit Mikroelektroden gemessen. Wir wollten nun überprüfen, ob diese Ionenänderungen in der isolierten A. cerebri media in Gegenwart von NO zur Vasodilatation und in seiner Abwesenheit zur Vasokonstriktion führen, um damit ein *in vitro*-Modell für die CSI zu etablieren.

Untersuchungen zur Pharmakosensitivität der CSI gegenüber N-methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptor-Antagonisten bei der Ratte und in Hirnschnitten vom Menschen: Wir überprüften, ob gängige Hemmer von CSD wie NMDA Rezeptor-Antagonisten auch CSI blockieren. Da dies nicht der Fall war und eine erhöhte Baseline- K^+ -Konzentration Teil des experimentellen Protokolls ist, welches zur CSI führt, wurden weiterführende Untersuchungen zum Einfluss einer erhöhten Baseline- K^+ -Konzentration auf die Sus-

A1 Dreier/Einhüpl

zeptibilität von CSD gegenüber NMDA Rezeptor-Antagonisten in Hirnschnitten von Ratte und Mensch durchgeführt.

Untersuchungen zum Einfluss eines NO-Mangels auf die K^+ -Schwelle zur Auslösung einer CSD: Aus unseren Voruntersuchungen ergab sich der Verdacht, dass ein NO-Mangel, wie er zur Induktion von CSI erzeugt wird, gleichzeitig auch zu einer Senkung der K^+ -Schwelle für CSD führt. Diese Eigenschaft eines NO-Mangelzustands charakterisierten wir *in vivo* und in Hirnschnitten. In einer weiteren Arbeit wurde in der Zellkultur untersucht, über welche Ca^{2+} -Kanäle der NO-Mangel die K^+ -Schwelle für CSD modulieren könnte.

Translation des Modells der CSD und CSI vom Tierexperiment zum Menschen; Teil I: Suche nach CSDs bei Patienten mit aneurysmatischer SAB: Mit Hilfe subduraler Elektrodenstreifen untersuchten wir in einer internationalen, multizentrischen, prospektiven Studie, ob CSDs nach SAB auftreten und, ob Cluster von CSDs mit prolongierten Depressionsphasen das elektrophysiologische Korrelat von DINDs nach SAB sind.

Schadensprogression durch Periinfarktdepolarisationen nach ischämischem Schlaganfall, Translation vom Tierexperiment zum Menschen: Die Literatur legt eine enge Verwandtschaft zwischen den Depolarisationswellen nach ischämischem Schlaganfall und nach SAB nahe. Die experimentelle Evidenz spricht weiterhin dafür, dass beide CSI induzieren können. Wir nahmen daher an einer internationalen, multizentrischen, prospektiven Studie teil, in der untersucht wurde, ob CSDs nach malignem ischämischen Mediainfarkt auftreten.

Klinische Studie, ob Migräne ein Risikofaktor für DINDs ist: CSD ist das pathophysiologische Korrelat der Migräneaura. Andererseits ergab die oben erwähnte klinische Studie, dass CSDs mit hoher Frequenz nach SAB auftreten. Weiterhin legen unsere tierexperimentellen Daten nahe, dass CSDs über ein sekundäres Perfusionsdefizit zur Entstehung von DINDs beitragen könnten. Daher untersuchten wir in einer retrospektiven klinischen Studie, ob Migräne ein Risikofaktor für DINDs sein könnte.

Ergebnisse und ihre Bedeutung unter Hinweis auf die Publikationen aus den Teilprojekten, angewandte und ggf. neu entwickelte Methoden, ggf. offene Fragen

Im Mittelpunkt der früheren Antragsperioden hatten Untersuchungen zum prinzipiellen Mechanismus der CSI gestanden (Dreier et al., 1998; 2001) sowie der Nachweis, dass CSI ein Induktor für neuronalen Schaden bis hin zu ausgedehnten corticalen Nekrosen ist (Dreier et al., 1998; 2000). Weiterhin entwickelten wir die Hypothese, dass CSI eine besondere Bedeutung für die Entstehung von DINDs nach SAB haben könnte und lieferten experimentelle Evidenz dafür, dass die Normalisierung der gestörten Kopplung, die der CSI zugrunde liegt, ein interessantes, neues Therapieziel darstellt (Dreier et al., 1998; 2000; 2001; 2002a; 2002b; Petzold et al., 2003). In der zurückliegenden Antragsperiode lag der Schwerpunkt auf der Translation von der ‚bench‘ zur ‚bedside‘, d.h., wir haben damit begonnen, dass prinzipielle Auftreten von CSD und CSI bei Patienten mit SAB nachzuweisen. Zusätzlich wurden der CSI-Mechanismus und seine therapeutische Beeinflussbarkeit weiter im Tierexperiment charakterisiert.

Ad: *In vitro*-Modell der CSI in der isolierten mittleren Zerebralarterie der Ratte:

In der vorliegenden Arbeit, die wir in *Brain* publizierten, wurde CSI bei der Ratte *in vivo* durch den NO Fänger Oxyhämoglobin und eine erhöhte K^+ Konzentration im Subarachnoidalraum ausgelöst, während das langsame Gleichstrompotential, der pH, das Extrazellulärvolumen und die Konzentrationen von K^+ , Na^+ , Ca^{2+} and Cl^- im Cortex mit Mikroelektroden gemessen wurden. Im Anschluss wurde ein Ioncocktail (‚cocktail_{SI}‘) extraluminal an der isolierten mittleren Zerebralarterie appliziert, der die gleiche Ionenzusammensetzung aufwies, die vorher während CSI *in vivo* gemessen worden war. Die extraluminale Applikation des ‚cocktail_{SI}‘ führte in Gegenwart von NO zur Dilatation und in Abwesenheit von NO als Folge einer NO-Synthase (NOS) Inhibition zur Konstriktion der mittleren Zerebralarterie. Dies Verhalten zeigte eine gute Übereinstimmung mit dem Auftreten der ‚cortical spreading hyperaemia‘ in Anwesenheit von NO und der CSI in Abwesenheit von NO *in vivo*. Der L-Typ Ca^{2+} Kanal Inhibitor Nimodipin war in der Lage, die ‚cocktail_{SI}‘-induzierte Vasokonstriktion trotz Abwesenheit von NO in eine Vasodilatation umzukehren ähnlich der Umkehrung der CSI in eine fast normale ‚cortical spreading hyperaemia‘ durch Nimodipin *in vivo*. K^+ war der dominierende Vasokonstriktor im ‚cocktail_{SI}‘. Seine vasokonstriktorische Wirkung wurde durch NO-Mangel als Folge von NOS Inhibition deutlich verstärkt. Die Ergebnisse leg-

ten nahe, dass die extrazellulären Ionenänderungen der wesentliche Mediator der vaskulären Antwort auf CSD ist. In Anwesenheit von NO führen sie zu Vasodilatation und in Abwesenheit zu Vasokonstriktion (Windmüller et al., 2005).

Ad: Untersuchungen zur Pharmakosensitivität der CSI gegenüber N-methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptor-Antagonisten bei der Ratte und in Hirnschnitten vom Menschen:

CSD ist unter physiologischen Bedingungen mit einer ‚cortical spreading hyperaemia‘ verbunden und kann durch NMDA Rezeptorantagonisten blockiert werden. Unter der Kombination eines NO Mangels mit einer erhöhten Baseline- K^+ -Konzentration kommt es zur CSI. In der vorliegenden Arbeit, die wir in *Stroke* publizierten, wurde untersucht, ob CSI genauso wie die normale CSD durch NMDA Rezeptor-Antagonisten blockiert wird. Wir induzierten CSI *in vivo* bei der Ratte durch die Kombination des NO Fängers Oxyhämoglobin mit einer erhöhten Baseline K^+ -Konzentration. Die Applikation erfolgte in einer kraniellen Fensterpräparation. Als NMDA Rezeptor-Antagonist wurde MK-801 verwendet. Eine Hemmung der CSI durch MK-801 konnte *in vivo* nicht erreicht werden. Daraufhin untersuchten wir, ob die Erhöhung der Baseline K^+ -Konzentration die Pharmakoresistenz gegenüber NMDA Rezeptor-Antagonisten ausreichend erklärt. Dies konnte bestätigt werden. Im Anschluss untersuchten wir den Effekt einer erhöhten Pharmakoresistenz gegenüber NMDA-Rezeptor Antagonisten weiter in Hirnschnitten von Ratten und Menschen (Neocortexschnitte von Patienten mit Temporallappenepilepsie) mit Hilfe von Mikroelektroden und Messung des intrinsischen optischen Signals. Auch hier bestätigten sich die Beobachtungen prinzipiell. Sowohl der nicht-kompetitive NMDA Rezeptor Antagonist MK-801 als auch der kompetitive Antagonist ‚D-2-amino-5-phosphonovaleric acid‘ (2-APV) führten nur zu einer gewissen K^+ -Schwellenerhöhung für CSD. Wir folgerten aus unseren Ergebnissen, dass eine erhöhte Baseline K^+ -Konzentration, wie sie in Energiemangelsituationen, z.B. nach SAB oder in der Penumbra nach Verschluss der mittleren Zerebralarterie beobachtet wird, die Wirksamkeit von NMDA Rezeptor Antagonisten auf CSD deutlich reduziert. D.h., dass NMDA Rezeptor-Antagonisten unter diesen Bedingungen nicht ausreichend gegen CSD wirksam sind (Petzold et al., 2005a). Diese Ergebnisse sind auch interessant im Hinblick auf das Versagen von NMDA Rezeptor-Antagonisten in einer Reihe von klinischen Studien bei ischämischem Schlaganfall und Schädel-Hirn-Trauma.

Ad: Untersuchungen zum Einfluss eines NO-Mangels auf die K^+ -Schwelle zur Auslösung einer CSD:

Die vorliegende in *Stroke* publizierte Arbeit untersuchte den Effekt eines NO-Mangels auf die K^+ -Schwelle zur Auslösung von CSD. Wie bereits erwähnt, steigt die extrazelluläre Baseline- K^+ -Konzentration unter verschiedenen pathologischen Bedingungen im Gewebe an und wirkt dann als Induktor für CSD. Dies gilt z.B. für den Krankheitsverlauf nach SAB oder auch für die Penumbra nach Okklusion der mittleren Zerebralarterie. Experimentelle und klinische Evidenz spricht dafür, dass die NO Konzentration nach SAB abnimmt, da der NO Fänger Hämoglobin sowie endogene NOS Inhibitoren im Subarachnoidalraum nach SAB freigesetzt werden und perivaskuläre nitregerge Nerven degenerieren. Zunächst untersuchten wir den Einfluss eines NO Mangels durch NOS Inhibition auf die K^+ -Schwelle *in vivo* bei der Ratte. Dabei wurden das langsame Gleichstrompotential mit einer subduralen Elektrode und der cerebrale Blutfluss mit Laser Doppler-Flussmessung *in vivo* aufgezeichnet. NOS Inhibition reduzierte die K^+ -Schwelle für CSD signifikant. Der Effekt wurde in neocorticalen Hirnschnitten von Ratte bzw. Mensch, d.h. in einem System ohne Blutzirkulation, bestätigt. Inhibition der Guanylyl Cyclase oder selektive Inhibition der neuronalen NOS hatten keinen Effekt. Die K^+ -Schwellenveränderungen durch NOS Inhibition konnten in Hirnschnitten durch Antagonisten von P/Q-Typ Ca^{2+} Kanälen bzw. NMDA Rezeptoren aufgehoben werden. Diese Befunde sprachen dafür, dass neuronale Ionenkanäle an der K^+ -Schwellenmodulation durch NO beteiligt sind. Mit Hilfe von NO-sensitiven Fluoreszenzfarbstoffen konnten wir in Hirnschnitten nachweisen, dass CSD die Produktion von NO in Neuronen und Endothelzellen, nicht aber Astrozyten, erhöht. Zusammengefasst legen die Ergebnisse nahe, dass der niedrige NO-Spiegel nach SAB das Hirn suszeptibler für CSD macht (Petzold et al., in press).

In einer ergänzenden in *Brain Research* publizierten Zellkultur-Arbeit wurden Rattenneurone mit Fluo-4-Acetoxy-methylester geladen und es wurden die Änderungen der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration dokumentiert. Spannungs-abhängige Ca^{2+} -Kanäle und NMDA Rezeptoren sind für den größten Teil des Depolarisations-induzierten neuronalen Ca^{2+} -Eintritts verantwortlich, der eine wichtige Rolle für die Auslöseschwelle von CSD spielt. Die Suszeptibilität der einzelnen Wege des Ca^{2+} -Eintritts für eine

A1 Dreier/Einhäupl

Modulation durch NO war am Ausgangspunkt der Studie weitgehend unbekannt. Ein NO-Mangel wurde durch NOS Inhibition erzeugt. Durch Gabe eines NO Donors konnte der Effekt der NOS Inhibition wieder aufgehoben werden. Wir fanden, dass der K^+ -induzierte Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration durch NOS Inhibition verstärkt und durch den NO Donor attenuiert wurde. Diese Modulation konnte durch den P/Q-Typ Ca^{2+} -Kanal-Antagonisten ω -Agatoxin IVA oder durch den NMDA Rezeptor Antagonisten MK-801 aufgehoben werden, nicht aber durch den N-Typ (ω -Conotoxin GVIA) bzw. L-Typ (Nimodipin) Antagonisten. Diese Untersuchungen unterstützten die Annahme, dass NO den neuronalen Ca^{2+} Eintritt während K^+ -induzierter Depolarisation durch Interaktionen mit P/Q-Typ Ca^{2+} Kanälen bzw. NMDA Rezeptoren moduliert (Petzold et al., 2005b).

Eine weitere tierexperimentelle Publikation im Antragszeitraum zur Kopplung bei CSD (siehe Referenliste)
- Scheckenbach et al Exp Neurol 2006

Ad: Translation des Modells der CSD und CSI vom Tierexperiment zum Menschen; Teil I: Suche nach CSDs bei Patienten mit aneurysmatischer SAB:

Der progressive ischämische Schaden ist bei Tieren mit wandernden Massendepolarisationen von Neuronen und Astrozyten verbunden, die als wandernde Negativierungen des langsamen Gleichstrompotentials gemessen werden können und CSDs entsprechen. Seit Jahrzehnten wird darüber spekuliert, ob CSDs bei Hirninfarkten des Menschen auftreten. Daher führten wir eine prospektive Multizenter-Studie durch, in der die Inzidenz und das zeitliche Auftreten von CSDs im Rahmen von DINDs bei Patienten nach SAB untersucht wurde. Die CSDs wurden mit Hilfe eines subduralen Elektrodenstreifens elektrokortikographisch über einen Zeitraum von bis zu 10 Tagen aufgezeichnet. Insgesamt wurden 2110 Aufzeichnungsstunden ausgewertet. Der klinische Status wurde alle 6 Stunden festgestellt. Das Auftreten von verzögerten Infarkten wurde mittels CT bzw. MRT verifiziert. Insgesamt wurden 298 CSDs elektrokortikographisch aufgezeichnet. Dreizehn von 18 Patienten (72%) zeigten CSDs. Ein klinisches DIND ereignete sich im Mittel 7,8 Tage (7,3; 8,2) nach SAB. Simultan zum Auftreten von DINDs wurde das Auftreten eines Clusters rekurrenter CSDs in jedem einzelnen Fall beobachtet (positiver and negativer prädiktiver Wert: 86 bzw. 100%). In vier Patienten wurden bildgebend verzögerte ischämische Schlaganfälle im Gebiet des Elektrodenstreifens beobachtet. Wie in der ischämischen Penumbra im Tierexperiment wurde die verzögerte Infarzierung von CSD-Clustern begleitet, die eine progressive Verlängerung der elektrokortikographischen Depressionsphasen auf mehr als 60 min in jedem Einzelfall aufwies. Diese Studie zeigte, dass CSDs eine hohe Inzidenz nach SAB beim Menschen aufweisen und als Cluster in der Entwicklung verzögerter Hirninfarkte auftreten. Cluster rekurrenter CSDs stellen somit einen online-Indikator des progressiven neuronalen Schadens nach SAB dar, insbesondere, wenn sie mit verlängerten Depressionsphasen assoziiert sind. Die vorliegende Studie legte auch nahe, dass CSDs ein lohnendes Ziel für die Therapieentwicklung zur Behandlung ischämischer Schlaganfälle darstellen (Dreier et al., *Brain* 2006).

Die klinische Studie wurde als Kollaborationsprojekt mit internationalen Partnern im Netzwerk der Cooperative Study on Brain Injury Depolarisations (COSBID) durchgeführt. Die Patienten wurden in Berlin, Mannheim, London und Kopenhagen rekrutiert. Die Studie stellt einen Meilenstein dar, da CSDs hier erstmals beim Schlaganfall des Menschen dokumentiert wurden. Die Arbeit wurde deshalb als ‚research highlight‘ in *Nature Clinical Practice Neurology* gefeatured (Dreier et al. (2007) Spreading depolarizations are indicators of brain damage after subarachnoid hemorrhage. *Nature Clinical Practice Neurology* 3: 67-68).

Ad: Schadensprogression durch Periinfarktdepolarisationen nach ischämischem Schlaganfall, Translation vom Tierexperiment zum Menschen:

In der vorliegenden Studie wurde das Auftreten von CSDs bei Patienten mit malignem Mediainfarkt untersucht, um festzustellen, ob CSDs auch bei ischämischen Hirninfarkten des Menschen auftreten, denen keine Hirnblutung vorausgeht. Die Studie wurde erneut vom COSBID-Konsortium durchgeführt. Insgesamt wurden 16 Patienten rekrutiert. Während einer chirurgischen dekompressiven Hemikraniektomie wurde ein subduraler Elektrodenstreifen in der Periinfarktregion eingelegt. Insgesamt wurden 1638 Stunden elektrokortikographisch aufgezeichnet. Die mittlere Aufzeichnungszeit betrug 109,2 Stunden. Insgesamt wurden 169 CSDs beobachtet. Die meisten CSDs ereigneten sich in Regionen mit elektrokortikographischer Aktivität und führten zur Depression derselben. 42 CSDs ereigneten sich in Regionen mit bereits deprimierter elektrokortikographischer Aktivität. Die Mehrheit der CSDs trat rekurrent in Clustern

auf. Nur 2 der 16 Patienten zeigten keine CSDs. Bei diesen beiden befand sich der Elektrodenstreifen über bereits infarziertem Gebiet. Wir schlussfolgerten, dass sich CSDs spontan mit hoher Frequenz bei Patienten mit malignem Mediainfarkt ereignen. Unterstützt durch die starke Evidenz aus Tierexperimenten, liefert diese klinische Studie weitere Argumente dafür, dass CSDs einen wichtigen pathophysiologischen Mechanismus des progressiven ischämischen Schadens auch beim Menschen darstellen (Dohmen et al., *Ann Neurol* in press).

Ad: Klinische Studie, ob Migräne ein Risikofaktor für DINDs ist:

Ziel dieser im *European Journal of Neurology* publizierten Fallkontroll-Studie war es, zu untersuchen, ob Migräne ein potentieller Risikofaktor für DINDs nach SAB ist. Bei den Patienten oder ihren Verwandten wurde ein Telefoninterview durchgeführt, um die Migräneprävalenz bei Patienten nach SAB festzustellen. 36 Frauen, die jünger als 60 Jahre waren, hatten eine SAB mit Hunt & Hess Grad I–III and DIND (Gruppe A). Diese Gruppe wurde mit einer alters-gematchten Kontrollgruppe mit SAB, Hunt & Hess Grad I–III ohne DIND (Gruppe B) verglichen. Die beiden Populationen wurden auch zu Hypertonus, Rauchen, Diabetes mellitus und Alkoholmissbrauch befragt. Ein signifikanter Unterschied ergab sich nur für die Migräneprävalenz mit 47% in Gruppe A and 25% in Gruppe B ($P < 0.05$; Odds ratio: 2.68, Konfidenzintervall: 0.99–7.29). Migränepatienten zeigten ähnliche Prävalenzen für die anderen Risikofaktoren unabhängig vom Auftreten eines DINDs. Diese retrospektive Studie legte nahe, dass Frauen mit Migräne ein höheres Risiko für ein DIND haben als Frauen ohne Migräne (Dreier et al., 2007).

Weitere klinische Publikationen im Antragszeitraum zum Thema CSD (siehe Referenliste)

- Dreier et al. *Neurology* 2005

- Klingebiel et al. *JNNP* in press

Bezüge zu und Kooperationen mit anderen Arbeiten im Sonderforschungsbereich

Es bestand und besteht eine enge Kooperation mit einer Reihe von anderen Arbeitsgruppen des Sonderforschungsbereiches. Enge Kooperationen ergaben sich insbesondere mit Herrn Prof. Dr. Dirnagl, Direktor Experimentelle Neurologie, zu Fragen der Blutflussregulation und im Rahmen der Zellkulturarbeit (Petzold et al., 2005a; 2005b; in press Windmüller et al., 2005). Weiterhin gab es eine enge Kooperation mit Herrn Prof. Dr. Heinemann, Direktor Abteilung für Neurophysiologie, in den Arbeiten, in denen wir elektrophysiologische Methoden in Hirnschnitten verwendeten (Petzold et al., 2005a; Windmüller et al., 2005). Mit Herrn Prof. Dr. Friedman wurde eine gemeinsame Arbeit im Rahmen des Friedman/Heinemann-Projekts unter Verwendung des 7T-MRTs für Kleintiere durchgeführt (Tomkins et al., 2007), das für uns eine interessante Erweiterung des Methodenspektrums mit sich gebracht hat. Es ergab sich auch in der zurückliegenden Antragsperiode wieder eine enge Kollaboration mit Herrn Prof. Dr. Priller, Abteilung für Psychiatrie, in der wir seine Expertise im Bereich Immunhistochemie nutzen konnten (Petzold et al., in press). Weiterhin etabliert sich gerade ein Kooperationsprojekt mit Herrn Prof. Dr. Endres zur Rolle von Gliazellen bei CSD und einer möglichen mechanistischen Implikation sowohl für Schadensprogression als auch für ischämische Präkonditionierung.

Vergleiche mit Forschungen außerhalb des Sonderforschungsbereichs und Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf die eigenen Arbeiten

Im Antragszeitraum (2005-2007) hat PD Dr. med. Dreier zusätzliche Förderung durch die DFG (Sachmittelantrag), BMBF (Berlin NeuroImaging Centre) sowie die German Israeli Foundation erhalten. Inhaltlich war stets eine klare Trennung der zu bearbeitenden Projekte gegeben.

Insgesamt wurden unsere Arbeiten – gerade die im Rahmen des SFB geförderten – in der wissenschaftlichen Öffentlichkeit gut wahrgenommen. So wurde unser Artikel in *Brain*, in dem uns erstmals der Nachweis von CSDs in der Entwicklung ischämischer Schlaganfälle beim Menschen gelungen ist, als ‚research highlight‘ in *Nature Clinical Practice Neurology* gefeatured – wie oben ausgeführt.

Wir gehen davon aus, dass es sich bei der Arbeit in *Brain* um einen Meilenstein der Schlaganfallforschung handelt, dessen Bedeutung im Verlauf der nächsten Jahre/Jahrzehnte deutlich werden wird, wenn es gelingt, neue Therapien auf diesen Erkenntnissen aufzubauen. Klar ist aus der vorliegenden Arbeit schon jetzt, dass die grundlegenden Prozesse, die die Schadenskaskaden beim Schlaganfall des Menschen einleiten, denen in den anderen Vertebraten sehr ähnlich sind – im Gegensatz zu dem, was über Jahrzehnte von manchen geglaubt wurde.

A1 Dreier/Einhäupl

Die ‚inverse Kopplung‘ ist dabei vermutlich ein kritischer Mechanismus der Schadensprogression, dessen Potential als Therapieziel noch nicht einzuschätzen ist. Der Nachweis einer ‚inversen Kopplung‘ bzw. ‚Cortical Spreading Ischaemia‘ nicht nur in unserem Modell der SAB sondern mittlerweile auch durch andere Arbeitsgruppen im Rahmen von Modellen der globalen Hypoxie und systemischen Hypotension bei der Ratte (Sonn und Mayevsky, 2000) sowie in der Penumbra nach Okklusion der mittleren Hirnarterie in Maus und Katze (Shin et al., 2006; Strong et al., 2007) spricht für eine viel weitergehende Bedeutung dieses Mechanismus, als wir ursprünglich bei seiner Entdeckung angenommen hatten (Dreier et al., 1998). Zunächst muss die ‚inverse Kopplung‘ natürlich beim Menschen nachgewiesen werden. Tatsächlich liegen uns jetzt erste Ergebnisse bei Patienten mit SAB vor, in denen die ‚inverse Kopplung‘ bei CSD eindeutig mit Hilfe eines subduralen Opto-/Elektrodenstreifens und Laser Doppler-Flussmessung gemessen werden konnte. Dabei zeigen diese Messungen keinen offensichtlichen Unterschied zu den tierexperimentellen Befunden. Z.B. konnten wir bei einer 62-jährigen Patientin eine CSD-induzierte, mit 4,9 mm/min wandernde, ausgeprägte Hypoperfusion während der Entstehung verzögerter Schlaganfälle messen, die in zwei Optoden eine Dauer von 2 Stunden 35 Minuten hatte. Vor diesem Ereignis, das am Tag 9 beobachtet wurde, waren im CT am Tag 6 noch keine Infarkte vorhanden, während sich im CT am Tag 12 weitverteilte Infarkte demarkierten, die auch die Region des Opto-/Elektrodenstreifens betrafen.

Im Hinblick auf die Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit ist aber sicher auch erwähnenswert, dass das Phänomen der CSD bei manchen, insbesondere manchen Klinikern, nach wie vor als ‚nicht-existent‘ oder ‚irrelevant‘ abgetan wird. Z.B. wurde vor kurzem ein klinisches Projekt von uns zu CSD trotz zweier hervorragender externer Fachgutachten, die sich dafür aussprachen, dass das Projekt mit hoher Priorität förderungswürdig sei, vom Fachkollegium der DFG mit der Begründung abgelehnt, dass „CSD nur ein Epiphänomen beim Schlaganfall sei“ (GZ DR 323/4-1). Vielleicht hat dieser negative klinische Bias gegenüber der CSD etwas damit zu tun, dass über so viele Jahrzehnte hinweg vergeblich versucht wurde, sie beim Menschen nachzuweisen. Dies hat möglicherweise zu einer großen Frustration geführt, die jetzt so schnell nicht aufzulösen ist. Es ist zugegebenermaßen verwunderlich, dass das größte pathophysiologische Ereignis im Hirn, mit einer Amplitude von bis zu 40.000 Mikrovolt in der Hirnrinde, nicht an der Kopfoberfläche messbar ist, während epileptische Aktivität, die in der Hirnrinde nur eine Amplitude von höchstens 4.000 Mikrovolt erreicht, problemlos erfasst wird. Diese Diskrepanz ist eine Folge des kapazitiven Widerstands des Schädels und der Hirnhäute, der so groß ist, dass er langsame Potentialschwankungen wie bei CSD einfach wegfiltert (Hochpassfilter), während die schnellen Potentialkomponenten wie bei epileptischer Aktivität durchgelassen werden. Es gibt somit eine einfache physikalische Erklärung für die Diskrepanz unserer humanen Messungen direkt auf der Hirnoberfläche und humanen EEG-Messungen auf der Kopfoberfläche. Es ist auch darauf hinzuweisen, dass mehrere internationale Zentren zu ähnlichen Befunden wie wir gekommen sind.

Ein weiterer Grund für die bei manchen geringe Akzeptanz der CSD als relevanter klinischer Entität ist möglicherweise das Paradox, dass CSD einerseits als das pathophysiologische Korrelat der Migräneaura gilt, die ja an sich ein harmloses Ereignis ist, und andererseits die zentrale Rolle in der Schadensentstehung bei Schlaganfall, Schädel-Hirn-Trauma, Hypoxie und Hypoglykämie spielen soll. Aber auch hierfür gibt es eine relativ einfache Erklärung: Der Begriff ‚Cortical Spreading Depolarisation‘ (CSD) beschreibt die Summe der Prozesse in Raum und Zeit, die dem zytotoxischen Ödem von Neuronen zugrunde liegen, sich elektrophysiologisch als riesige, langsame Potentialschwankung zeigen und die Manifestation des Sterbens eines Neuronenverbandes sind. Neurone besitzen jedoch potente Mechanismen, um sich selbst zu reanimieren. Der wichtigste dieser Mechanismen ist die Aktivierung der energieabhängigen Na,K-ATPase, ein Enzym, das schon unter Ruhebedingungen 30-50% der Energie des Hirns verbraucht (das Hirn verbraucht 20% der Energie des Organismus, obwohl es nur 2% des Körpergewichts ausmacht, d.h. etwa 8% der täglich von uns aufgenommenen Kalorien dienen nur dieser Membranpumpe im Hirn und der Vermeidung von CSD). Die Na,K-ATPase wird sofort bei Auftreten einer CSD maximal aktiviert, was sich in einem Abfall des Gewebe-ATPs um 50% manifestiert (Mies und Paschen, 1984), und die damit assoziierte zelluläre Maschinerie ist in der Lage, das zytotoxische Ödem innerhalb von 1-2 Minuten wieder zu beseitigen. Wenn diese Funktion jedoch aus irgendwelchen Gründen gestört ist, sei es durch Energiemangel oder Enzymhemmung, persistiert die CSD und damit das zytotoxische Ödem (assoziiert mit erhöhter intrazellulärer Ca^{2+} -Konzentration, Mitochondriendepolarisation, Glutamatfreisetzung etc.) und dann sterben die Zellen. Eine CSD induziert somit unter ansonsten physiologischen Bedingungen keinen Zellschaden, während sie unter toxischen oder Energiemangelbedingungen zur Nekrose führt. So erklärt sich, dass CSD einerseits das pathophysiologische Korrelat der Migräneaura sein kann, die übli-

cherweise nicht mit Zellschaden assoziiert ist, und andererseits die Summe der Prozesse beschreibt, die zur Nekrose von Neuronen führt. Es ist faszinierend zu lesen, dass diese janusköpfige Natur der CSD bereits 1947 von Leão erkannt wurde, der CSD sowohl durch elektrische Stimulation als auch durch bilaterale Okklusion der Karotiden induzierte: „in the spreading depression of activity, a change of the same nature as one resulting from prolonged interruption of the circulation, occurs in the cerebral cortex“.

Um sich das noch einmal zu versinnbildlichen, kann man sich das Auftreten einer CSD z.B. im Rahmen einer fokalen Ischämie als einen Tsunami vorstellen, der im Epizentrum eine enorme Zerstörungskraft entfaltet, während die gleiche Welle in großer Entfernung nur noch harmloser Natur ist. Wichtig ist es zu verstehen, dass es sich um die gleiche Welle handelt, die aber unterschiedliche Eigenschaften in Raum und Zeit aufweist. Bei der CSD gilt dies insbesondere auch für die Pharmakologie, die im Epizentrum der Schadensentstehung nur durch einen Cocktail von Blockern aller wesentlichen Kationenkanäle aufzuhalten ist, während sie im Randbereich bereits durch niedrige Konzentrationen eines N-Methyl-D-Aspartat Rezeptor-Antagonisten gebändigt werden kann. Dabei sind die Übergänge der Veränderungen der CSD-Eigenschaften zwischen Epizentrum und Randbereich fließend und die Ionenänderungen, die Potentialgröße und die Ausbreitung der CSD bleiben konstant. Es gibt auch Bedingungen, in denen bereits feinere Regulationsstörungen z.B. der Glutamatfreisetzung oder der glialen Na,K-ATPase (familiäre hemiplegische Migräne Typ I und II) eine meist relativ harmlose CSD-Variante hervorrufen können, die dann vom Patienten als Migräneaura wahrgenommen wird. Die von uns beschriebene ‚Cortical Spreading Ischaemia‘ ist eine weitere und insofern bemerkenswerte Variante, weil sich hier eine relativ harmlose CSD selbst in einen Tsunami transformiert, indem sie eine extreme Vasokonstriktion induziert, die die Energiezufuhr kappt und damit die neuronale und astrozytäre Na,K-ATPase sekundär lahm legt, um schließlich zur Nekrose zu führen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass, wenn es irgendeine Möglichkeit gibt, die Schadensprogression in der grauen Substanz bei Schlaganfall, Schädel-Hirn-Trauma und Hypoxie einzudämmen, dann muss diese, direkt oder indirekt, etwas mit CSD zu tun haben. In unserem SFB-Projekt sind wir einen großen Schritt vorangekommen, uns die CSD als Schlüssel zum Verständnis der Schadensprozesse klinisch nutzbar zu machen. Besonders wichtig ist dabei die Beobachtung, dass die Schadensprogression in den ersten Stunden nach Schlaganfall oder Schädel-Hirn-Trauma keinesfalls abgeschlossen ist, sondern zumindest bei den von uns untersuchten schwerkranken Patienten über mehrere Tage verläuft (Dreier et al., 2006; Dohmen et al., in press). Abschließend ist hinzuzufügen, dass es genauso absurd wäre, CSDs beim Menschen nicht weiter intensiv zu untersuchen, wie es absurd wäre, epileptische elektrokortikographische Aktivität nicht zu studieren, weil manche meinen, dass epileptische Aktivität ein ‚Epiphänomen‘ der Epilepsie ist.

Schwierigkeiten und Probleme bei der Durchführung des Teilprojekts

Besondere Schwierigkeiten bei der Durchführung des Teilprojektes sind nicht aufgetreten. Aufbauarbeit hatten wir im Rahmen der COSBID Studie bei der Etablierung der Messtechnik zu leisten. Außerdem wurde gemeinsam mit Herrn Dr. Fabricius, Universität Kopenhagen, eine Methode zur Quantifizierung und Bewertung von CSDs (Dauer der Depressionsphasen) beim Menschen entwickelt. Die Analyse der elektrokortikographischen Daten gestaltete sich anfangs extrem zeitaufwendig. Mittlerweile haben wir Algorithmen entwickelt, die die Auswertung stark vereinfachen. Weiterhin entwickelten wir mit den Fa. Perimed und AdTech einen Opto-/Elektrodenstreifen zur simultanen regionalen Elektrokortikographie- und Blutflussmessung beim Menschen. Auch diese Entwicklung hat einige Zeit in Anspruch genommen, konnte aber – wie oben ausgeführt – mittlerweile erfolgreich am Patienten angewandt werden, ohne dass die chirurgische Prozedur dadurch maßgeblich kompliziert worden wäre. Das gleiche gilt auch für die Etablierung echter invasiver DC-Messungen beim Menschen, die wir mit einem speziellen Verstärker realisieren konnten. Auch beteiligten wir uns an der Aufbauarbeit des 7T MRT Kleintierscanners (Tomkins et al., 2007).

Gründe für die Beendigung des Teilprojekts. Im Falle eines Ortswechsels geben Sie bitte an, ob die Arbeiten dort weitergeführt werden oder ob dies geplant ist.

Entfällt: der SFB befand sich in der letzten Antragsphase und ist ausgelaufen. In Kontinuität unserer hier erarbeiteten Ergebnisse wurde bei der DFG ein weiterführendes Projekt zur klinischen Untersuchung der ‚inversen Kopplung‘ bei Patienten mit SAB als Einzelantrag eingereicht (s.o.). Wir werden uns von der

A1 Dreier/Einhäupl

Ablehnung dieses Projekts keinesfalls davon abhalten lassen und werden dieses „wichtige und hochaktuelle klinische Studie“ (Zitat Gutachter 2) weiterverfolgen. Die geringen Kritikpunkte der externen Fachgutachter „which do not reduce the level of enthusiasm for this study“ (Zitat Gutachter 1) werden wir dabei natürlich berücksichtigen.

Ein tierexperimenteller Einzelantrag bei der DFG zu den Mechanismen von CSD und CSI bei globaler Hypoxie und globaler Ischämie (DFG DR 323/3-1 wird derzeit gefördert, so dass wir die tierexperimentellen Grundlagen dieser Phänomene weiter untersuchen können. Wir hoffen, dass wir unsere internationale ‚pole position‘ auch im klinischen Bereich der CSD und CSI behaupten werden, obwohl zusätzlich eine wachsende internationale Konkurrenz nach Publikation unserer Daten zu beobachten ist. Z.B. hat das ‚Department of Defense‘ der USA gerade eine Studie zur CSD beim humanen Schädel-Hirn-Trauma mit 2,5 Millionen US \$ gefördert.

Referenzen (soweit nicht unter 5.2.2 aufgeführt)

- Busch E, Gyngell ML, Eis M, Hoehn-Berlage M, Hossmann KA (1996) Potassium-induced cortical spreading depressions during focal cerebral ischemia in rats: contribution to lesion growth assessed by diffusion-weighted NMR and biochemical imaging. *J Cereb Blood Flow Metab* 16:1090-1099.
- Dreier JP**, Körner K, Ebert N, Görner A, Rubin I, Back T, Lindauer U, Wolf T, Villringer A, **Einhäupl KM**, Lauritzen M, Dirnagl U (1998) Nitric oxide scavenging by hemoglobin or nitric oxide synthase inhibition by N-nitro-L-arginine induce cortical spreading ischemia when K⁺ is increased in the subarachnoid space. *J Cereb Blood Flow Metab* 18:978-990
- Dreier JP**, Ebert N, Priller J, Megow D, Lindauer U, Klee R, Reuter U, Imai Y, **Einhäupl KM**, Victorov I, Dirnagl U (2000) Products of hemolysis in the subarachnoid space induce cortical spreading ischemia and focal necrosis in rats, a model for delayed ischemic neurological deficits after subarachnoid hemorrhage? *J Neurosurg* 93:668-676
- Dreier JP**, Petzold G, Tille K, Lindauer U, Arnold G, Heinemann U, **Einhäupl KM**, Dirnagl U (2001) Ischaemia triggered by spreading neuronal activation is inhibited by vasodilators in rats. *J Physiol (Lond)* 531.2:515-526
- Dreier JP**, Sakowitz OW, Harder A, Zimmer C, Dirnagl U, Valdueza JM, Unterberg AW (2002a) Focal laminar cortical MR-signal abnormalities after subarachnoid hemorrhage: report of two cases. *Ann Neurol* 52:825-829
- Dreier JP**, Windmüller O, Petzold G, Lindauer U, **Einhäupl KM**, Dirnagl U (2002b) Ischemia triggered by red blood cell products in the subarachnoid space is inhibited by nimodipine or moderate volume expansion/hemodilution in rats. *Neurosurgery* 51:1457-1467
- Dreier JP**, Kleeberg J, Alam M, Major S, Kohl-Bareis M, Petzold GC, Victorov I, Dirnagl U, Obrenovitch TP, Priller J (2007) Endothelin-1-induced spreading depression in rats is associated with a microarea of selective neuronal necrosis. *Exp Biol Med (Maywood)* 232:204-213.
- Mies G, Paschen W (1984) Regional changes of blood flow, glucose, and ATP content determined on brain sections during a single passage of spreading depression in rat brain cortex. *Exp Neurol* 84:249-258.
- Petzold GC, **Einhäupl KM**, Dirnagl U, **Dreier JP** (2003) Ischemia triggered by spreading neuronal activation is induced by endothelin-1 and hemoglobin in the subarachnoid space. *Ann Neurol* 54:591-598
- Shin HK, Dunn AK, Jones PB, Boas DA, Moskowitz MA, Ayata C (2006) Vasoconstrictive neurovascular coupling during focal ischemic depolarizations. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:1018-1030
- Somjen GG (2004) Ions in the brain. Normal function, seizures, and stroke. New York, Oxford University Press
- Sonn J, Mayevsky A (2000) Effects of brain oxygenation on metabolic, hemodynamic, ionic and electrical responses to spreading depression in the rat. *Brain Res* 882:212-216
- Strong AJ, Anderson PJ, Watts HR, Virley DJ, Lloyd A, Irving EA, Nagafuji T, Ninomiya M, Nakamura H, Dunn AK, Graf R (2007) Peri-infarct depolarizations lead to loss of perfusion in ischaemic gyrencephalic cerebral cortex. *Brain* 130:995-1008

- Takano K, Latour LL, Formato JE, Carano RA, Helmer KG, Hasegawa Y, Sotak CH, Fisher M (1996) The role of spreading depression in focal ischemia evaluated by diffusion mapping. *Ann Neurol* 39:308-318.
- Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Lovatt D, Hansen AJ, Kasischke KA, Nedergaard M (2007) Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nat Neurosci* 10:754-762.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

Begutachtete Veröffentlichungen (von insgesamt peer-reviewed 14 Veröffentlichungen im Antragszeitraum)

- Petzold GC*, Windmüller O*, Haack S*, Major S, Buchheim K, Megow D, Gabriel S, Lehmann T-N, Drenckhahn C, Peters O, Meierkord H, Heinemann U, Dirnagl U, **Dreier JP** (2005a) Increased extracellular K⁺ concentration reduces the efficacy of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists to block spreading depression-like depolarizations and spreading ischemia. *Stroke* 36:1270-1277 (IF 5.233)
- Dreier JP**, Jurkat-Rott K, Petzold GC, Tomkins O, Klingebiel R, Kopp UA, Lehmann-Horn F, Friedman A, Dichgans M (2005) Opening of the blood-brain barrier preceding a cortical edema in a severe attack of FHM type II. *Neurology* 64:2145-2147 (IF 5.678)
- Windmüller O, Lindauer U, Foddiss M, **Einhäupl KM**, Dirnagl U, Heinemann U, **Dreier JP** (2005) Ion changes of spreading ischaemia induce rat middle cerebral artery constriction in absence of NO. *Brain* 128:2042-2051 (IF7.967)
- Petzold GC, Scheibe F, Braun JS, Freyer D, Priller J, Dirnagl U, **Dreier JP** (2005b) Nitric oxide modulates calcium entry through P/Q-type calcium channels and N-methyl-d-aspartate receptors in rat cortical neurons. *Brain Res* 1063:9-14 (IF2.389)
- Scheckenbach KE, **Dreier JP**, Dirnagl U, Lindauer U (2006) Impaired cerebrovascular reactivity after cortical spreading depression in rats: restoration by nitric oxide or cGMP. *Exp Neurol* 202:449-455 (IF 3.767)
- Dreier JP***, Woitzik J*, Fabricius M*, Bhatia R, Major S, Drenckhahn C, Lehmann T-N, Sarrafzadeh A, Willumsen L, Hartings JA, Sakowitz OW, Seemann JH, Thieme A, Lauritzen M, Strong AJ (2006) Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarisations. *Brain* 129:3224-3237 (IF 7.535)
- Tomkins O, Friedman O, Ivens S, Reiffurth C, Major S, **Dreier JP**, Heinemann U, Friedman A (2007) Blood-brain barrier disruption results in delayed functional and structural alterations in the rat neocortex. *Neurobiol Dis* 25:367-377 (IF 4.048)
- Dreier JP**, Kremer C, Lammers G, Lohmann F, Hansen HC, Valdueza JM (2007) Migraine and delayed ischemic neurological deficit after subarachnoid hemorrhage in women: a case-control study. *Eur J Neurol* 14:1363-1368 (IF 2.437)
- Klingebiel R, Friedman A, Shelef I, **Dreier JP** (2008) Clearance of a status auras migraenalis in response to thrombendarterectomy in a patient with high-grade ICA stenosis. *JNNP* 79:89-90 (IF 3.630)
- Petzold GC, Haack S, von Bohlen und Halbach O, Priller J, Lehmann T-N, Heinemann U, Dirnagl U, **Dreier JP** (2007) Nitric oxide modulates spreading depolarization threshold in human and rodent cortex. *Stroke* in press (IF 5.391)
- Dohmen C, Sakowitz OW, Fabricius M, Bosche B, **Dreier JP**, Woitzik J, Strong AJ, Graf R (2008) Spreading depolarisations occur in human ischemic stroke with high incidence. *Ann Neurol* in press (IF 8.051)

A1 Dreier/Einhäupl

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von Juli/1995 bis Dez/2007 gefördert.

Haushalts- Jahr	Personalkosten	Sächl. Verw.- ausgaben	Investitionen	gesamt
Bis 2004	477.500,00	133.601,00	42.846,00	653.947,00
2005	66.000,00	49.700,00	19.000,00	134.700,00
2006	66.000,00	19.500,00		85.500,00
2007	66.000,00	19.500,00		85.500,00
Summe	675.500,00	222.301,00	61.846,00	959.647,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbei- ters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Ein- richtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Dreier, Jens P. PD Dr. med.	Neurologie	Neurologie/Experimentelle Neurologie	01/1998-12/2007	
	Einhäupl, Karl M. Prof. Dr. med.	Neurologie	Neurologie	01/2001-12/2007	
	Drenckhahn, Christoph	Medizin	Charité – Neurologie	01/2007-12/2007	
nicht- wissenschaftl. Personal					
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Petzold, Gabor, Dr. med.	Medizin	Charité – Neurologie	01/2005 – 06/2005	
	Major, Sebastian	Medizin	Charité – Neurologie	07/2005 – 12/2007	
	Reiffurth, Clemens		Charité – Experimentelle Neurologie	01/2005 – 12/2006 07/2007 – 10/2007	
	Mallmann, Christoph		Charité – Experimentelle Neurologie	03/2007 – 08/2007	
nicht- wissenschaftl. Personal					

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 A5

4.1.1 Titel:

Mechanismen der Rekrutierung von myeloiden Zellen in das Gehirn

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Neurologie, experimentelle Neurologie, Schlaganfallforschung

4.1.3 Leiter:

Prof. Dr. med. Priller, Josef, 26.09.1970

Neuropsychiatrie und Labor für Molekulare Psychiatrie
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie CCM
Charité-Universitätsmedizin Berlin
10098 Berlin

Tel: +49 30 450 517209

Fax: +49 30 450 560932

e-mail: josef.priller@charite.de

Prof. Dr. med. Dirnagl, Ulrich, 09.08.1960

Experimentelle Neurologie
Neurologische Klinik der Charité
Charité-Universitätsmedizin Berlin
10098 Berlin

Tel: +49 30 450 560134

Fax: +49 30 450 560932

e-mail: ulrich.dirnagl@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung

Der Ursprung von Mikroglia, die als ortsständige Makrophagen des Gehirns gelten, wird bis heute kontrovers diskutiert. Neben einer neuroektodermalen Genese wird dabei vor allem die Entstehung aus differenzierten Zellen oder Vorläuferzellen innerhalb des zentralen Nervensystems (ZNS) oder aus zirkulierenden Monozyten diskutiert. Unter Verwendung von Knochenmarkchimären, bei denen hämatopoetische Stammzellen mit dem *grün fluoreszierenden Protein* (GFP) transduziert und anschließend in myeloablativ bestrahlte Mäuse transplantiert wurden, konnten wir in der 2. Förderperiode des SFB507 zeigen, dass Mikroglia kontinuierlich aus dem Knochenmark in das Gehirn erwachsener Mäuse rekrutiert werden (Priller et al., 2001). Ähnliche Befunde wurden auch von anderen Arbeitsgruppen erhoben (Simard und Rivest, 2004; Hess et al., 2004). Die Rekrutierung von Mikroglia aus dem Blutstrom nimmt bei pathologischen Veränderungen des Gehirns deutlich zu (Priller et al., 2001). Da Monozyten des peripheren Blutes anhand der Expression der Chemokinrezeptoren CX₃CR1 und CCR2 funktionell in zwei Klassen mit präferentieller Rekrutierung in gesundes oder entzündetes Gewebe differenziert werden können (Geissmann et al., 2003), sollte in dieser Förderperiode die Rolle der Chemokinrezeptoren CX₃CR1 und CCR2 für die Einwanderung von Knochenmarkzellen in das ZNS unter physiologischen Bedingungen und nach zerebraler Ischämie untersucht werden.

A5 Priller/Dirnagl

Ergebnisse

Identifizierung von inflammatorischen Monozyten ($CD11b^+CCR2^+Ly6C^{hoch}$) als hämatogene Vorläuferzellen von adulten Mikroglia

Während der Förderperiode wurde von Serbina und Pamer (2006) gezeigt, dass CCR2 für die Emigration von $Ly6C^{hoch}$ Monozyten aus dem Knochenmark benötigt wird. In CCR2-defizienten Mäusen ($CCR2^{-/-}$) fanden sich deshalb deutlich reduzierte Konzentrationen an inflammatorischen Monozyten im Blut. Entsprechend der Differenzierung von CX_3CR1^+ und $CCR2^+$ Monozyten in residente und inflammatorische Populationen nach Geissmann et al. (2003), untersuchten wir die Zahl der Mikroglia im Gehirn von adulten $CCR2^{-/-}$ Mäusen und fanden keine Unterschiede zum Wildtyp (Abb. 1A). Auch die Aktivierung von CCR2-defizienten Mikroglia durch Bakterienbestandteile unterschied sich nicht von Wildtyp-Mikroglia (Abb. 1B).

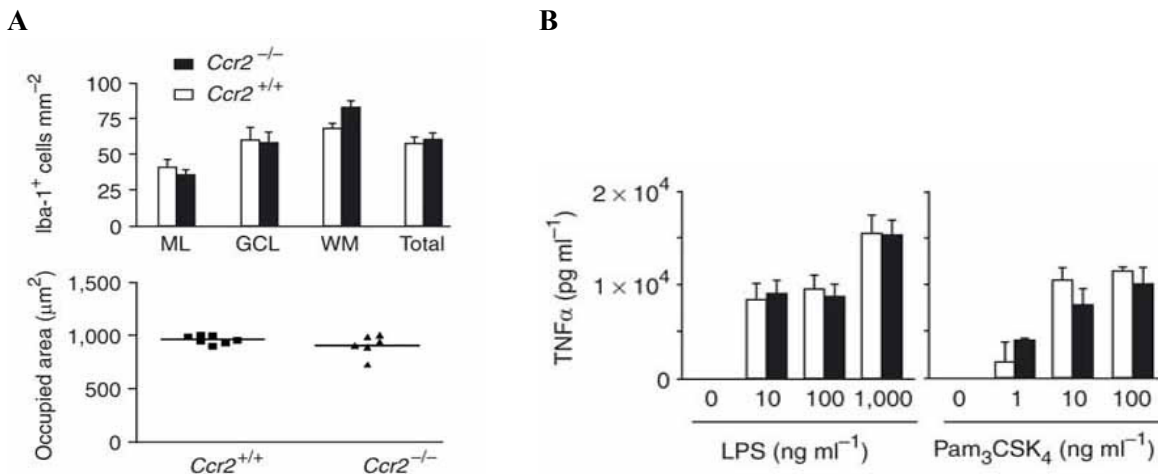


Abb.1 (A) Zahl der Mikroglia in der Molekularzellschicht (ML), Granularzellschicht (GCL) und der weißen Substanz (WM) des Kleinhirns von $CCR2^{-/-}$ Mäusen und Wildtyp-Mäusen ($CCR2^{+/+}$). (B) Freisetzung des proinflammatorischen Zytokins TNF durch Stimulation von primären Mikrogliaulturen aus $CCR2^{-/-}$ Mäusen (schwarz) und Wildtyp-Mäusen (weiß) mit bakteriellem Lipopolysaccharid und Lipopeptid.

Allerdings fanden wir in Knochenmarkchimären, dass die Einwanderung von Mikroglia in das adulte Gehirn von letal bestrahlten Wildtyp-Tieren unterdrückt war, wenn die hämatopoetische Rekonstitution mit CCR2-defizienten Knochenmarkszellen erfolgte (Abb. 2A,B; $Ccr2^{-/-}GFP \rightarrow Ccr2^{+/+}$). Daraus lässt sich folgern, dass inflammatorische Monozyten als hämatogene Vorläuferzellen von Mikroglia in adulten Mäusen gelten können. In diesem Zusammenhang ist besonders erwähnenswert, dass eine Konditionierung des adulten Mausgehirns notwendig scheint, um die Einwanderung von inflammatorischen Monozyten in das Gehirn und die anschließende Differenzierung zu Mikroglia zu ermöglichen (Abb. 2C). Unabhängig von der Expression von CCR2 in GFP^+ Knochenmarkszellen, kam es nur dann zu einer Einwanderung von GFP^+ Mikroglia, wenn das ZNS-Areal zuvor bestrahlt wurde („unprotected“) und nicht von der Ganzkörperbestrahlung im Rahmen der Knochenmarktransplantation abgeschirmt wurde („protected“). Ähnliche Befunde wurden auch von einer anderen Arbeitsgruppe erhoben (Ajami et al., 2007). Unsere Ergebnisse sind von Bedeutung, da sie das Modell der Knochenmarkchimäre für die Untersuchung von „physiologischem“ Mikrogliaumsatz im adulten Gehirn kritisch hinterfragen. Andererseits eröffnen sie die Möglichkeit, die Mechanismen der Rekrutierung von inflammatorischen Monozyten in das adulte Mausgehirn besser zu verstehen. *Nature Neuroscience* hat diesem Thema deshalb einen Leitartikel gewidmet und eine Übersichtsarbeit mit direktem Bezug zu unseren Ergebnissen erschien auch kürzlich in *Trends in Immunology* (Ransohoff, 2007; Davoust et al., 2008).

A, B

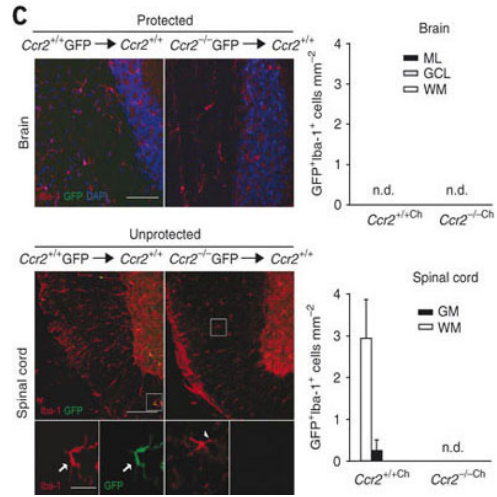
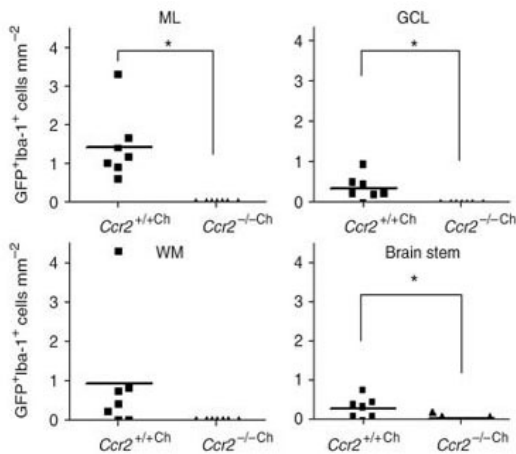
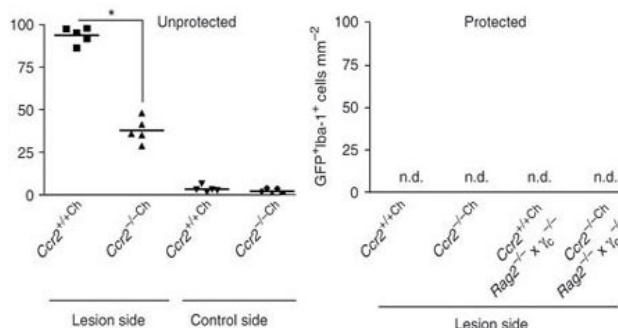


Abb.2 (A,B) Zahl der aus dem transplantierten Knochenmark generierten Mikroglia (GFP⁺Iba1⁺) in der Molekularzellschicht (ML), Granularzellschicht (GCL) und der weißen Substanz (WM) des Kleinhirns sowie im Hirnstamm (Brain stem) von Ccr2^{+/+}GFP→Ccr2^{+/+} (CCR2^{+/+Ch}) Mäusen und Ccr2^{-/-}GFP→Ccr2^{+/+} (CCR2^{-/-Ch}) Mäusen. (C) Aus dem transplantierten Knochenmark generierte Mikroglia (GFP⁺Iba1⁺) fanden sich sowohl in CCR2^{+/+Ch} als auch in CCR2^{-/-Ch} Chimären nur dann, wenn das betreffende ZNS-Areal zuvor bestrahlt wurde. Wurde bei der Bestrahlung im Rahmen der Knochenmarktransplantation das Gehirn abgeschirmt („protected“), so fanden sich dort weder in CCR2^{+/+Ch} noch in CCR2^{-/-Ch} Chimären GFP⁺ Mikroglia. Im bestrahlten Rückenmark (spinal cord) desselben Tieres fanden sich aber GFP⁺ Mikroglia, wenn CCR2 im Knochenmark exprimiert wurde (CCR2^{+/+Ch}).

Selbst pathologische Veränderungen des ZNS wie z.B. die Fazialisaxotomie führten bei erhaltener Integrität der Blut-Hirn-Schranke nur dann zu einer Rekrutierung von Mikroglia aus hämatogenen Vorläuferzellen in das geschädigte Hirnareal, wenn zuvor eine Bestrahlung im Rahmen der Knochenmarktransplantation erfolgte (Abb. 3A). Im Falle der zerebralen Ischämie (MCAO) war die Rekrutierung von Mikroglia in den Hirninfarkt aber unabhängig von der vorausgegangenen Bestrahlung des ZNS („protected“) (Abb.3B). Dies könnte darauf hindeuten, dass Bestrahlung und Ischämie ähnliche Konditionierungsmechanismen für die Einwanderung von inflammatorischen Monozyten in das Gehirn induzieren.

A



B

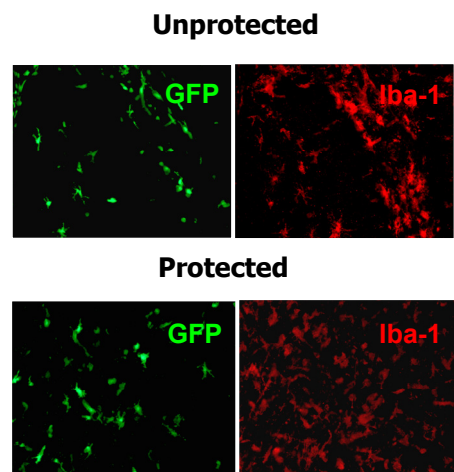


Abb.3 (A) Eine Rekrutierung von Mikroglia aus dem transplantierten Knochenmark (GFP⁺Iba1⁺) in den geschädigten Fazialiskern („lesion side“) war nur dann zu beobachten, wenn eine Ganzkörperbestrahlung („unprotected“) vorausgegangen war. In diesem Fall war die Rekrutierung von Mikroglia signifikant höher, wenn CCR2 in Knochenmarkszellen exprimiert wurde (CCR2^{+/+Ch} versus CCR2^{-/-Ch}). (B) Die Einwanderung von Mikroglia aus dem transplantierten Knochenmark (GFP⁺Iba1⁺) erfolgte nach zerebraler Ischämie unabhängig von der Bestrahlung (sowohl in „protected“ als auch in „unprotected“).

A5 Priller/Dirnagl

Als Projektziel war auch definiert, den Einfluss von CCR2 auf die Schadensentwicklung nach transienter fokaler zerebraler Ischämie zu untersuchen. Wir haben dazu MCAO-Experimente in CCR2^{-/-} Mäusen durchgeführt, doch die Ergebnisse wurden leider zuvor von einer anderen Arbeitsgruppe publiziert (Dimitrijevic et al., 2007). Ebenso wurden Untersuchungen zur Funktion von CX₃CR1 in Mikroglia vorweggenommen (Cardona et al., 2006).

Charakterisierung der Entzündungsreaktion bei pathologischen Veränderungen des ZNS unter Verwendung von Knochenmarkchimären

In Ergänzung zu den ursprünglichen Projektzielen wurden Knochenmarkchimären verwendet, um den Beitrag von residenter Mikroglia und inflammatorischen Monozyten/Mikroglia bei verschiedenen infektiösen und degenerativen ZNS-Erkrankungen zu differenzieren. Mit Hilfe einer transgenen Maus, die ein Suizidgen unter der Kontrolle des myeloiden CD11b-Promoters exprimiert (CD11b-HSVTK), konnten wir zeigen, dass Mikrogliazellen wesentlich an der Schadensentwicklung im Rahmen der experimentellen autoimmunen Encephalomyelitis (EAE) beteiligt sind (Heppner et al., 2005). Darüber hinaus fanden wir, dass ortsständige Mikroglia nach Prioninfektion durch Knochenmarkzellen ersetzt werden (Abb. 4).

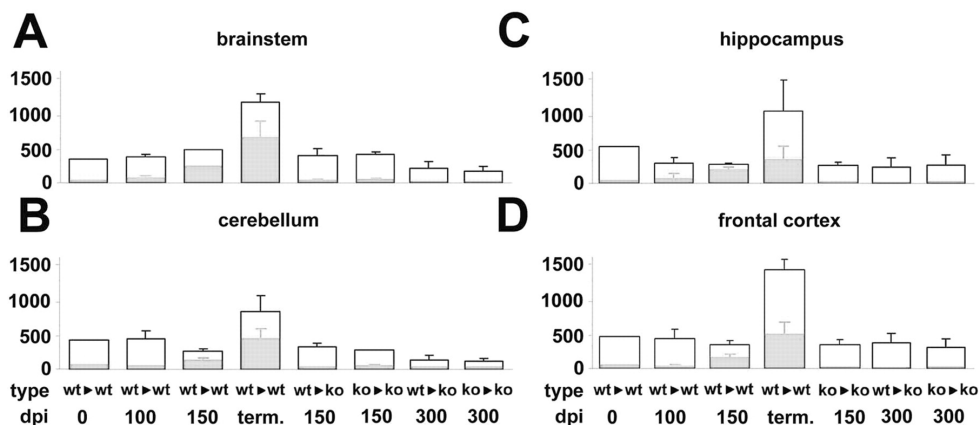


Abb.4 Die Rekrutierung von Mikroglia aus dem transplantierten Knochenmark in das Gehirn (graue Balken) nimmt 150 Tage nach der intraperitonealen Prioninokulation deutlich zu, also zeitgleich mit dem ersten Auftreten des pathologischen Prionoproteins im ZNS. Die Gesamtzahl der Mikroglia (weiße Balken) bleibt dabei zunächst unverändert. Eine Mikrogliose ist erst im terminalen Krankheitsstadium zu beobachten.

In Modellen der bakteriellen Meningitis zeigte sich, dass inflammatorische Monozyten erst spät in das entzündete Gehirn rekrutiert werden und dass TRAIL einen pathogenetisch wichtigen Faktor für die bakterielle Meningitis darstellt (Djukic et al., 2006; Hoffmann, Priller et al., 2007). Schließlich haben wir die Einwanderung von Mikroglia in die Retina in chimären Mäusen charakterisiert (Böttcher et al., 2008).

Literatur:

- Ajami B, Bennett JL, Krieger C, Tetzlaff W, Rossi FM (2007) Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat Neurosci*;10:1538-43.
- Boettcher C, Ulbricht E, Helmlinger D, Mack AF, Reichenbach A, Wiedemann P, Wagner HJ, Seeliger MW, Bringmann A, Priller J (2008) Long-term engraftment of systemically transplanted, gene-modified bone marrow-derived cells in the adult mouse retina. *Br J Ophthalmol*;92: 272-75.
- Cardona AE, Piro EP, Sasse ME, Kostenko V, Cardona SM, Dijkstra IM, Huang D, Kidd G, Dombrowski S, Dutta R, Lee JC, Cook DN, Jung S, Lira SA, Littman DR, Ransohoff RM (2006) Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat Neurosci*;9:917-24.
- Davoust N, Vuillat C, Androdias G, Nataf S (2008) From bone marrow to microglia: barriers and avenues. *Trends Immunol*;29:227-34.
- Dimitrijevic OB, Stamatovic SM, Keep RF, Andjelkovic AV (2007) Absence of the chemokine receptor CCR2 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *Stroke*;38:1345-53.

- Djukic M, Mildner A, Schmidt H, Czesnik D, Brück W, Priller J, Nau R, Prinz M (2006) Bone marrow-derived microglia significantly contribute to the pathology following *Streptococcus pneumoniae* meningitis in mice. *Brain*;129: 2394-403.
- Geissmann F, Jung S, Littman DR (2003) Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity*;19:71-82.
- Heppner FL, Greter M, Marino D, Falsig J, Raivich G, Hovelmeyer N, Waisman A, Rüllicke T, Prinz M, Priller J, Becher B, Aguzzi A (2005) Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis. *Nat Med*;11: 146-52.
- Hess DC, Abe T, Hill WD, Studdard AM, Carothers J, Masuya M, Fleming PA, Drake CJ, Ogawa M (2004) Hematopoietic origin of microglial and perivascular cells in brain. *Exp Neurol*;186:134-44.
- Hoffmann O, Priller J, Aktas O, Prozorovski T, Luenemann J, Mahrhofer C, Stricker S, Zipp F, Weber JR. TRAIL limits excessive host immune responses in bacterial meningitis. *J Clin Invest*;117:2004-13.
- Priller J, Flügel A, Wehner T, Boentert M, Haas CA, Prinz M, Fernández-Klett F, Prass K, Bechmann I, de Boer BA, Frotscher M, Kreutzberg GW, Persons DA, Dirnagl U (2001) Targeting of gene-modified hematopoietic cells to the central nervous system: use of the green fluorescent protein uncovers microglial engraftment. *Nat Med*;7:1356-61.
- Priller J, Prinz M, Heikenwalder M, Zeller N, Schwarz P, Heppner FL, Aguzzi A (2006) Early and rapid engraftment of microglia in scrapie. *J Neurosci*;26:11753-62.
- Ransohoff RM (2007) Microgliosis: the questions shape the answers. *Nat Neurosci*;10:1507-9.
- Serbina NV, Pamer EG (2006) Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2. *Nat Immunol*;7:311-7.
- Simard AR, Rivest S (2004) Bone marrow stem cells have the ability to populate the entire central nervous system into fully differentiated parenchymal microglia. *FASEB J*;18:998-1000.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- Boettcher C, Ulbricht E, Helmlinger D, Mack AF, Reichenbach A, Wiedemann P, Wagner HJ, Seeliger MW, Bringmann A, Priller J (2008) Long-term engraftment of systemically transplanted, gene-modified bone marrow-derived cells in the adult mouse retina. **Br J Ophthalmol**, 92: 272-275
- Prüss H, Prass K, Ghaeni L, Milosevic M, Muselmann C, Freyer D, Royl G, Reuter U, Baeva N, Dirnagl U, Meisel A, Priller J (2008) Inducible nitric oxide synthase does not mediate brain damage after transient focal cerebral ischemia in mice. **J Cereb Blood Flow Metab**, 28: 526-539
- Mildner A, Schmidt H, Nitsche M, Merkler D, Hanisch U-K, Mack M, Heikenwälder M, Brück W, Priller J*, Prinz M (2007) Microglia in the adult brain arise from Ly-6Chi monocytes only under defined host conditions. **Nat Neurosci**, 10: 1544-1553 * gleichberechtigter Letztautor
- Hoffmann O, Priller J*, Aktas O, Prozorovski T, Luenemann J, Mahrhofer C, Stricker S, Zipp F, Weber JR. TRAIL limits excessive host immune responses in bacterial meningitis. **J Clin Invest**, 117:2004-2013 *gleichberechtigter Erstautor
- Priller J, Prinz M, Heikenwalder M, Zeller N, Schwarz P, Heppner FL, Aguzzi A (2006) Early and rapid engraftment of microglia in scrapie. **J Neurosci**, 26:11753-11762
- Gertz K, Priller J, Kronenberg G, Winter B, Schröck H, Milosevic M, Katchanov J, Harms C, Nickenig G, Dirnagl U, Endres M (2006) Physical activity improves neo-vascularization and regional blood flow in the post-ischemic brain. **Circ Res**, 99: 1132-1140
- Djukic M, Mildner A, Schmidt H, Czesnik D, Brück W, Priller J, Nau R, Prinz M (2006) Bone marrow-derived microglia significantly contribute to the pathology following *Streptococcus pneumoniae* meningitis in mice. **Brain**, 129: 2394-2403
- Bechmann I, Goldmann J, Kovac AD, Kwidzinski E, Simburger E, Naftolin F, Dirnagl U, Nitsch R, Priller J (2005) Circulating monocytic cells infiltrate layers of anterograde axonal degeneration where they transform into microglia. **FASEB J**, 19: 647-649
- Heppner FL, Greter M, Marino D, Falsig J, Raivich G, Hovelmeyer N, Waisman A, Rüllicke T, Prinz M, Priller J, Becher B, Aguzzi A (2005) Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis. **Nat Med**, 11: 146-152

4.3. Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 07/1998 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts- jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
bis 2004	257.532,80	78.175,90		335.708,70
2005	94.800,00	19.400,00		114.200,00
2006	94.800,00	19.400,00		114.200,00
2007	94.800,00	19.400,00		114.200,00
Summe	541.932,80	136.375,90		678.308,70

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbei- ters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Ein- richtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	1. Priller, Josef, Prof. Dr. med. 2. Dirnagl, Ulrich, Prof. Dr. med. 3. Prüß, Harald, Dr.med. AiP	Neurologie	Neurologische Klinik Experimentelle Neurologie	01/2002- 12/2007 07/1998- 12/2007 01/2004- 12/2007	
nichtwissen- schaftl. Personal					
Ergänzungsausstattung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	1. Goetz, Thomas 2. Nicoletti, Cecilia 3. Bonnas, Christel	Neurologie	Neurologische Klinik Experimentelle Neurologie	09/2005- 12/2005 09/2005- 12/2007 01/2005- 12/2007	Ia IIa/2 IIa/2
nichtwissen- schaftl. Personal	1. Hegele, Anna 2. El-Din, Jasmin		Neurologische Klinik Experimentelle Neurologie	01/2005- 12/2006 01/2007- 12/2007	Vb Vb

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 A9

4.1.1 Titel:

Angiogenese und Vaskulogenese nach milder zerebraler Ischämie

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

4.1.3 Leiter:

Prof. Dr. Endres, Matthias
Klinik und Hochschulambulanz für Neurologie und klinische Neurophysiologie
Campus Benjamin Franklin
Charité Universitätsmedizin Berlin
Hindenburgdamm 30
12200 Berlin

Telefon: +49.30.8445.2276

Telefax: +49.30.8445.4264

E-Mail: matthias.endres@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung

Ausgangspunkt bei Antragstellung war ein vom Antragsteller gut charakterisiertes Modell der milden zerebralen Ischämie in der Maus. In diesem Modell sollte nun die Existenz, funktionelle Relevanz, therapeutische Beeinflussbarkeit und nicht-invasive Detektion mittels MRT von Angiogenese und Vaskulogenese untersucht werden. Aus der Literatur bekannt war, dass fokale zerebrale Ischämien eine Gefäßneubildung induzieren, es war jedoch unklar, ob diese von möglicher funktioneller (nämlich für die Erholung nach Schlaganfall) und therapeutischer Relevanz ist. Die Bildung neuer Gefäße kann durch Angiogenese - also von bereits bestehenden Gefäßen ausgehend - erfolgen, oder aber durch postnatale Vaskulogenese, die durch die *in situ* Differenzierung knochenmarksstämmiger Vorläuferzellen (Angioblasten) in Endothelzellen und neue Gefäße charakterisiert ist. Wir wollten hier insbesondere lange langen Überlebenszeiten nach milde Ischämie untersuchen. Hierbei sollten folgende 4 Projektteile bearbeitet werden:

Charakterisierung von Gefäßneubildung nach milder zerebraler Ischämie: Wir wollten überprüfen, ob eine milde zerebrale Ischämie einen Stimulus für Gefäßneubildung sowie Hochregulation von endothelialen Vorläuferzellen („*endothelial progenitor cells*“, EPCs) in Knochenmark, Blut und Milz darstellt. Knochenmark-chimäre Mäuse sollten genutzt werden, um die Einwanderung und Differenzierung von Vorläuferzellen im Gehirn zu quantifizieren. Neugebildete Endothelien sollte mittels des S-Phase-Markers (Bromodesoxyuridin, BrdU) nachgewiesen werden, weiterhin Veränderungen des zerebralen Blutflusses (CBF) sowie Kapillardichte und -Morphologie quantifiziert werden.

Stimulation von Gefäßneubildung: HMG-CoA Reduktasehemmer (Statine) aber auch regelmäßige körperliche Aktivität wirken beim Schlaganfall über einen endothelialen NO Synthase (eNOS)-abhängigen Mechanismus neuroprotektiv. Weiterhin ist bekannt, dass die eNOS essentiell für die Mobilisation von EPCs ist, und Statine steigern die Zahl zirkulierender EPCs. Deshalb soll die Wirkung von Statinen und körperlicher Aktivität auf EPC-Regulation, Gefäßneubildung und „*Outcome*“ im milden Ischämiemodell mit langen Überlebenszeiten untersucht werden. Hierbei wurden die Untersuchungen analog zu **1**) mit und ohne Statinbehandlung durchgeführt (EPC-Regulation, Einwanderung von Knochenmarkzellen, Anzahl BrdU-positiver Endothelien, Disc-Angiogenese, Kapillardichte und Morphologie, absoluter CBF sowie histologisches und funktionelles „*Outcome*“).

Gabe von Vorläuferzellen aus Milzgewebe: Während in **2**) ein möglicher protektiver Effekt durch Stimulation der endogenen Gefäßneubildung untersucht werden sollte, wollten wir zusätzlich die Hypothese überprüfen, ob eine vermehrte Anzahl zirkulierender Vorläuferzellen das „*Outcome*“ verbessern kann.

A9 Endres

Hierzu wurden mononukleäre Zellen (MNCs) aus Spendermilzen aufgereinigt, *in vitro* weiter zu EPCs differenziert und fluoreszenzmarkiert. Solche MNCs bzw. EPCs wurden nach Induktion einer milden Ischämie in zuvor splenektomierte Mäuse transfundiert; vor Versuchsende wiederum wurden die Mäuse mit fluoreszenzmarkiertem Lektin zur Endotheldarstellung perfundiert. Es erfolgte die Beurteilung des funktionellen sowie histologischen „Outcome“, der Kapillardichte sowie die Detektion und Charakterisierung der eingewanderten Zellen.

Molekulare Bildgebung zur Detektion von Vorläuferzellen: Im Rahmen einer „Machbarkeitsstudie“ sollte mittels molekularer MRT-Bildgebung das Schicksal von infundierten EPC nach zerebraler Ischämie *in vivo* untersucht werden. Analog zu **3**) sollten MNCs/EPCs aus Spendermilzen gewonnen werden, differenziert und dann mittels Eisenoxid-Nanopartikeln MRT-contrastgebend sowie mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert werden. Die markierten Zellen sollten dann nach Induktion einer zerebralen Ischämie infundiert und mittels MRT *in vivo* nachgewiesen werden. Die histologische Analyse sollte dann der internen Kontrolle dienen.

Ergebnisse und ihre Bedeutung unter Hinweis auf die Publikationen aus den Teilprojekten, angewandte und ggf. neu entwickelte Methoden, ggf. offene Fragen

Im Mittelpunkt meiner Untersuchungen stand das Endothel sowie endogene Stammzellpopulationen insbesondere endotheliale Progenitorzellen (EPC) als Substrat einer Gefäßneubildung nach milder Ischämie. Zentrales therapeutisches Target ist die endotheliale NO Synthase (eNOS). So hat meine Arbeitsgruppe zuletzt insbesondere untersucht, durch welche Mechanismen der protektive Effekt regelmäßiger körperlicher Aktivität sowie von Statinen auf die längerfristige Erholung nach Schlaganfall („Outcome“) vermittelt wird. Zum anderen haben wir mittels molekularer Bildgebung die Einwanderung von systemisch applizierten monozytären Zellen in das Gehirn untersucht.

Ad: Charakterisierung und Stimulierung von Gefäßneubildung

Wir konnten in Vorarbeiten zeigen, dass körperliche Aktivität die Bioverfügbarkeit von endotheliale Stickstoffmonoxid (NO) sowie den zerebralen Blutfluss (CBF) verbessert und in der Akutsituation vor zerebraler Ischämie schützen kann (Endres et al., *Ann. Neurol.* 2003). Weiterhin konnten wir in Kollaboration mit Herrn Laufs, Universität des Saarlandes zeigen, dass regelmäßige körperliche Aktivität die Anzahl der zirkulierenden endothelialen Vorläuferzellen (EPCs) sowie die Gefäßneubildung steigern kann (Laufs et al., *Circulation* 2004). In der Antragsphase haben wir uns mit den Mechanismen beschäftigt, mittels derer regelmäßige körperliche Aktivität vor den langfristigen Folgen einer milden Ischämie schützt. Hierbei zeigte sich, dass körperliche Aktivität viele Wochen nach milder Ischämie den histologischen und funktionellen Schaden deutlich verringert. Dies ist mit einer höheren Dichte perfundierter Gefäße sowie mit höherem absolutem CBF im Ischämieareal vergesellschaftet. Weiterhin konnten wir mittels pharmakologischer Inhibition der NOS sowie der Angiogenese zeigen, dass die protektive Wirkung tatsächlich durch die Verbesserung der NO Bioverfügbarkeit sowie Steigerung von Angio-/Vaskulogenese mit nachfolgend verbessertem zerebralen Blutfluss vermittelt ist. Als besondere Methoden sind die Generierung von Tie2-LacZ Knochenmarkschimären-Mäusen in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Josef Priller zu nennen. Weiterhin die Etablierung des tiled-field imaging („Kachelanalyse“) von Hirnschnitten nach Evans-blue Perfusion (endovaskulärer Marker). Dieses Projekt wurde im Journal der American Heart Association *Circulation Research* veröffentlicht (Gertz et al., 2006). Wir konnten hier zeigen, dass regelmäßige körperliche Aktivität die Erholung nach Schlaganfall durch Steigerung von Gefäßneubildung verbessern kann. Erfreulich war, dass dem Artikel ein eigenes Editorial von Frank Faraci („Protecting the brain with eNOS, run for you life“; *Circulation Res*, 2006) gewidmet wurde.

Ähnlich wie die körperliche Aktivität schützen auch Statine durch eine NO Hochregulation in der Akutsituation (siehe Endres et al., *PNAS* 1998; Laufs et al., *Stroke* 2000; Gertz et al. *Stroke*, 2003). In der Tat wirken die Medikamente in einer intravenösen Applikation gegeben in einem längeren Zeitfenster und sehr viel niedrigerer Dosis protektiv (Prinz et al., 2008) Zudem konnten wir zeigen, dass das abrupte Absetzen von Statinen möglicherweise zu einem „Reboundeffekt“ mit schlechtem Outcome bei akuten vaskulären Syndromen führen könnte. Erfreulicherweise haben sich diese tierexperimentell erhobenen Befunde auch klinisch bestätigt: so gibt es viele Studien, die zeigen, dass mit Statinen vorbehandelte Patienten ein besseres Outcome nach Schlaganfall haben; umgekehrt findet sich erste harte klinische Evidenz, dass das

Absetzen von Statinen bei Patienten mit akuten Gefäßerkkrankungen nachteilig ist (Endres 2005, Endres und Laufs 2006).

Analog zu den Untersuchungen mit körperlicher Aktivität haben wir auch die Effekte von Statinen auf das chronische Schlaganfalloutcome sowie die Gefäßneubildung untersucht. Der überraschende Befund war, dass Statine zwar die Gefäßneubildung fördern jedoch dosisabhängig die Reifung von neuen Kapillaren hemmen. Interessanterweise findet sich hier eine „U-förmige“ Dosis-Wirkungsbeziehung, wobei bei sehr hohen Dosen sich grob vergrößerte und verplumpte „Neo-Gefäße“ finden, die jedoch schlechter durchblutet sind. Unsere Hypothese ist, dass dies mit der Rac-abhängigen Modifikation von VE- und N-Cadherinen und einer veränderten Interaktion von Endothelzellen mit Perizyten zusammenhängt. Wir haben zwischenzeitlich *in vitro* Modelle etabliert (Endothelkulturen) sowie in Kollaboration mit Herrn Prof. Veh, Institut für Anatomie, elektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt, die derzeit ausgewertet werden. Zur Zeit etablieren wir ein Zellkulturmodell mit zerebralen Endothelien, um den zugrundeliegenden molekularen Mechanismus zu untersuchen. Ganz unabhängig von diesen vaskulären Effekten der Statine konnten wir zeigen, dass diese Medikamente auch direkte Effekte auf Nervenzellen in Kultur haben. Hohe Dosen von Statinen hemmen das Neuritenwachstum und damit potentiell auch die Regeneration und Differenzierung (Schulz et al., *J Neurochem.* 2004). In dieser Antragsperiode konnten wir nun umgekehrt zeigen, dass niedrigere Konzentrationen Nervenzellen spezifisch vor sog. exzitotoxischen Insulten, wie sie z.B. sehr früh nach zerebraler Ischämie auftreten, schützen können (Bösel et al., 2005, Bösel und Endres, 2006).

Neue Projekte haben sich durch Untersuchungen der endothelialen Effekte von pflanzlichen Sterole wie sie z.B. in handelsüblichen cholesterinsenkenden Margarinesorten in großer Menge enthalten sind. Eine erste Analyse zeigte, dass diese Substanzen zwar in der Tat cholesterinsenkende Effekte haben, dennoch aber einen direkten endothelschädigenden Effekt haben, und zu einer endothelialer Dysfunktion und gesteigerter Schadenssuszeptibilität nach zerebraler Ischämie führen. Effekte auf die Angiogenese müssten nun untersucht werden (Weingärtner et al., 2008)

Publikationen im Antragszeitraum zum Themenblock (siehe Referenliste)

- Bösel J et al und Endres M, *J Neurochem* 2005
- Endres M, *J Cereb Blood Flow Metab* 2005
- Gertz K, et al. und Endres M, *Circulation Res* 2006
- Endres M, Laufs U, *Stroke* 2006
- Bösel J, Schulz J, Endres M, *Nervenarzt* 2006
- Endres M, *Atherosclerosis Suppl* 2006
- Weingärtner O, et al. Endres M, Laufs, U, *J Am Coll Cardiol* 2008
- Prinz V, et al., Endres M, *Stroke* 2008

Ad: Gabe von monozytären Zellen aus Milzgewebe und Detektion mittels molekularer Bildgebung

Sowohl körperliche Aktivität als auch die Therapie mit Statinen führen u.a. durch die Steigerung der NO Produktion zu einer Hochregulation der endogenen Vorläuferzellpopulationen, deren funktionelle Relevanz jedoch ungeklärt ist. Gemeinsam mit Herrn Prof. Dr. Nickenig und Dr. Nikos Werner (mittlerweile an der Universität Bonn, Kardiologische Klinik) sowie mit Herrn Dipl.Phys. Albrecht Stroh (mittlerweile Stanford Universität) haben wir untersucht, ob sich mit Eisenoxidpartikeln markierte monozytäre Zellen, die aus Milzen isoliert wurden, mittels MRT im ischämischen Gehirn nachweisen lassen. Nach Infusion dieser Zellen lassen sich neuauftretende Hypodensitäten im ischämischen Randbereich im MRT mittels der T2*-Bildgebung darstellen, die sich histologisch durch den Nachweis von Eisen mittels der Berliner Blau Färbung bestätigen ließen. Weiterhin haben wir Zellen aus GFP(grün fluoreszierendes Protein)- β -Actin transgenen Mäusen zur Transfusion verwendet, deren „*Engraftment*“ im ischämischen Gehirn wir nunmehr fluoreszenzmikroskopisch untersucht haben. Unser Projekt zur zellulären Bildgebung konnten wir im Journal *Neuroimaging* publizieren Somit haben wir den ersten experimentellen Nachweis erbracht, dass *ex vivo* mit Eisenoxidpartikeln markierte Zellen mittels MRT im ischämischen Hirn nachgewiesen werden können. Dieser Befund könnte für viele Wissenschaftler, die sich mit Stamm- und Progenitorzellen zur Therapie von vaskulären Erkrankungen beschäftigen und diese nicht-invasiv (ggf. auch beim Menschen) nachweisen wollen, von erheblicher Bedeutung sein. Wir planen nun, diese Untersuchungen auszuweiten: zum einen interessiert uns die Untersuchung mit Eisenoxidpartikeln an einem weiteren Modell, nämlich dem Glioblastommodell an der Maus, das wir im letzten Jahr etabliert haben. Zum anderen planen wir mittelfristig die Markierung von spezifischen Antikörpern mit den Partikeln, die dann ein mo-

A9 Endres

lekulares Imaging ermöglichen würden. Weiterhin möchten wir einen Methodenvergleich mit optischen Methoden sowie einem demnächst zur Verfügung stehenden Kleintier-SPECT/CT zur Sensitivität und räumlichen Auflösung für molekulares und zelluläres Imaging durchführen. Diese Untersuchungen möchten wir mit Herrn PD Dr. Matthias Taupitz, Institut für Radiologie, in einem gemeinsamen Antrag einer geplanten klinischen Forschergruppe der DFG vertiefen. Parallel dazu haben wir in Kooperation mit Herrn Dr. Roysl, Dr. Leithner und Frau PD Dr. Lindauer die nichtinvasive Bestimmung der zerebralen Blutfluss mittels FAIR-MRT etabliert und mit „State-of-the-art“ autoradiographischen Methoden verglichen (Leithner et al., 2007)

Publikationen im Antragszeitraum zum Themenblock (siehe Referenliste)

- Stroh A et al. und Endres M, Neuroimage 2006
- Leithner et al., Exp Neurology 2007

Ad: Differenzierte Verhaltensanalyse nach milder zerebraler Ischämie

Entscheidend für die Beurteilung der Erholung nach Schlaganfall ist nicht nur das Ausmaß des Gewebeschaden, sondern vor allem das funktionelle Defizit. Wir haben deshalb in den letzten zwei Jahren ein Verhaltenslabor für Mäuse aufgebaut. Hier befindet sich u.a. ein Water Maze (Wasserlabyrinth nach Morris für das räumliche Lernen), Rota-Rod (Lokomotorische Aktivität) Shuttle-Box (Lernparadigmen sowie Depressionstests), Open-Field (Explorationstests), Plus-Maze (Ängstlichkeit) und weitere (digitale Auswertung mit dem TSE-System). Grundsätzlich soll mit dem Verhaltenslabor ein „Modul“ zur Verfügung stehen, mit dem funktionelle Korrelate neuroprotektiver und regenerativer Therapien untersucht werden können. Zunächst haben wir den Verhaltensphänotyp nach milder Ischämie charakterisiert. Nachdem wir zuvor bereits ein „dysexekutives Syndrom“ mit Problemen beim Strategiewechsel jedoch normalem räumlichen Lernen feststellen konnten (Winter et al., *Stroke* 2004) ist es uns im letzten Jahr gelungen, auch „neuropsychiatrische“ Defizite mit einem überaktiven und ängstlichen Verhaltensphänotyp zu beschreiben (Winter et al., 2005). Diese funktionellen Analysen kombinieren wir mit einer sorgfältigen immunhistologischen Analyse, um Phänomene wie Narbenbildung, Gliaaktivierung, Inflammation und Regeneration (Neurogenese etc) parallel abzubilden (Winter et al., 2005, Kronenberg et al., 2005) Um einem möglichen depressiven Phänotyp weiter nachzugehen, der von hoher klinischer Relevanz wäre (sog. „Post-stroke Depression“) weiten wir diese Untersuchungen derzeit aus. Unsere vorläufigen Ergebnisse lassen bereits jetzt den Schluss zu, dass es gelingt, im Tiermodell „Post-stroke Depression“ zu modellieren.

Publikationen im Antragszeitraum zum Themenblock (siehe Referenliste)

- Winter B, et al und Endres M; Biol Psych 2005
- Kronenberg G, et al., und Endres M, J Cereb Blood Flow Metab 2005

Bezüge zu und Kooperationen mit anderen Arbeiten im Sonderforschungsbereich

Es bestand und besteht eine enge Kooperation mit einer Reihe von anderen Arbeitsgruppen des Sonderforschungsbereiches. Ein schönes Beispiel für die hohe Interaktion und guten Zusammenarbeit der Gruppe ist der mittlerweile gestartete Transregio-SFB 43 („Brain as a target of inflammation“), in denen ja eine Reihe der Teilprojektleiter des SFB 507 beteiligt sind. Enge Kooperationen ergaben sich für mich insbesondere mit Herrn Prof. Dr. Dirnagl, Direktor Experimentelle Neurologie, zu Fragen der Blutflussregulation, vaskulärer Re-/Modellierung, und zerebraler Bildgebung (gemeinsame Publikationen z.B. Gertz et al., 2006, Stroh et al., 2006; Leithner et al., 2007; Bösel et al., 2006). Weiterhin besteht und bestand eine fruchtbare Kooperation mit Herrn Prof. Dr. Josef Priller, Molekulare Psychiatrie, insbesondere hinsichtlich seiner Expertise zu Stammzellen, knochenmarksstämmigen Vorläuferzellen und der Generierung von chimären Mäusen (gemeinsame Publikationen z.B. Werner et al., 2002 oder Gertz et al., 2006). Wenngleich nicht im primären Fokus meines Teilprojektes (Angiogenese) hat sich in den letzten Jahren eine sehr enge Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Kettenmann entwickelt. Hier untersuchen wir vor allem Fragen zum Verhalten von Gliazellen nach zerebraler Ischämie und ihrer möglichen regenerativen Funktion (gemeinsame Publikationen z.B. Kronenberg et al., 2005; Li et al., 2008). Zuletzt hat sich ein Kooperationsprojekt mit Herrn PD Dr. Dreier entwickelt – das sich zugegebenermaßen noch in den „Kinderschuhen“ befindet – zur Rolle von Gliazellen bei „cortical spreading depression“, Bluthirnschrankenfunktion, und einer möglicher mechanistischen Implikation bei der ischämischen Präkonditionierung.

Vergleiche mit Forschungen außerhalb des Sonderforschungsbereichs und Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf die eigenen Arbeiten

Im Antragszeitraum (2005-2007) habe ich zusätzliche Förderung durch die DFG (Sachmittelantrag), BMBF (Berlin NeuroImaging Centre) sowie die VolkswagenStiftung (Lichtenberg-Professur) erhalten. Inhaltlich war stets eine klare Trennung der zu bearbeitenden Projekte gegeben.

Insgesamt wurden meine Arbeiten – gerade die im Rahmen des SFB geförderten – in der Öffentlichkeit gut wahrgenommen. So erschien – wie oben ausgeführt – zum Artikel von Gertz et al., in *Circulation Research* ein Editorial von Frank Faraci („Run for your life“). Durch eine Pressemitteilung der Charité kann es auch zu einer weiteren Verbreitung in der Öffentlichkeit mit Beiträgen im Internet aber auch Tageszeitungen (z.B. Süddeutsche Zeitung).

Schwierigkeiten und Probleme bei der Durchführung des Teilprojekts

Besondere Schwierigkeiten bei der Durchführung des Teilprojektes sind nicht aufgetreten. Aufbauarbeit hatten wir bei den MRT Messungen zu leisten, da sowohl das Gerät als auch die Methode für uns neu war. Hier ist zu erwähnen, dass durch die ausgezeichnete Infrastruktur des Berlin NeuroImaging Centre (z.B. Betreuung des 7T MRT Kleintierscanners durch eine Ingenieurin; weiterhin gute Physik- und Bildgebungsexpertise) als auch die unkomplizierte Kooperation mit den Kollegen aus der Neuroradiologie (Prof. Zimmer, Dipl.-Biol. Stroh) als auch der allgemeinen Radiologie (PD Dr. Taupitz, Prof Hamm) sehr hilfreich war.

Gründe für die Beendigung des Teilprojekts. Im Falle eines Ortswechsels geben Sie bitte an, ob die Arbeiten dort weitergeführt werden oder ob dies geplant ist.

Entfällt: der SFB befand sich in der letzten Antragsphase und ist ausgelaufen. In Kontinuität unserer hier erarbeiteten Ergebnisse wird ein weiterführendes Projekt nun im Rahmen des TR SFB 43 gefördert (Endres/Dirnagl);

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- **Begutachtete Veröffentlichungen (von insgesamt peer-reviewed 37 Veröffentlichungen im Antragszeitraum)**
1. Bösel J, Gandor F, Harms U, Harms C, Fink K, Megow D, Dirnagl U, Hörtnagl H, **Endres M** (2005) Neuroprotective effects of atorvastatin against glutamate-induced excitotoxicity in primary cortical neurons. *J Neurochem* 92:1386-1398
 2. Bösel J, Schulz J, **Endres M** (2006) Direct neuronal effects of statins. *Nervenarzt*. 77:289-93
 3. **Endres M** (2005) Statins and stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 25:1093-1100
 4. **Endres M**, Laufs, U (2006) Discontinuation of statin treatment in acute stroke patients. *Stroke* 2006;37:2640-2643
 5. **Endres M.** (2006) Statins: potential new indications in inflammatory conditions. *Atherosclerosis Suppl* 7:31-35
 6. Gertz K, Priller J, Kronenberg G, Winter B, Schröck H, Ji S, Milosevic M, Harms C, Böhm M, Dirnagl U, Laufs U, **Endres M** (2006) Physical activity improves long-term stroke outcome via eNOS-dependent augmentation of neo-vascularization and cerebral blood flow. *Circulation Res* 99: 1132-1140
 7. Kronenberg G, Wang L-P, Gertz K, Synowitz M, Katchanov J, Glass R, Harms C, Kempermann G, Kettenmann H, **Endres M** (2005) Nestin-expressing cells divide and adopt a complex electrophysiological phenotype after transient brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 25:1613-24.
 8. Leithner C, Gertz K, Schröck J, Priller J, Prass K, Villringer A, **Endres M**, Lindauer U, Dirnagl U, Rojl G (2007) A flow sensitive alternating inversion recovery (FAIR) MRI protocol to measure hemispheric cerebral blood flow in a mouse stroke model. *Exp Neurology*, Oct 18 epub ahead of print
 9. Prinz V, Laufs U, Gertz K, Kronenberg G, Leithner C, Lindauer U, **Endres M** (2008) Intravenous rosuvastatin for acute stroke treatment – an animal study. *Stroke*, in the press

A9 Endres

10. Stroh A, Zimmer C, Weir K, Werner N, Gertz K, Kronenberg G, Zimmer C, Mueller S, Sieland K, Nickenig G, **Endres M** (2006) Tracking of systemically administered mononuclear cells in the ischemic brain by high-field magnetic resonance imaging. *Neuroimage* 33:886-897
11. Weingärtner O, Lütjohann D, Ji S, Sudhop T, Weisshoff N, List F, Sudhop S, von Bergmann K, Gertz K, König J, Schäfers H-J, **Endres M**, Böhm M, Laufs U (2008) Vascular effects of diet supplementation with plant sterols in mice and man. *J Am Coll Cardiol*, in the press
12. Winter B, Juckel G, Viktorov I, Katchanov J, Gietz A, Sohr R, Balkaya M, Hörtnagl H, **Endres M** (2005) Anxious and hyperactive phenotype following brief ischemic episodes in mice. *Biol Psychiatry*. 57:1166-1175

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von Jan/2005 bis Dez/2007 gefördert.

Haushalts- jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
2005	54.000,00	14.900,00	11.500,00	80.400,00
2006	54.000,00	14.900,00		68.900,00
2007	54.000,00	14.900,00		68.900,00
Summe	162.000,00	44.700,00	11.500,00	218.200,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbei- ters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Ein- richtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
<i>Grundausrüstung</i>					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Gertz, Karen, Dr. med.	Medizin	Charité – Neurologie	01/2005 – 12/2007	
nichtwissen- schaftl. Personal	Strandsby, Anne		Charité – Neurologe	11/2005 – 10/2007	
<i>Ergänzungsausstattung</i>					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Harms, Christoph, Dr med Baldinger, Tina, Dr rer nat	Medizin Biologie	Charité – Neurologie Charité – Neurologie	01/2005 – 08/2006 09/2006 – 12/2007	
nichtwissen- schaftl. Personal					

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 B6

4.1.1. Titel

Zelluläre Schädigung der Blut-Hirn-Schranke - Ein Schlüsselmechanismus in der Schadenskaskade der bakteriellen Meningitis

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Neurologie, Neuroimmunologie

4.1.3 Leiter

Prof. Dr. Jörg R. Weber
Institut für Zell- und Neurobiologie, Centrum für Anatomie
Charité – Universitätsmedizin Berlin,
Charitéplatz 1, 10117 Berlin
Tel.: +49 30 450 528002
Fax: +49 30 450 560902
Email: joerg.weber@charite.de

bzw.
Neurologie, LKH - Klagenfurt
St. Veiterstr. 47
9020 Klagenfurt, Österreich
Tel.: +43 463 538 22770

PD Dr. Johann S. Braun (bis 9/2005)
Neurologische Klinik und Poliklinik
Charité – Universitätsmedizin Berlin,
Charitéplatz 1, 10117 Berlin

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

4.2.1.1. Kenntnisstand bei der letzten Antragsstellung und Ausgangsfragestellung

Streptococcus pneumoniae ist die häufigste bakterielle Ursache für eine Krankenhausbehandlung in jedem Lebensalter. In den USA erkranken jährlich 3.000 Patienten an Meningitis, 50.000 an Bakteriämie, 500.000 an Lungenentzündung und 7 Millionen an Otitis Media (Schuchat et al. 1997; Schuchat et al. 2001). In der Europäischen Gemeinschaft ist von doppelt so vielen Fällen auszugehen und in den weniger entwickelten Ländern ist die Situation dramatisch (O'Dempsey et al. 1996). Pneumokokken verursachen die schwerste und häufigste Form der bakteriellen Hirnhautentzündung mit einer Letalität von bis zu 34 %. Der Gegensatz zwischen effektiver bakterizider Behandlung und der schlechten Prognose der Erkrankung kann teilweise dadurch erklärt werden, dass β -Lactam Antibiotika, die empfohlene Therapie bei Meningitis, Zellwandkomponenten freisetzen (Fischer and Tomasz 1984), die die gleiche oder größere entzündliche Aktivität haben als lebendige Bakterien (Weber et al. 2003b).

Die Mortalität der Erkrankung konnte bei vorheriger oder gleichzeitiger Behandlung mit Dexamethason von 34 % auf 14 % und die Anzahl der Patienten mit schweren neurologischen Defiziten von 52 % auf 26 % vermindert werden (de Gans and van de Beek 2002). Diese Studie ist in Westeuropa mit einer äußerst günstigen Resistenzlage entstanden. Es ist davon auszugehen, dass durch die fulminante Resistenzentwicklung (Stanek and Mufson 1999), Bakterien trotz antibiotischer Therapie immer länger im Körper des Patienten überleben werden und daher bakterielle Toxine, die von diesen prokaryonten Organismen freigesetzt werden, von größter Bedeutung sind (Fiore et al. 2000; McCullers et al. 2000).

Neben der inflammatorisch wirkenden Zellwand (Tuomanen et al. 1985; Weber et al. 1995; Weber et al. 2003b) hat der Pneumokokkus als Bakterium einen hochaktiven Stoffwechsel (AlonsoDeVelasco et al.

B6 Weber/Braun

1995). Pneumolysin und durch fehlende bakterielle Katalase in großen Mengen produziertes H₂O₂ sind proinflammatorisch und zytotoxisch wirksam (Braun et al. 2002).

Die Entzündung und die sodann folgende funktionelle und zelluläre Schädigung der BHS sind von zentraler Bedeutung in der Pathophysiologie der bakteriellen Meningitis und stellt ein generell gültiges Modell für bakterielle Interaktion mit Endothelzellen dar. Folgende Schritte werden postuliert:

- Die entzündliche Aktivierung der Blut-Hirn-Schranke ist die Voraussetzung für die Invasion von Bakterien und führt im weiteren Verlauf zur Induktion der Leukozyten-Endothelinteraktion, gefolgt vom Leukozytenübertritt.
- Bakterien akkumulieren im Liquor vor allem im Ventrikelsystem und im Subarachnoidalraum und tragen mit den eingewanderten Leukozyten zum zellulären Schaden bei.
- Bakterielle Faktoren induzieren die Öffnung der BHS und den Schaden in Endothelzellen.
- Reparaturmechanismen tragen möglicherweise zur funktionellen Wiederherstellung der BHS bei.

Bei der Pneumokokkenmeningitis wurde bei Patienten und in experimentellen Modellen im Hippokampus neuronale Apoptose beobachtet (Nau et al. 1999). Diese Apoptose ist experimentell zum einen durch Inhibition der Leukozyteninvasion, zum anderen auch durch die intrazisternale Verabreichung von zVAD-fmk, einem Breitspektrum Caspase Hemmer, um 50% vermindert (Braun et al. 1999). Dies hat zur Hypothese geführt, dass zum einen die entzündliche Antwort des Körpers, aber möglicherweise auch direkte bakterielle Faktoren an dieser Schädigung beteiligt sein könnten (siehe Abb 1).

Ob auch eine rezeptorvermittelte Kaskade dabei eine Rolle spielen könnte, ist unklar. Es gibt allerdings Hinweise dafür, dass Pneumolysin über den TLR4 Rezeptor die Signalkaskade anschaltet (Malley et al. 2003) und die Zellwand von Pneumokokken durch TLR2 (Yoshimura et al. 1999; Weber et al. 2003a). Ungeklärt ist die Exekution der Zellen ohne Caspaseaktivierung. Von uns wurde apoptoseinduzierender Faktor (AIF) als rascher direkter Zelltodmediator vorgeschlagen (Braun et al. 2001).

Ob Apoptose von Endothelzellen als Mechanismus der BHS Schädigung in vivo von Bedeutung sein könnte, ist bisher nicht untersucht. Direkter bakterieller Kontakt mit dem Endothel der BHS gilt als sicher, da diese aktiv überwunden wird (Ring et al. 1998; Rodriguez et al. 1991; Zwijnenburg et al. 2001).

Ausgehend von diesen Daten und unseren eigenen Ergebnissen haben wir folgende Ziele formuliert:

- a) Aufklärung der Mechanismen bakterieller Toxinwirkung, die zur Apoptose zerebraler Endothelzellen führen, und Entwicklung protektiver Interventionen.
- b) Nachweis der endothelialen Zellschädigung in vivo im tierexperimentellen Modell der bakteriellen Meningitis an der Blut-Hirn-Schranke und der Blut-Liquor-Schranke.
- c) Nachweis von Reparaturmechanismen an der Blut-Hirn-Schranke und Blut-Liquor-Schranke

4.2.1.2 Angewandte Methoden

Zellkultur: Die notwendigen Zellkultursysteme stehen unserer Arbeitsgruppe seit Jahren zur Verfügung (Schumann et al. 1998b; Freyer et al. 1999). Die Zellkultursysteme wurden durch eine humane Zelllinie (HBMEC, Dr. K. Kim, Baltimore, MD USA) und eine Rattenzelllinie (rBCEC 6, Dr. I. Blasig, Berlin) ergänzt. Für die Transfektion verwenden wir HEK 293 Zellen (Weber et al. 2003a). Grundsätzlich streben wir an, die Experimente in primären Zellkulturen und einzelne Experimente in Zelllinien durchzuführen. Dies hat zwei wichtige Gründe: Es kann dadurch das immer wieder diskutierte Problem der Kontamination der BMEC Kulturen durch hochaktive Mikrogliazellen entkräftet werden. Die Palette der Interventionen, etwa durch Antikörper (Ak) ist im humanen System vielfach möglich, in der Ratte oft problematisch, da entweder die entsprechenden Strukturen nicht bekannt sind, bzw. keine Ak zur Verfügung stehen.

Bakterien: *S. pneumoniae* D39 Kapseltyp 2 und R6 dem unbekapselten Derivat (Rockefeller University, New York, NY, USA) sind charakterisierte Pneumokokkenstämme mit bekanntem Genom, die von verschiedenen Laboren weltweit eingesetzt werden. Wir verwenden zusätzlich eine Pneumolysin-negative Mutante plnA⁻ (Dr. D. Briles, University of Alabama, Birmingham, AL, USA), die Pyruvat Oxidase Mutante spxB⁻ (defizient in der H₂O₂ Produktion), eine choline binding protein A Mutante cbpA⁻ mit einem Adhäsionsdefekt (Dr. E.I. Tuomanen, Memphis, TN, USA) und die von uns hergestellte plnA⁻/spxB⁻

Doppelmutante (Braun et al. 2002). Neben den lebenden Bakterien verwenden wir hitzeinaktivierte Pneumokokken, die aus dem unbekapselten R6 Stamm hergestellt werden (Tuomanen et al. 1985; Weber et al. 1995).

Zytokinmessung/Signaltransduktion: Wir erfassen eine ständig erweiterte Palette pro- und antiinflammatorischer Zytokine mit PCR und ELISA (z.B.: TNF- α , Il-1 α , Il-6, Il-10) ergänzt durch die Messung von biologisch aktiven TNF- α (Hanisch et al. 2001; Freyer et al. 1999). Methoden zur Erfassung der MAP Kinasen Aktivierung und p38 Aktivierung sind im Labor etabliert. Die erk1/erk2 Kinasen werden mittels Western Blot erfasst. Der aktive Zustand wird mit einem spezifischen „phosphorylation site“-Ak nachgewiesen (Biosource Europe, Belgien). Die tatsächliche Phosphorylierung erfassen wir durch die spezifische Fähigkeit von erk1/erk2, den Transfer der γ -Phosphatgruppe von ATP an des myelinbasierte Protein zu katalysieren (Biotrak MAPK Assay; (Schumann et al. 1998b; Weber et al. 2003a).

Apoptose: Entsprechende Nachweisverfahren der Apoptose sind im Labor etabliert (Schumann et al. 1998a; Braun et al. 2002; Harms et al.). Standardmäßig werden Färbungen mit Ethidiumbromid und Acridinorange (Sigma, Deisenhofen), TUNEL- und Annexin-V-FITC Propidium Färbungen durchgeführt. Derzeit etablieren wir die Quantifizierung apoptotischer Zellen mit einem frühen und späten Apoptosemarker im Mehrkanal FACS. Ergänzt werden diese Untersuchungen durch den elektronenmikroskopischen morphologischen Nachweis von Apoptose und der Anfertigung von Seriensemidünnschnitten, die für Screeningzwecke verwendet werden. In kultivierten Endothelzellen und Neuronen werden Eibetttechniken etabliert, die eine quantitative elektronische Auswertung erlaubt (Kooperation mit Bechmann B16). DNA Fragmentation: Nachweis der klassischen DNA Fragmentation (200 bp, Laddering) und den Nachweis der „large tail fragmentation“ durch Pulsfeldelektrophorese (Braun et al. 2001).

Caspasen, mitochondriale Marker, Apoptosome, IAPs (inhibitors of apoptosis) und ATP: Fluorometrische Analyse der Caspaseaktivität der Caspasen 1-10, normalerweise 3, 7, 9 (Caspasensubstrate Calbiochem, San Diego, CA, USA) mit dem Mikroplatten Reader. Western Blot Untersuchungen der Caspasen 3, 7, 9 und der korrespondierenden Procaspasen sowie der Spaltprodukte PARP und Fodrin und von Apaf-1. Western Blots entsprechender (mitochondrial, zytosolisch, nukleär) Fraktionen der Marker der inneren mitochondrialen Membran Cytochrom C, AIF, Endonuklease G sowie Smac/DIABLO. Die Kalzium Messung mit Fluo-4, die Messung des mitochondrialen Membranpotentials mit Tetramethylrhodamine-thylester und die ATP Messung mit Luziferin sind etabliert (Braun et al., 2001). Die quantitative PCR und der Proteinnachweis mit Western Blot für c-IAP 1, 2 und XIAP sind etabliert.

Geplant ist die Immunpräzipitation von Apaf-1 und Caspase 9 sowie der Aufbau eines in vitro Apoptosome-Assays (Lademann et al. 2003).

siRNA: Herstellung eines DNA-Templates mit PCR. Herstellen der siRNAs für Caspasen und TLR2 mit Dicer siRNA Generation Kit (GTS San Diego, USA). Transfektion der Zellen mit Lipofectamin oder Nukleofektion (Amaxa). Überprüfung der Transfektionseffizienz durch den Nachweis von fluoreszenzmarkierter „non sense“ siRNA.

Transfektion von HEK293 Zellen: HEK 293 Zellen oder HEK293/CD14 (stabil transfiziert mit CD14) Zellen werden mit hTLR4 oder hTLR2 und hMD2 unter Verwendung von Lipofektamin (Invitrogen) transfiziert (Schroder et al. 2003). Nach Stimulation mit Pneumokokken werden Apoptoseassays (s.o.) durchgeführt. Einen Teil der Zellen transfizieren wir zusätzlich mit β -Galactosidase und einem ELAM-NF- κ B Luciferaseplasmid wieder unter Verwendung von Lipofectamin. Nach Stimulation werden die Zellen lysiert und die β -Galactosidase- und Luciferaseaktivität mit Chemolumineszenzgerät gemessen.

Tiermodelle: Zur Verfügung stehen experimentelle Modelle der Meningitis in Maus und Ratte, bei entsprechenden Fragestellungen auch im Kaninchen. In der Maus wird die Meningitis entweder durch lumbale Injektion von 10^4 CFU *S. pneumoniae* D39 oder hitzeinaktivierten *S. pneumoniae* R6 induziert. Die Punktion der Cisterna magna am Ende des Versuches erlaubt die Gewinnung von ca. 10 μ l Liquor zur Zellzählung oder Bakteriennachweis bzw. gepoolt aus 3 Proben die Zytokinmessung. Danach Perfusionsfixierung und histologische Bearbeitung mit H&E, TUNEL Färbung und Immunhistochemie (AIF, Caspase-3, Endonuklease G, PARP). Die Darstellung der Meningen ist in „whole mount“ Präparationen etabliert (Hoffmann et al. 2002; Braun et al. 1993). Dabei wird eine ca. 3 x 4 mm große Fläche der Pia mater nach Ablösung der Dura abgezogen und auf einem Objektträger montiert. Um morphologische Veränderungen an Endothelzellen zur erfassen, planen wir bei den Untersuchungen besonders Augenmerk auf den Plexus choroideus zu legen. Nachweis von AIF und Caspase-3 zur Differenzierung der Toxin

vermittelten versus der „host“ oder Zellwand vermittelten Apoptose in Endothelzellen. In Kooperation mit Herrn Bechmann erfassen wir morphologische Veränderungen an der BHS und LHS mit Seriensemidünnschnitten und der Elektronenmikroskopie. Knochenmarkschimäre in Kooperation Priller/Dirnagl (A5). Transplantiert wird Knochenmark von TAIL defizienten Mäusen.

4.2.1.3. Ergebnisse und ihre Bedeutung

Entsprechend den formulierten Zielen sind uns in 3 wesentlichen Fragestellungen deutliche Fortschritte gelungen.

- a) Aufklärung der Mechanismen bakterieller Toxinwirkung, die zur Apoptose zerebraler Endothelzellen führen, und Entwicklung protektiver Interventionen.

Wir konnten 2 zeitlich und mechanistisch unterschiedliche Mechanismen der Zelltodinduktion durch *S. pneumoniae* charakterisieren. Diese Beobachtungen sind von klinischer Bedeutung da vergleichbare Mechanismen beim meningitiskranken Patienten ablaufen könnten. Am Anfang steht eine rasche Schädigung der Endothelzelle die zu einem raschen Zelltod führt. Dieser Mechanismus scheint ohne Aktivierung von Caspasen abzulaufen und führt morphologisch zu „apoptosis like cell death“. Bemerkenswert ist, dass dieser Vorgang innerhalb von wenigen Stunden abläuft. Voraussetzung dafür sind lebende Pneumokokken mit intaktem Stoffwechsel (Berpohl et al. 2005). Ähnlich wie bei der von uns beschriebenen Schädigung des Neurons scheinen hier Pneumolysin und H₂O₂ eine Schlüsselrolle zu spielen (Braun et al. 2002). Immunogene Zellwandkomponenten von Pneumokokken führen wesentlich später zu einer klassischen Apoptose mit Beteiligung von Caspasen. Dieser Mechanismus der Apoptoseinduktion wird über TLR2 Rezeptoren vermittelt und verbindet damit funktionell Rezeptoren des Immunsystems mit Apoptose.

Ergänzend zu morphologischen Schäden an zerebralen Endothelzellen konnten wir auch funktionelle Effekte von bakteriellen Toxinen auf die Blutflussregulation belegen (Hoffmann et al. 2007d). Insbesondere bakterielles H₂O₂ scheint hier von besonderer Bedeutung zu sein. Der oxidative Stoffwechsel der Bakterien und des erkrankten Wirtes potenzieren ihre schädigende Wirkung (Hoffmann et al. 2006). Ergänzend konnten wir zeigen, dass Pneumolysin ein porenbildendes Toxin von Pneumokokken Zelltod vorwiegend über caspaseunabhängige Mechanismen und auch in Zellen wie Neuronen in denen wir keine TLR4 Rezeptoren nachweisen konnten, induziert (Braun et al. 2007a).

- b) Nachweis der endothelialen Zellschädigung in vivo im tierexperimentellen Modell der bakteriellen Meningitis an der Blut-Hirn-Schranke und der Blut-Liquor-Schranke.

Eine der entscheidenden Frage war ob der wir auch apoptotische Zellen in der experimentellen bakteriellen Meningitis nachweisen können. Dieser Nachweis ist gelungen und belegt in Zusammenschau mit einer älteren Arbeit über morphologische Veränderungen an der BHS die Wichtigkeit dieser Beobachtung (Berpohl et al. 2005).

- c) Nachweis von Reparaturmechanismen an der Blut-Hirn-Schranke und Blut-Liquor-Schranke

Reparatur und Regulationsmechanismen an der Bluthirnschranke und bzw. den beteiligten Zellen sind von zentraler Bedeutung. Unklar war bisher die Rolle von TRAIL als Todesligand. TRAIL defiziente Mäuse sind nicht in der Lage die bei Meningitis eingewanderten Leukozyten zu eliminieren. Dies führt zur Persistenz dieser Zellen und zu einer Zunahme von neuronalen Schaden. Mechanistisch könnte eine Veränderung der Leukozytenmigration dafür verantwortlich sein. Alternativ könnte aber TRAIL wesentlich zur Elimination funktionstüchtiger Leukozyten beitragen und somit die Entzündungsreaktion limitieren. Mit TRAIL defizienten Knochenmarkschimären konnten wir Hinweise für diesen Mechanismus finden. In Liquorproben von Patienten mit bakterieller Meningitis fand sich eine Korrelation zwischen Leukozytenzahl und löslichen TRAIL. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, dass eingewanderte Leukozyten ein wesentliches Regulationssignal selbst produzieren (Hoffmann et al. 2007c).

In den 3 geförderten Jahren haben Mechanismen von Zellinteraktionen bei Entzündung deren Folgen für neuronale Schäden an Bedeutung gewonnen (Lehnardt et al. 2006). Wir haben ein Model der Meningitis entwickelt, bei dem die Entzündung nicht durch lebende Bakterien, sondern durch synthetische bzw. hochreine Zellwandbestandteile wie z.B. bakterielles Lipoprotein eine der mit Bakterien induzierten Erkrankung vergleichbare Schädigung auslösen (Hoffmann et al. 2007a). Solche Modelle haben den Vorteil, dass ein Teil der Schadenskaskade isoliert und ohne Einflüsse von bakteriellen Stoffwechsel, bakte-

rieller DNA etc. studiert werden können und somit wesentlich exaktere mechanistische Studien ermöglichen. Untersuchungen der zellulären und zeitlichen Expression von TLR2 und TLR4 Rezeptoren, haben zu dem Konzept beigetragen, dass bei der durch den Wirt vermittelten neuronalen Schädigung, die Mikroglia und intakte TLR Rezeptoren von entscheidender Bedeutung sind (Lehnardt et al. 2007b; Lehnardt et al. 2007a; Lehnardt et al. 2006).

Ein weiteres Ergebnis war, dass bei selbstlimitierender Meningitis induziert durch Pneumokokkenzellewände die adulte Neurogenese verändert wird (Hoffmann et al. 2007b).

4.2.1.4. Vergleiche mit Arbeiten außerhalb des Sonderforschungsbereiches und Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf die eigenen Arbeiten

Die unspezifische Entzündungsinhibition durch Dexamethasone als erste geprüfte adjuvante Therapie bei bakterieller Meningitis, obwohl nach wie vor umstritten, hat eine Reihe wichtiger Fragen aufgeworfen (de Gans and van de Beek 2002; Weisfelt et al. 2006).

Andere Arbeitsgruppen haben in verschiedenen Modellen wichtige Fragestellungen wie Effekte von oxidativen Stress (Klein et al. 2006) bearbeitet und sich mit der Rolle relevanter Entzündungsmediatoren (Mold and Du Clos 2006; Bellac et al. 2006) und die Rolle von TLRs und anderer Rezeptoren bei Meningitis untersucht (Klein et al. 2007; Fransen et al. 2007; Ebert et al. 2007). Bedeutend sind auch Arbeiten über Pathogenität und molekulare Invasionsmechanismen von Pneumokokken, da diese zur Entwicklung von Impfstoffen und neuen Interventionsstrategien beitragen könnten (Gehre et al. 2008; Brandt et al. 2008; Orihuela et al. 2006; Radin et al. 2005) an denen wir auch beteiligt waren (Fillon et al. 2006).

Hervorzuheben als Reaktionen der internationalen Öffentlichkeit sind Research Highlights zu in unserer im Journal of Clinical Investigation 2005 erschienen Arbeit in Nature (2005, 435:858) und Nature Microbiology Reviews (2005, 3:582) sowie ein Editorial Comment zu unsere 2007 erschienen Arbeit im Journal of Clinical Investigation (2007, 117:1733). JRW hat den H.G. Mertenspreis 2006 der DGNI gewonnen.

4.2.1.5. Offene Fragen

Interventionsstudien in der Entzündungskaskade auf Rezeptor oder „Pattern“-Ebene, mittlerweile identifizierter molekularer Ziele ist für uns eine wesentliche Arbeit der Zukunft (Weber and Tuomanen 2007). Von Großer Bedeutung werden auch Interaktionen von endogenen und exogenen Liganden für Rezeptoren des Immunsystems sein (Lehnardt et al. 2008). Unsere eigenen Studien haben auch gezeigt, dass am Gehirn identifizierte Mechanismen, generelle Gültigkeit haben. Solche Mechanismen wie z.B. die entzündliche Endothelschädigung auf andere Modelle wie z.B. der Sepsis zu übertragen ist wichtig und herausfordernd.

Zitierte Literatur

(Projektleiter fett gedruckt, SFB-Projektmitarbeiter/Kooperationspartner unterstrichen)

- Alonso De Velasco E., Verheul A. F., Verhoef J., and Snippe H. (1995) Streptococcus pneumoniae: virulence factors, pathogenesis, and vaccines. *Microbiol. Rev.* 59, 591-603.
- Bellac C. L., Coimbra R. S., Christen S., and Leib S. L. (2006) Pneumococcal meningitis causes accumulation of neurotoxic kynurenine metabolites in brain regions prone to injury. *Neurobiol. Dis.* 24, 395-402.
- Brandt C. T., Holm D., Liptrot M., Ostergaard C., Lundgren J. D., Frimodt-Moller N., Skovsted I. C., and Rowland I. J. (2008) Impact of bacteremia on the pathogenesis of experimental pneumococcal meningitis. *J Infect. Dis.* 197, 235-244.
- Braun J. S.**, Kaissling B., Le Hir M., and Zenker W. (1993) Cellular components of the immune barrier in the spinal meninges and dorsal root ganglia of the normal rat: immunohistochemical (MHC class II) and electron-microscopic observations. *Cell Tissue Res.* 273, 209-217.
- Braun J. S.**, Novak R., Herzog K. H., Bodner S. M., Cleveland J. L., and Tuomanen E. I. (1999) Neuroprotection by a caspase inhibitor in acute bacterial meningitis. *Nat. Med.* 5, 298-302.
- Braun J. S.**, Novak R., Murray P. J., Eischen C. M., Susin S. A., Kroemer G., Halle A., **Weber J. R.**, Tuomanen E. I., and Cleveland J. L. (2001) Apoptosis-inducing factor mediates microglial and neuronal apoptosis caused by pneumococcus. *J. Infect. Dis.* 184, 1300-1309.

B6 Weber/Braun

- Braun J. S.**, Sublett J. E., Freyer D., Mitchell T. J., Cleveland J. L., Tuomanen E. I., and **Weber J. R.** (2002) Pneu-mococcal pneumolysin and H₂O₂ mediate brain cell apoptosis during meningitis. *J. Clin. Invest.* 109, 19-27.
- de Gans J. and van de Beek D. (2002) Dexamethasone in adults with bacterial meningitis. *N. Engl. J. Med.* 347, 1549-1556.
- Ebert S., Zeretzke M., Nau R., and Michel U. (2007) Microglial cells and peritoneal macrophages release activin A upon stimulation with Toll-like receptor agonists. *Neurosci. Lett.* 413, 241-244.
- Fiore A. E., Moroney J. F., Farley M. M., Harrison L. H., Patterson J. E., Jorgensen J. H., Cetron M., Kolczak M. S., Breiman R. F., and Schuchat A. (2000) Clinical outcomes of meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* in the era of antibiotic resistance. *Clin. Infect. Dis.* 30, 71-77.
- Fischer H. and Tomasz A. (1984) Production and release of peptidoglycan and wall teichoic acid polymers in pneu-mococci treated with beta-lactam antibiotics. *J. Bacteriol.* 157, 507-513.
- Fransen F., Boog C. J., van Putten J. P., and van der L. P. (2007) Agonists of Toll-like receptors 3, 4, 7, and 9 are candidates for use as adjuvants in an outer membrane vaccine against *Neisseria meningitidis* serogroup B. *Infect. Immun.* 75, 5939-5946.
- Freyer D., Manz R., Ziegenhorn A., Weih M., Angstwurm K., Docke W. D., Meisel A., Schumann R. R., Schonfelder G., Dirnagl U., and **Weber J. R.** (1999) Cerebral endothelial cells release TNF-alpha after stimulation with cell walls of *Streptococcus pneumoniae* and regulate inducible nitric oxide synthase and ICAM-1 expression via autocrine loops. *J Immunol* 163, 4308-4314.
- Gehre F., Leib S. L., Grandgirard D., Kummer J., Buhlmann A., Simon F., Gaumann R., Kharat A. S., Tauber M. G., and Tomasz A. (2008) Essential role of choline for pneumococcal virulence in an experimental model of meningitis. *J Intern. Med.*
- Hanisch U. K., Prinz M., Angstwurm K., Hausler K. G., Kann O., Kettenmann H., and **Weber J. R.** (2001) The protein tyrosine kinase inhibitor AG126 prevents the massive microglial cytokine induction by pneumococcal cell walls. *Eur. J. Immunol.* 31, 2104-2115.
- Harms C., Lautenschlager M., Bergk A., Freyer D., Weih M., Dirnagl U., **Weber J. R.**, and Hortnagl H. (2000) Melatonin is protective in necrotic but not in caspase-dependent, free radical-independent apoptotic neuronal cell death in primary neuronal cultures. *FASEB J* 12: 1814-1824.
- Hoffmann O., Keilwerth N., Bille M. B., Reuter U., Angstwurm K., Schumann R. R., Dirnagl U., and **Weber J. R.** (2002) Triptans reduce the inflammatory response in bacterial meningitis. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 22, 988-996.
- Klein M., Koedel U., and Pfister H. W. (2006) Oxidative stress in pneumococcal meningitis: a future target for adjunctive therapy? *Prog. Neurobiol.* 80, 269-280.
- Klein M., Schmidt C., Kastenbauer S., Paul R., Kirschning C. J., Wagner H., Popp B., Pfister H. W., and Koedel U. (2007) MyD88-dependent immune response contributes to hearing loss in experimental pneumococcal meningitis. *J Infect. Dis.* 195, 1189-1193.
- Lademann U., Cain K., Gyrd-Hansen M., Brown D., Peters D., and Jaattela M. (2003) Diarylurea compounds inhibit caspase activation by preventing the formation of the active 700-kilodalton apoptosome complex. *Mol. Cell Biol.* 23, 7829-7837.
- Malley R., Henneke P., Morse S. C., Cieslewicz M. J., Lipsitch M., Thompson C. M., Kurt-Jones E., Paton J. C., Wessels M. R., and Golenbock D. T. (2003) Recognition of pneumolysin by Toll-like receptor 4 confers resistance to pneumococcal infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100, 1966-1971.
- McCullers J. A., English B. K., and Novak R. (2000) Isolation and characterization of vancomycin-tolerant *Streptococcus pneumoniae* from the cerebrospinal fluid of a patient who developed recurrent meningitis. *J. Infect. Dis.* 181, 369-373.
- Mold C. and Du Clos T. W. (2006) C-reactive protein increases cytokine responses to *Streptococcus pneumoniae* through interactions with Fc gamma receptors. *J Immunol.* 176, 7598-7604.
- Nau R., Soto A., and Brück W. (1999) Apoptosis of neurons in the dentate gyrus in humans suffering from bacterial meningitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 58, 265-274.

- O'Dempsey T. J., McArdle T. F., Lloyd-Evans N., Baldeh I., Lawrence B. E., Secka O., and Greenwood B. (1996) Pneumococcal disease among children in a rural area of west Africa. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 15, 431-437.
- Orihuela C. J., Fillon S., Smith-Sielicki S. H., El Kasmi K. C., Gao G., Soulis K., Patil A., Murray P. J., and Tuomanen E. I. (2006) Cell wall-mediated neuronal damage in early sepsis. *Infect. Immun.* 74, 3783-3789.
- Radin J. N., Orihuela C. J., Murti G., Guglielmo C., Murray P. J., and Tuomanen E. I. (2005) beta-Arrestin 1 participates in platelet-activating factor receptor-mediated endocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect. Immun.* 73, 7827-7835.
- Ring A., Weiser J. N., and Tuomanen E. I. (1998) Pneumococcal trafficking across the blood-brain barrier. Molecular analysis of a novel bidirectional pathway. *J. Clin. Invest.* 102, 347-360.
- Rodriguez A. F., Kaplan S. L., Hawkins E. P., and Mason E. O., Jr. (1991) Hematogenous pneumococcal meningitis in the infant rat: description of a model. *J. Infect. Dis.* 164, 1207-1209.
- Schroder N. W., Morath S., Alexander C., Hamann L., Hartung T., Zahringer U., Gobel U. B., **Weber J. R.**, and Schumann R. R. (2003) Lipoteichoic acid (LTA) of *S. pneumoniae* and *S. aureus* activates immune cells via toll-like receptor (TLR)-2, LPS binding protein (LBP) and CD14 while TLR-4 and MD-2 are not involved. *J. Biol. Chem.*
- Schuchat A., Hilger T., Zell E., Farley M. M., Reingold A., Harrison L., Lefkowitz L., Danila R., Stefonok K., Bar-rett N., Morse D., and Pinner R. (2001) Active bacterial core surveillance of the emerging infections program network. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 92-99.
- Schuchat A., Robinson K., Wenger J. D., Harrison L. H., Farley M., Reingold A. L., Lefkowitz L., and Perkins B. A. (1997) Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. *N. Engl. J. Med.* 337, 970-976.
- Schumann R. R., Belka C., Reuter D., Lamping N., Kirschning C. J., **Weber J. R.**, and Pfeil D. (1998a) Lipopoly-saccharide Activates Caspase-1 (Interleukin-1-Converting Enzyme) in Cultured Monocytic and Endothelial Cells. *Blood* 91, 577-584.
- Schumann R. R., Pfeil D., Bürger W., Lamping N., Kirschning C. J., Goebel U., and **Weber J. R.** (1998b) Lipopoly-saccharide and pneumococcal cell wall components activate the mitogen activated protein kinases (MAPK) erk-1, erk-2, and p 38 in astrocytes. *Glia* 22, 295-305.
- Stanek R. J. and Mufson M. A. (1999) A 20-year epidemiological study of pneumococcal meningitis. *Clin. Infect. Dis.* 28, 1265-1272.
- Tuomanen E., Liu H., Hengstler B., Zak O., and Tomasz A. (1985) The induction of meningeal inflammation by components of the pneumococcal cell wall. *J. Infect. Dis.* 151, 859-868.
- Weber J. R.**, Angstwurm K., Bürger W., Einhäupl K. M., and Dirnagl U. (1995) Anti ICAM-1 (CD54) monoclonal antibody reduces inflammatory changes in experimental bacterial meningitis. *J. Neuroimmunol* 63, 63-68.
- Weber J. R.**, Freyer D., Alexander C., Schroder N. W., Reiss A., Kuster C., Pfeil D., Tuomanen E. I., and Schumann R. R. (2003a) Recognition of pneumococcal peptidoglycan: an expanded, pivotal role for LPS binding protein. *Immunity.* 19, 269-279.
- Weber J. R.**, Moreillon P., and Tuomanen E. I. (2003b) Innate sensors for Gram-positive bacteria. *Curr. Opin. Immunol.* 15, 408-415.
- Weisfelt M., de Gans J., van der P. T., and van de B. D. (2006) Pneumococcal meningitis in adults: new approaches to management and prevention. *Lancet Neurol.* 5, 332-342.
- Yoshimura A., Lien E., Ingalls R. R., Tuomanen E., Dziarski R., and Golenbock D. (1999) Cutting edge: recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor 2. *J Immunol* 163, 1-5.
- Zwijnenburg P. J., van d. P., Florquin S., van D. S., Roord J. J., and van F. A. (2001) Experimental pneumococcal meningitis in mice: a model of intranasal infection. *J. Infect. Dis.* 183, 1143-1146.

B6 Weber/Braun

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen (Projektleiter fett gedruckt, SFB-Projektmitarbeiter/ Kooperationspartner unterstrichen)

4.2.2.1 direkt Projekt-assoziierte Originalarbeiten (2004-2007)

Berpohl D., Halle A., Freyer D., Dagand E., **Braun J. S.,** Bechmann I., Schroder N. W., and **Weber J. R.** (2005) Bacterial programmed cell death of cerebral endothelial cells involves dual death pathways. *J Clin. Invest* 115, 1607-1615.

Braun J. S., Hoffmann O., Schickhaus M., Freyer D., Dagand E., Berpohl D., Mitchell T. J., Bechmann I., and **Weber J. R.** (2007a) Pneumolysin causes neuronal cell death through mitochondrial damage. *Infect. Immun.* 75, 4245-4254.

Fillon S., Soulis K., Rajasekaran S., Benedict-Hamilton H., Radin J. N., Orihuela C. J., El Kasmi K. C., Murti G., Kaushal D., Gaber M. W., **Weber J. R.,** Murray P. J., and Tuomanen E. I. (2006) Platelet-Activating Factor Receptor and Innate Immunity: Uptake of Gram-Positive Bacterial Cell Wall into Host Cells and Cell-Specific Pathophysiology. *J Immunol.* 177, 6182-6191.

Hoffmann O., **Braun J. S.,** Becker D., Halle A., Freyer D., Dagand E., Lehnardt S., and **Weber J. R.** (2007a) TLR2 mediates neuroinflammation and neuronal damage. *J Immunol.* 178, 6476-6481.

Hoffmann O., Mahrhofer C., Rueter N., Freyer D., Bert B., Fink H., and **Weber J. R.** (2007b) Pneumococcal cell wall-induced meningitis impairs adult hippocampal neurogenesis. *Infect. Immun.* 75, 4289-4297.

Hoffmann O., **Priller J.,** Prozorovski T., Schulze-Topphoff U., Baeva N., Lunemann J. D., Aktas O., Mahrhofer C., Stricker S., Zipp F., and **Weber J. R.** (2007c) TRAIL limits excessive host immune responses in bacterial meningitis. *J Clin. Invest* 117, 2004-2013.

Hoffmann O., Zweigner J., Smith S. H., Freyer D., Mahrhofer C., Dagand E., Tuomanen E. I., and **Weber J. R.** (2006) Interplay of pneumococcal hydrogen peroxide and host-derived nitric oxide. *Infect. Immun.* 74, 5058-5066.

Hoffmann O., Becker D., and **Weber J. R.** (2007d) Bacterial hydrogen peroxide contributes to cerebral hyperemia during early stages of experimental pneumococcal meningitis. *J Cereb. Blood Flow Metab* 27, 1792-1797.

Lehnardt S., Henneke P., Lien E., Kasper D. L., Volpe J. J., Bechmann I., Nitsch R., **Weber J. R.,** Golenbock D. T., and Vartanian T. (2006) A mechanism for neurodegeneration induced by group B streptococci through activation of the TLR2/MyD88 pathway in microglia. *J Immunol.* 177, 583-592.

Lehnardt S., Lehmann S., Kaul D., Tschimmel K., Hoffmann O., Cho S., Krueger C., Nitsch R., Meisel A., and **Weber J. R.** (2007a) Toll-like receptor 2 mediates CNS injury in focal cerebral ischemia. *J Neuroimmunol.* 190, 28-33.

Lehnardt S., Wennekamp J., Freyer D., Liedtke C., Krueger C., Nitsch R., Bechmann I., **Weber J. R.,** and Henneke P. (2007b) TLR2 and caspase-8 are essential for group B Streptococcus-induced apoptosis in microglia. *J Immunol.* 179, 6134-6143.

Weber J. R. and Tuomanen E. I. (2007) Cellular damage in bacterial meningitis: an interplay of bacterial and host driven toxicity. *J Neuroimmunol.* 184, 45-52.

Zweigner J., Schumann R. R., and **Weber J. R.** (2006) The role of lipopolysaccharide-binding protein in modulating the innate immune response. *Microbes. Infect.* 8, 946-952.

4.2.2.2 sonstige nicht projektbezogene Originalarbeiten der Projektleiter (2004 bis 2008)

Braun J. S., Hahn K., Bauknecht H. C., and Schielke E. (2006a) Progressive facial asymmetry due to trigeminal motor neuropathy. *Eur. Neurol.* 55, 96-98.

Braun J. S., Nolte C. H., Einhaupl K. M., Villringer A., and Valdeuzza J. M. (2006b) One stroke--two triggers. *J Neurol.* 253, 1356-1357.

Braun J. S., Prass K., Dirnagl U., Meisel A., and Meisel C. (2007b) Protection from brain damage and bacterial infection in murine stroke by the novel caspase-inhibitor Q-VD-OPH. *Exp Neurol.* 206, 183-191.

Dirnagl U., Klehmet J., **Braun J. S.,** Harms H., Meisel C., Ziemssen T., Prass K., and Meisel A. (2007) Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance. *Stroke* 38, 770-773.

Lehnardt S., Lehmann S., Kaul D., Tschimmel K., Hoffmann O., Cho S., Krueger C., Nitsch R., Meisel A., and **Weber J. R.** (2007a) Toll-like receptor 2 mediates CNS injury in focal cerebral ischemia. *J Neuroimmunol.* 190, 28-33.

Lehnardt S., Schott E., Trimbuch T., Laubisch D., Krueger C., Wulczyn G., Nitsch R., and **Weber J. R.** (2008) A vicious cycle involving release of heat shock protein 60 from injured cells and activation of toll-like receptor 4 mediates neurodegeneration in the CNS. *J Neurosci.* 28, 2320-2331.

Munch C., Epplen J. T., Meins M., Meyer R., **Weber J. R.**, and Meyer T. (2008) Severe Guillain-Barre syndrome associated with chromosome 17p11.2-12 duplication. *Muscle Nerve* 37, 256-258.

Petzold G. C., Scheibe F., **Braun J. S.**, Freyer D., Priller J., Dirnagl U., and Dreier J. P. (2005) Nitric oxide modulates calcium entry through P/Q-type calcium channels and N-methyl-d-aspartate receptors in rat cortical neurons. *Brain Res.* 1063, 9-14.

Prass K., **Braun J. S.**, Dirnagl U., Meisel C., and Meisel A. (2006) Stroke propagates bacterial aspiration to pneumonia in a model of cerebral ischemia. *Stroke* 37, 2607-2612.

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 06/1998 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts-jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
bis 2004	290.532,80	227.090,70		517.623,50
2005	42.000,00	28.500,00		70.500,00
2006	43.200,00	18.700,00		61.900,00
2007	43.200,00	18.700,00		61.900,00
Summe	418.932,80	292.990,70		711.923,50

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Einrichtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Weber, Jörg, Prof. Dr. Braun, Johann, PD Dr. Hofmann, Olaf Dr.	Neurologie Neurologie Neurologie	Neurologische Klinik Experimentelle Neurologie	06/1998- 12/2007 01/2002- 12/2007 01/2002- 12/2007	/
nichtwissen- schaftl. Personal		/			/
Ergänzungsausstattung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Dagand, Emilie Matzen, Julia, Dr. Strackharn, Jasmin Rung, Olga Hoffmann, Jan, Dr.	Mol. Biologie Neurologie Neurologie Mol. Biologie Neurologie	Neurologische Klinik Experimentelle Neurologie	01/2005- 07/2005 10/2005- 03/2006 07/2006- 11/2006 07/2007- 12/2007 08/2007- 12/2007	Ia/22h IIa IIa/2 IIa/22h IIa/2
nichtwissen- schaftl. Personal	Mahrhofer, Cordula	/	Neurologische Klinik Experimentelle Neurologie	01/2005-12/2007	Vc/28h

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 B11

4.1.1 Titel:

Die Rolle des Netzwerkes nicht-neuronaler Zellen bei axonalem Auswachsen

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Nitsch, Robert, 20.11.62, Universitätsprofessor (C4)
Centrum für Anatomie
Institut für Zell- und Neurobiologie
Medizinische Fakultät der Humboldt Universität Berlin
Charité – Universitätsmedizin Berlin
10117 Berlin

Telefon: 030-450 528 002
Telefax: 030-450 528 902
E-Mail: robert.nitsch@charite.de

Hendrix (geb. Müller-Röver), Sven, 12.11.68, Wissenschaftlicher Assistent (C1)
Centrum für Anatomie
Institut für Zell- und Neurobiologie
Medizinische Fakultät der Humboldt Universität Berlin
Charité – Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin

Telefon: 030-450 528 409
Telefax: 030-450 528 902
E-Mail: sven.hendrix@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung,

Die Interaktion nicht-neuronaler Zellen nach axonaler Läsion im ZNS

Nach mechanisch induzierten axonalen Läsionen im ZNS migrieren Mikrogliazellen in die Zonen anterograder Degeneration, proliferieren und phagozytieren degeneriertes Myelin, welches sie den einwandernden T-Zellen präsentieren. Neben der Aktivierung von Mikroglia und T-Zellen kommt es bei einer Verletzung des Nervensystems außerdem zu einer Aktivierung von Astrozyten, die in vielfältigster Weise mit den T-Zellen und Mikroglia interagieren (Review in Hendrix & Nitsch, 2007).

T-Zellen können eine entscheidende Rolle bei axonaler Schädigung im ZNS spielen. Dabei wurden sowohl schädigende als auch neuroprotektive Effekte beobachtet ((Review in Hendrix & Nitsch, 2007). Es gibt zunehmend – allerdings sehr kontrovers diskutierte - Hinweise, dass diese gegensätzlichen Effekte von verschiedenen Subtypen von T-Helfer (TH)–Zellen hervorgerufen werden. Diese TH-Subtypen unterscheiden sich in ihrem Cytokinmuster. TH1-Zellen produzieren IFN- γ , Lymphotoxin, TNF und IL-2, TH2-Zellen hingegen IL-4, IL-5 IL-10 und IL-13. Vereinfachend lassen sich die schädigenden Effekte eher den TH-Zellen vom Subtyp 1 (TH1-Zellen) und die neuroprotektiven Effekte eher den TH2-Zellen zuschreiben (Review in Hendrix & Nitsch, 2007).

Astrozyten üben wichtige Immunfunktionen aus (Review in: Dong and Benveniste, 2001a) u.a. können sie MHC Klasse II-Antigene und die kostimulatorischen Moleküle B7 und CD40, die für die Antigenpräsentation und T-Zell-Aktivierung notwendig sind, exprimieren. Darüber hinaus sezernieren sie eine Vielzahl von Chemokinen und Cytokinen (Review in: Benveniste, 1997). Mehrere Untersuchungen deuten darauf hin, dass Astrozyten in höchst unterschiedlicher Weise mit TH-Zellen interagieren und zwar in

B11 Nitsch/Hendrix

Abhängigkeit von den TH-Subtypen TH1 und TH2. Es gibt viele Hinweise darauf, dass Astrozyten als nicht-professionelle APCs fungieren, indem sie TH2-Antworten provozieren und/oder T-Zell-Apoptose induzieren (Review in: Dong and Benveniste, 2001b). Diverse Studien konnten zeigen, dass Astrozyten zwar nicht in der Lage sind, T-Zell-Proliferation zu stimulieren (Meinl et al, 1994; Weber et al, 1994; Matsumoto et al, 1992), aber stattdessen aktiv die Inhibition oder Apoptose von CD41+ T-Zellen induzieren (Gold et al, 1996; Matsumoto et al, 1992). Andere Studien deuten darauf hin, dass Astrozyten T-Zellen nur nach einem Priming durch Microglia aktivieren können (Sedgwick et al, 1991) oder in Kokultur mit Microglia oder IL-1 (Williams et al, 1995). Es gibt auch Hinweise auf eine Rolle von Astrozyten in der Aktivierung von TH2-Antworten (Review in: Becher et al, 2000). Astrozyten hemmen die IL-12-Produktion durch Mikrogliazellen (Aloisi et al, 1997), welches den Hauptstimulus zur TH1-Differenzierung darstellt und TH2-Zellen unterdrückt (Aloisi, 1999; Aloisi et al, 1999b). TH1-Zellen können von Mikrogliazellen effektiver restimuliert werden als von Astrozyten, während TH2-Zellen von Astrozyten besser restimuliert werden als von Mikrogliazellen (Aloisi et al, 1999a). Das TH1-Cytokin IFN- γ bewirkt eine Expression von MHC-II auf Mikrogliazellen und Astrozyten *in vitro*. Astrozyten reduzieren ferner die antigenabhängige T-Zell-Aktivierung durch Induktion des inhibitorischen Proteins CTLA-4 (Gimsa et al, 2004).

T-Zell-Neurotrophine

Da T-Zellen Neurotrophine sezernieren können (Ehrhard et al, 1993; Kerschensteiner et al, 1999; Muhallab et al, 2002; Santambrogio et al, 1994) wurde die Hypothese aufgestellt, dass T-Zellen durch die Sekretion von Neurotrophinen neuroprotektiv wirken (Kerschensteiner et al, 1999; Moalem et al, 2000). Dabei ist vorgeschlagen worden, dass die Remissionsphasen in der Multiplen Sklerose (MS) und in der EAE zumindest zum Teil auf axonales Wiederauswachsen zurückzuführen sein können, welches durch T-Zell-Neurotrophine stimuliert wird (Hohlfeld et al, 2000).

Neuroprotektion und -regeneration durch T-Zellen

Aufgrund der kontrovers diskutierten Datenlage ist es wichtig, die Begriffe „Neuroprotektion“ und „Neuroregeneration“ deutlich zu trennen. Unter „Neuroprotektion“ verstehen wir eine Verminderung des neuronalen Schadens oder Zelltods, während „Neuroregeneration“ sich auf die - zumindest partielle - Wiederherstellung bereits geschädigter neuronaler Zellen und ihrer Fortsätze (also axonales Wiedereinwachsen bzw. „Sprouting“) bezieht. Häufig allerdings werden diese beiden unterschiedlichen Vorgänge auf der Basis funktionelle Verbesserung dem Begriffe „protektiv“ subsumiert (Review in: Schwartz and Cohen, 2000), ohne dass das strukturelle Korrelat einer solchen Verbesserung näher verstanden ist.

T-Zellen sind in der Lage, nach Läsion in die Deafferenzierungszone einzuwandern (z.B. Bechmann et al, 2001b). In der letzten Zeit haben sich zunehmend Hinweise ergeben, die dabei eine protektive Rolle von Makrophagen und T-Zellen nahelegen (Review in: Schwartz and Cohen, 2000; Hendrix & Nitsch, 2007). Autoimmune T-Zellen, die spezifisch für MBP sind, können verletzte Nervenzellen vor einem sekundären Fortschreiten des Primärschadens schützen (Moalem et al, 1999). Eine posttraumatische Ausbreitung des Schadens im Nervus opticus kann dabei durch den adoptiven Transfer von autoimmunem MBP-spezifischen T-Zellen verhindert werden. Eine Immunisierung mit Copaxone-1 (Myelin-ähnliches Polypeptid Glatiramer, eingesetzt in der Therapie der MS als immunmodulatorische Substanz) und Adjuvans sowie der adoptive Transfer von Copaxone-1 spezifischen T-Zellen war in der Lage, das Fortschreiten einer sekundären Schädigung des Nervus opticus nach Quetschläsion zu verhindern (Kipnis et al, 2000). Dabei ist allerdings nicht völlig klar, was das strukturelle Korrelat dieser „Neuroprotektion“ ist, d.h., ob es sich entweder um eine unterdrückte Entzündungsreaktion und/oder um eine gesteigerte neuronale Regeneration handelt. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass TH1-Zellen das Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) auf Mikroglia induzieren und dass diese ICAM-1-Induktion wiederum von TH2-Zellen verhindert oder rückgängig gemacht werden kann. D.h., TH2-Zellen scheinen in die Fähigkeit zu besitzen, TH1-induzierte Entzündungsreaktionen zu unterdrücken (Gimsa et al, 2001). Auf der anderen Seite sind TH1-Zellen in der Lage, axonales Auswachsen zu inhibieren, während TH2-Zellen das axonale Auswachsen stimulieren (Müller-Röver et al, submitted). D.h., es kommen sowohl neuroprotektive als auch neuroregenerative Prozesse in Betracht.

Es ist bisher ungeklärt, wie eine Modulation des axonalen Auswachsens durch TH-Zellen vermittelt werden könnte. Eine Möglichkeit ist die Modulation der astrozytären Neurotrophin-Sekretion. Axonale

Schädigung (am Beispiel der entorhinalen Deafferenzierung) resultiert in einer vermehrter Sekretion von Wachstumsfaktoren und Cytokinen im Hippocampus (NGF, BDNF, bFGF, IGF, TGF-beta 1; Kar et al, 1993; Lapchak et al, 1993; Morgan et al, 1993), die zum überwiegenden Teil von Gliazellen exprimiert werden. Morphologisch liegen Daten für eine schichtenspezifische Aktivierung von Gliazellen in der Deafferenzierungszone für Astrozyten vor (Steward et al, 1993; Deller et al, 1997). Experimentelle Daten konnten zeigen, dass Antikörper gegen NGF hippocampales "Sprouting" nach entorhinaler Läsion verhindern können (Van der Zee et al, 1992). Interessanterweise können TH2-Zellen die astrozytäre NGF-Sekretion direkt beeinflussen. Astrozyten sind die Hauptquelle für NGF. Die Produktion astrozytären NGFs wird nach Kontakt mit den TH2-Cytokinen IL-4, IL-5 und IL-10 deutlich gesteigert (Awatsuji et al, 1993; Brodie, 1996b; Brodie et al, 1998). Im Gegensatz dazu hemmt das TH1-Cytokin IFN- γ die astrozytäre NGF-Produktion (Awatsuji et al, 1995; Brodie, 1996a). Schließlich wird auch die astrozytäre NGF-Produktion in der Kokultur durch TH2-Zellen stimuliert (Øren et al, 2004).

Angewandte Methoden

Zur Analyse des Neuritenwachstums im PNS verwendeten wir kultivierte organotypische Spinalganglien und entwickelten ein standardisiertes, auf Bildanalyse-Software-gestütztes Auswertungsverfahren für Neuriten-Auswachsen (Gölz et al, 2006). Zur Analyse der Hautinnervation und ihrer Regeneration nach Axotomie *in vivo* entwickelten wir ein standardisiertes Denervierungsprotokoll (Siebenhaar et al, 2008) sowie ein Analyse-Protokoll für die Hautinnervation (Hendrix et al, 2008). Diese Protokolle kombinierten wir mit verschiedenen Modellen der experimentell induzierter Hautentzündung (Siebenhaar et al, 2008).

Darüber hinaus etablierten wir verschiedene Modelle organotypischer Kortex-Explantat-Kulturen und entorhinal-hippocampalen Komplexschnittkulturen, die wir den Fragestellungen entsprechend weiterentwickelten (Hechler et al, 2006, Schmitt et al, 2007; Hendrix et al, in Revision). Um die Prozesse des axonalen Auswachsens und der Re-Innervation nach Läsion im Detail studieren zu können, haben wir komplexe Kombinations-Kokulturen entwickelt, in welchen der entorhinale Kortex verschiedener GFP-positiver transgener Mäuse mit Wildtyp-Hippocampi kombiniert wird (Hechler et al, 2006, Hendrix et al, in Revision). Entorhinal-hippocampale Komplexschnittkulturen verwendeten wir auch für die experimentelle Beeinflussung von excitotoxischer Schädigung des Hirngewebes (Eljaschewitsch et al, 2006).

Wir entwickelten Kokulturen von organotypischen Hirnschnitten mit T-Zellen unterschiedlicher Subtypen (Th1, Th2, Treg), unterschiedlicher Aktivierung (naive, antigen-spezifisch und unspezifisch-ConA-aktiviert), aus unterschiedlichem Mausehintergrund (Balb/C, C57BL/6, B10.PL) sowie in Gegenwart von neutralisierenden Antikörpern. Die T-Zellen und Cortex-Eplantate charakterisierten wir mit FACS, Westernblot, ELISA und Real-Time-PCR.

Wir führten ferner Entorhinale Kortex-Läsionen *in vivo* (Lünemann et al, 2006, Hendrix et al, in Revision), fokale Ischämie (Lehnardt et al, 2007) und experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (Dörr et al, 2005; Aktas et al, 2005) durch und etablierten in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Martin Schwab, Hirnforschungszentrum Zürich, verschiedene Rückenmarksläsionsmodelle in unserem Labor (Hendrix et al, in Revision).

Ergebnisse und ihre Bedeutung

Wir untersuchten im Teilprojekt 507B11 die Rolle von Entzündungsfaktoren und Immunzellen im Nervensystem mit besonderem Schwerpunkt auf Zytokin-/Neurotrophin-Interaktionen und dem Einfluss von Th1- und Th2-Zellen bei der Regeneration des peripheren und zentralen Nervensystems (PNS, ZNS).

Zur Analyse der Hautinnervation entwickelten wir ein standardisiertes Analyse-Protokoll (Hendrix et al, 2008). Wir konnten zeigen, dass das Nervensystem der Haut massiven Schwankungen in Abhängigkeit von physiologischen Umbauprozessen (z. B. dem Haarzyklus, Hendrix & Peters, 2007), von adaptiven Prozessen (z. B. als Reaktion auf systemischen Stress; Hendrix, 2008) und im Rahmen von Entzündungen erfährt (Hendrix & Peters, 2007). Insbesondere konnten wir nachweisen, dass es zu Schwankungen der Expression des Nervenwachstumsfaktors NGF kommt (Peters et al, 2006) und dass die Neurotrophin- und Neurotrophinrezeptor-Expression durch Zytokin-Injektionen moduliert werden kann (Bläsing et al, 2005). In der ersten neonatalen sowie in allen darauf folgenden sich zyklisch wiederholenden Phasen des Haarwachstums steigt die Expression von NGF in der Haut an (Peters et al, 2006). Zusätzliche Zufuhr von NGF in der *frühen* Wachstumsphase der adoleszenten Haut beschleunigt das Haarwachstum (Peters

et al, 2006), während Zufuhr von NGF in der *späten* Wachstumsphase, wenn die folliculäre Expression von proNGF und p75NTR prominent nachzuweisen ist, hingegen zur Einleitung der Haarfollikelregression und somit zum Ende des Haarwachstums führt. NGF/TrkA-Interaktionen beschleunigen also die Haarwachstumsphase, während NGF/p75NTR-Interaktionen die physiologische Haarfollikelregression einleiten (Peters et al, 2006). Da aus diversen *In-Vitro*-Studien bekannt ist, dass pro-inflammatorische Zytokine in verschiedenen Zelltypen die Sekretion von Neurotrophinen steigern, haben wir ferner untersucht, wie sich die Expressionsmuster der Neurotrophine NGF, BDNF, NT-3 und NT-4 und ihren Rezeptoren Trk-A, Trk-B, Trk-C und p75NTR *in vivo* verändern, wenn IL-1 β , TNF α und IFN γ in die Haut injiziert werden (Bläsing et al, 2005). Es zeigte sich, dass IL-1 β , TNF α und IFN γ sowie ein Cocktail dieser drei Zytokine die NGF-Expression in epithelialen und mesenchymalen Zellpopulationen der Haut hochregulieren (Bläsing et al, 2005). Der Zytokin-Cocktail steigerte darüber hinaus die epitheliale NT-3- und NT-4-Expression und die p75NTR-Expression in der dermalen Papille (Bläsing et al, 2005). Dies ist ein erster *in-vivo*-Hinweis, dass Zytokine die Expression von Neurotrophinen und ihren Rezeptoren beeinflussen können. Vor dem Hintergrund dieser und anderer Studien untersuchten wir nun, ob die für Zytokine beschriebenen Effekte auf axonales Auswachsen sich möglicherweise über eine Modulation der Neurotrophin-Wirkung im Rahmen Neurotrophin-abhängiger axonaler Regeneration erklären lassen (Gölz et al, 2006). Wir haben ferner untersucht, wie sich experimentelle Hautentzündung und Axotomie gegenseitig beeinflussen (Siebenhaar et al, 2008, Hendrix et al, in Vorbereitung). Wir konnten zeigen, dass Mastzell-abhängige Entzündungsprozesse substanziiell durch Denervierung unterdrückt werden (Siebenhaar et al, 2008) während Mastzell-unabhängige Entzündungsprozesse zu einer verstärkten Reinnervation führen (Hendrix et al, in Vorbereitung). Wir verwendeten ein Modell einer Typ 1 Allergie-reaktion (passive kutane Anaphylaxie) in Gegenwart oder Abwesenheit (nach Axotomie) von sensorischen Nerven (Siebenhaar et al, 2008). Die passive kutane Anaphylaxie wurde signifikant reduziert durch experimentelle Axotomie. Dies wurde aber nicht durch eine Veränderung der Mastzellzahlen in der Haut hervorgerufen. Darüber hinaus wurde durch die Denervierung auch die IgE-vermittelte Mastzellaktivierung reduziert. Vorbehandlung mit Antagonisten der Neuropeptide Substance P und/oder Calcitonin gene-related peptide schließlich führte auch zu deutlich verminderter Entzündung (Siebenhaar et al, 2008).

Um zu untersuchen, welchen Einfluss entzündungsassoziierte Zytokine auf Neurotrophin-abhängige axonale Regeneration im peripheren Nervensystem haben, charakterisierten wir im ersten Schritt den Einfluss der Neurotrophine NGF, NT-3 und NT-4 auf das axonale Auswachsen kultivierter Spinalganglien der Maus (Gölz et al, 2006). Die Spinalganglien wurden am embryonalen Tag 13 entnommen und in Matrigel für zwei Tage kultiviert, um dann die axonale Morphologie, Dichte und Länge mit Hilfe einer Bildanalyse-Software zu bestimmen. Die Neurotrophine wurden einmalig entweder als Einzelfaktor (50ng/ml) oder in Zweifach- oder Dreifachkombination zu den Kulturen hinzugegeben. NT-3, NT-4, und deren Kombination induzierten eine moderate Steigerung des axonalen Wachstums im Vergleich zu Kontrollen ohne Zytokine. NGF und alle Kombinationen, die NGF enthielten, führten darüber hinaus zu einer noch weitaus stärkeren axonalen Wachstumssteigerung. Das geringe spontane Auswachsen der Spinalganglien konnte vollständig blockiert werden durch den Pan-Neurotrophin-Rezeptor-Antagonisten K252a, der - richtig dosiert - spezifisch TrkA, TrkB und TrkC (nicht aber p75NTR) inhibiert. Dies ist ein sehr deutlicher Hinweis, das auch das spontane Axonwachstum Neurotrophin-abhängig ist und von endogenen Neurotrophinen induziert wird (Gölz et al, 2006).

Nach der Charakterisierung dieser Wachstumsmuster, kultivierten wir die organotypischen Spinalganglien unter Zugabe der verschiedenen Neurotrophine bzw. ihrer Kombinationen und gaben die folgenden Zytokine in einer niedrigen (50 ng/ml) oder hohen Dosis (500ng/ml) dazu: IL-1 β , IL-4, IL-6, IFN γ und TNF α . Spontanes Axonwachstum (ohne exogene Neurotrophine) wurde nur von IL-6 und TNF α moduliert. Durch rekombinante Neurotrophine induziertes axonales Auswachsen wurde durch alle untersuchten Zytokine beeinflusst außer durch IL-1 β . IL-6 stimulierte NT-3+NT-4-induziertes Wachstum. IFN γ steigerte die Neuriten-Extension in der Gegenwart der Neurotrophin-Kombinationen NT-3+NT-4 und NT-3+NGF. TNF α hatte einen inhibierenden Einfluss auf NT-3-, NT-3+NGF-, NT-4+NGF- und NT-3+NT-4+NGF-induziertes Axonwachstum. Interessanterweise hatte IL-4 einen dosisabhängigen Effekt: in niedriger Konzentration unterdrückte IL-4 NT-4+NGF- und NT-3+NT-4+NGF-induzierte Neuriten-Extension, während eine hohe Dosis IL-4 NT-4-abhängiges Axonwachstum förderte. Dies ist unseres Wissens der erste Nachweis, dass das T-Zell-Zytokin IL-4 einen direkten oder indirekten Einfluss auf axonales Auswachsen hat. Wir konnten in einer parallel durchgeführten Studie im ZNS zeigen, dass IL-4 auch eine zentrale Rolle spielt bei einer durch

T-Helferzellen induzierten Steigerung axonalen Auswachsens nach mechanischer Schädigung sowohl des Gehirns als auch des Rückenmarks (Hendrix et al, in Revision).

ZNS-Schädigung führt zu einer starken Aktivierung lokaler Mikroglia-Zellen. Wir charakterisierten einen Marker für Mikroglia (Macrophage/Microglia-activation factor, MAF), der spezifisch von läSIONs-assoziiertter Mikroglia exprimiert wird (Lünemann et al, 2006). Mikroglia-Aktivierung führt unter anderem zu einer Hochregulation des Toll-like receptors 2 (TLR-2) in läSIONs-assoziiertter Mikroglia. Wir konnten mit Hilfe von Knockout-Mäusen nachweisen, dass TLR-2-Defizienz zu einer deutlichen Reduktion der ZNS-Schädigung führt, d. h., microgliale TLR-2-Expression ist ein wichtiger Faktor microglial bedingter Exazerbation der Hirnentzündung (Lehnardt et al, 2007). Wir konnten zeigen, dass Endocannabinoide eine Schlüsselrolle bei der Beeinflussung der microglialen Exazerbation der ZNS-Schädigung insbesondere nach excitotoxischer Schädigung des ZNS spielen (Eljaschewitsch et al, 2006).

Ein weiterer wichtiger Faktor, der für die Schädigung des Hirngewebes von Bedeutung ist, ist der Tumornecrosis-factor-related apoptosis-inducing-ligand (TRAIL) (Dörr et al, 2005; Aktas et al, 2005). Dies konnte gezeigt werden durch die Blockade von TRAIL im Rahmen der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), die zu einer deutlicher Reduktion der klinischen Symptome und der neuronalen Apoptose im Hirnstamm führte. Ferner zeigten TRAIL-defiziente myelin-spezifische Lymphozyten eine reduzierte Enzephalitogenität beim Transfer in Wildtypmäuse. Umgekehrt führte intrazerebrale Gabe von TRAIL zu ausgeprägter Krankheitsausprägung im Vergleich zu unbehandelten Wildtypmäusen (Aktas et al, 2005).

Die Rolle von T-Zellen im Rahmen von nicht-autoimmunen Entzündungsreaktionen nach mechanischer Schädigung des ZNS ist bisher noch deutlich weniger verstanden und Thema heftiger wissenschaftlicher Kontroversen (Hendrix & Nitsch, 2007). Wir konnten zeigen, dass ZNS-irrelevante T-Zellen in das Gehirn einwandern und die Blut-Hirnschranke beeinträchtigen, aber im Gegensatz zu ZNS-spezifischen Zellen nicht zu einer glialen Schädigung führen (Smorodchenko et al, 2007). Da es einige indirekte Hinweise in der Literatur gibt, dass Th2-Zellen eine wichtige, aber bisher unverstandene Rolle bei einer mechanischen ZNS-Läsion spielen (Hendrix & Nitsch, 2007), untersuchten wir, ob Th2-Zellen und die von ihnen sezernierten Zytokine die axonale Regeneration nach mechanischer ZNS-Schädigung fördern (Hendrix et al, in Revision). Wir konnten *in vitro* und *in vivo* zeigen, dass Th2-Zellen via IL-4 signifikant das axonale Auswachsen nach entorhinaler Kortex-Läsion fördern. Darüber hinaus steigerte die intraläsionale Injektion von unspezifisch aktivierten Th2-Zellen signifikant die axonale Regeneration nach einer Kontusionsverletzung des Rückenmarks in Mäusen. Wir konnten ferner nachweisen, dass IL-4 der entscheidende Faktor des Th2-induzierten Axonwachstum ist, da es sowohl durch Antikörper gegen IL-4 geblockt wird als auch nicht mehr in organotypischen Hirnschnitten aus IL-4-Rezeptor-Knockout-Mäusen induzierbar ist. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass rekombinantes IL-4 die Reinnervation des denervierten Hippocampus fördert und dass die konstante Sekretion von IL-4 durch transfizierte Plasmazytomzellen das axonale Auswachsen unterstützt. IL-4-Rezeptorexpression ist nach Läsion auf den neuronalen Zellen der hippocampalen Formation sowie auf reaktiven Astrozyten hochreguliert. Ferner regulieren Th2-Zellen *in vitro* und *in vivo* die Neurotrophinrezeptor-Expression auf Entorhinalen Cortex-Explantaten hoch. Diese Hochregulation wird durch Anti-IL-4-Antikörper blockiert. Die durch Th2-Zellen induzierte Steigerung des Axonwachstums ist abhängig von der Neurotrophin-Signaltransduktion, da es durch Antikörper gegen Neurotrophine deutlich reduziert und durch den Pan-Neurotrophin-Rezeptor-Blocker K252a vollständig inhibiert werden kann. Dies ist der erste formale Beleg, dass Th2-Zellen durch ihr Marker-Zytokin IL-4 Neurotrophin-abhängiges axonales Auswachsen nach Läsion fördern (Hendrix et al, in Revision).

Die hier zusammengefassten Arbeiten sind erste deutliche Hinweise darauf, dass die axonale Regeneration nach Nervenschädigung im PNS und ZNS über eine Zytokin/Neurotrophin-Achse reguliert wird.

Bezüge zu und Kooperationen mit anderen Arbeiten im Sonderforschungsbereich

Ausgeprägte inhaltliche Bezüge und intensive Zusammenarbeit ergab sich v. a. mit dem Teilprojekt B14 insbesondere im Hinblick auf die Bedeutung von TRAIL bei der zerebralen Schädigung (Dörr et al, 2005; Aktas et al, 2005), auf die Rolle von T-Zellen bei der Invasion des Hirngewebes (Smorodchenko et al, 2007) sowie im Rahmen der T-Zell-induzierten Axonregeneration *in vitro* und *in vivo* (Hendrix et al, in Revision).

Vergleiche mit Forschungen außerhalb des Sonderforschungsbereichs und Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf die eigenen Arbeiten,

Die Bedeutung von Zytokin-Neurotrophin-Interaktionen im Rahmen von neuronalem Zellüberleben und in der Neuroregeneration stößt zunehmend auf Interesse. Insbesondere die therapeutische Verwendung von IL-4 und IL-4-produzierenden T-Zellen fand großes Interesse bei mehreren internationalen Kongressen und führte zur Etablierung internationaler Kollaborationen, um diese innovative Therapiestrategie mit anderen erfolgreichen Ansätzen (Anti-Nogo-Antikörper, perläsionale Gabe neuraler Stammzellen) zu kombinieren.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- **Begutachtete Veröffentlichungen**

Siebenhaar F, Magerl M, Peters EMJ, Hendrix S, Metz M, Maurer M: Mast cell-driven skin inflammation is impaired in the absence of sensory nerves. **J Allergy Clin Immunol**, doi:10.1016/j.jaci.2007.11.013, 2008

Hendrix S: Neuro-immune communication in skin – far from peripheral **J Invest Dermatol**, 128(2):260-261, 2008

Hendrix S, Picker B, Liezman C, Peters EMJ: Skin and hair follicle innervation in experimental models: a guide for the exact and reproducible evaluation of neuronal plasticity **Exp Dermatol**, 17:214–228, 2008

Smorodchenko A, Wuerfel J, Pohl EE, Vogt J, Tysiak E, Glumm R, Hendrix S, Nitsch R, Zipp F, Infante-Duarte C: CNS-irrelevant T cells enter the brain, cause blood-brain barrier disruption but no glial pathology. **Eur J Neurosci**, 26(6):1387-98, 2007

Lehnardt S, Lehmann S, Kaul D, Tschimmel K, Hoffmann O, Cho S, Krueger C, Nitsch R, Meisel A, Weber JR: Toll-like receptor 2 mediates CNS injury in focal cerebral ischemia. **J Neuroimmunol**. 190(1-2):28-33, 2007

Lehnardt S, Wennekamp J, Freyer D, Liedtke C, Krueger C, Nitsch R, Bechmann I, Weber JR, Henneke P: TLR-2 and caspase 8 are essential for group B Streptococcus-induced apoptosis in microglia. **J Immunol**. 179(9):6134-43 2007

Schmitt KR, Kern C, Lange PE, Berger F, Abdul-Khaliq H, Hendrix S: S100B modulates IL-6 release and cytotoxicity from hypothermic brain cells and inhibits hypothermia-induced axonal outgrowth **Neurosci Res**, 59(1):68-73, 2007

Hendrix S, Nitsch R: The role of T helper cells in neuroprotection and regeneration **J Neuroimmunol**, 184:100-112, 2007

Hendrix S, Peters EMJ: Neuronal plasticity and neuroregeneration in the skin – The role of inflammation **J Neuroimmunol**, 184:113-126, 2007

Eljaschewitsch E, Witting A, Mawrin C, Lee T, Schmidt PM, Wolf S, Hörtnagl H, Raine CS, Schneider-Stock R, Nitsch R*, Ullrich O*: The Endocannabinoid Anandamide Protects Neurons during CNS Inflammation by Induction of MKP-1 in Microglial Cells. **Neuron** 49: 67-79, 2006
* these senior authors contributed equally

Hechler D, Nitsch R, Hendrix S: GFP-transgenic mouse models for the study of axonal growth and regeneration *in vitro* **Brain Res Rev**, 52(1):160-169, 2006

Lünemann A, Ullrich O, Diestel A, Jöns T, Ninnemann O, Kovac A, Pohl EE, Hass R, Nitsch R, Hendrix S: Macrophage/microglia activation factor expression is restricted to lesion-associated microglial cells after brain trauma **Glia**, 53(4):412-9, 2006

Gölz G, Uhlmann L, Lüdecke D, Markgraf N, Nitsch R, Hendrix S: The cytokine/neurotrophin axis in peripheral axon outgrowth **Eur J Neurosci**, 24: 2721–2730, 2006

Hendrix S, Warnke K, Siebenhaar F, Peters EMJ, Nitsch R, Maurer M: The majority of brain mast cells in B10.PL mice is present in the hippocampal formation **Neurosci Letters**, 392:174–177, 2006

Lehnardt S, Henneke P, Lien E, Kasper DL, Volpe JJ, Bechmann I, Nitsch R, Weber JR, Golenbock DT, Vartanian T: A mechanism for neurodegeneration induced by Group B streptococci through activation of the TLR2/MvD88 pathway in microglia. **J Immunol**, 177(1):583-92, 2006

Peters EMJ, Hendrix S, Gölz G, Klapp BF, Arck PC, Paus R: Nerve Growth Factor and its Precursor Differentially Regulate Hair Cycle Progression in Mice **J Histochem Cytochem**, **54(3):275-88, 2006**

Aktas O*, Smorodchenko A*, Brocke S, Infante-Duarte C, Topphoff US, Vogt J, Prozorovski T, Meier S, Osmanova V, Pohl E, Bechmann I, Nitsch R*, Zipp F*: Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL. **Neuron** 46(3): 421-432, 2005
*these authors contributed equally

Bläsing H*, Hendrix S*, Botchkarev VA, Paus R: Pro-inflammatory cytokines upregulate the skin immunoreactivity for NGF, NT-3, NT-4 and their receptor, p75NTR in vivo **Arch Dermatol Res**, 296: 580–584, 2005
* equally contributing authors

Hendrix S, Handjiski B, Peters EMJ, Paus R: A guide to assessing damage response-pathways of the hair follicle: Lessons from cyclophosphamide-induced alopecia in mice **J Invest Dermatol**, 125 (1), 42-51, 2005

Bechmann I, Goldmann J, Kovac AD, Kwidzinski E, Simbürger E, Naftolin F, Dirnagl U, Nitsch R, Priller J: Circulating monocytic cells infiltrate layers of anterodgrade axonal degeneration where they transform into microglia. **FASEB J** 19(6):647-649, 2005

Kwidzinski E, Bunse J, Aktas O, Richter D, Mutlu L, Zipp F, Nitsch R, Bechmann I: Indolamine 2,3-dioxygenase is expressed in the CNS and down-regulates autoimmune inflammation. **FASEB J** 19(10): 1347-1349, 2005

Dörr J, Roth K, Zurbuchen U, Deisz R, Bechmann I, Lehmann TN, Meier S, Nitsch R, Zipp F: Tumor-necrosis-factor-related apoptosis-inducing-ligand (TRAIL)-mediated death of neurons in living human brain tissue is inhibited by flupirtine-maleate. **J Neuroimmunol** 167(1-2): 204-209, 2005

- **Eingereichte Veröffentlichungen (mit Datum der Einreichung)**

Hendrix S, Hechler D, Sallach S, Gölz G, Kammertöns T, Schnell L, Lüdecke D, Brandt C, Rosenberger K, Lühder F, Siffrin V, Gold R, Blankenstein T, Schwab M, Schwegler H, Zipp F, Nitsch R: T helper cells stimulate axon regeneration via interleukin-4 by modulating neurotrophin signaling. **Nat Med**, under revision (Datum der Einreichung: 3.9.2007)

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 01/2002 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts-jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
bis 2004	252.000,00	53.685,00		305.685,00
2005	86.400,00	39.700,00		126.100,00
2006	88.800,00	29.900,00		118.700,00
2007	88.800,00	29.900,00		118.700,00
Summe	516.000,00	153.185,00		669.185,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mi- tarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Einrichtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Mo- nat/ Jahr)	Entgeltgruppe
Grundausstattung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Nitsch, Robert, Prof. Dr. med. Hendrix, Sven, PD Dr. med. Brandt, Christine, Dr. rer. nat.	Anatomie, Zellbiologie Anatomie, Zellbiologie Immunologie, Zellbio- logie	Institut für Zell- und Neurobiologie Institut für Zell- und Neurobiologie Institut für Zell- und Neurobiologie	07/95 - 12/07 02/02 - 12/07 03/02 - 12/07	
nichtwissen- schaftl. Perso- nal	Lüdecke, Doreen		Institut für Zell- und Neurobiologie	01/05 - 12/07	
Ergänzungsausstattung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Gölz, Greta Hechler, Daniel Hechler, Daniel Gigout, Sylvain, Dr. rer. nat.	Anatomie, Zellbiologie Anatomie, Zellbiologie Anatomie, Zellbiologie Anatomie, Elektro- physiologie	Institut für Zell- und Neurobiologie Institut für Zell- und Neurobiologie Institut für Zell- und Neurobiologie Institut für Zell- und Neurobiologie	05/03 - 12/07 09/03 - 03/06 01/07 - 12/07 06/06 - 04/07	BATO IIa/2 BATO IIa/2 BATO IIa/2 BATO IIa/2
nichtwissen- schaftl. Personal	Dannenberg, Rike König, Julia		Institut für Zell- und Neurobiologie Institut für Zell- und Neurobiologie	01/05 - 04/07 05/07 - 12/07	BATO Vc BATO Vc

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 B14

4.1.1 Titel:

Mechanismen der Immunzell-vermittelten Schädigung in der chronischen Entzündung des Zentralnervensystems

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Prof. Dr. med. Zipp, Frauke, 17.03.1963
Cecilie-Vogt-Klinik für Neurologie im HKBB
Charité – Universitätsmedizin Berlin und
Arbeitsgruppe für Molekulare Neurologie
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-Buch
Charitéplatz 1, 10117 Berlin
Telefon: +49-30-450 539028
Telefax: +49-30-450 539906
E-Mail: frauke.zipp@charite.de

PD Dr. med. Aktas, Orhan, 01.04.1972
Arbeitsgruppe für Entzündliche Neurodegeneration
Neurowissenschaftliches Forschungszentrum (NWFZ) und
Cecilie-Vogt-Klinik für Neurologie im HKBB
Charité – Universitätsmedizin Berlin
Charitéplatz 1, 10117 Berlin
Telefon: +49-30-450 539087
Telefax: +49-30-450 539906
E-Mail: orhan.aktas@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung

Als Ursache der Multiplen Sklerose (MS) wird eine fehlgeleitete Reaktion des Immunsystems angenommen, die sich in genetisch suszeptiblen Individuen gegen Bestandteile der Myelinscheide des zentralen Nervensystems (ZNS) richtet. Im Zentrum aktueller pathogenetischer Betrachtungen stehen proinflammatorische Myelin-reaktive T-Lymphozyten vom sog. T-Helfer (Th)1-Typ, die die charakteristischen intrazerebralen Entzündungsherde hervorrufen. Daten aus dem Tiermodell der MS, der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), stützen diese Hypothese: So lässt sich diese MS-Modellerkrankung in bestimmten Nagerstämmen auslösen sowohl durch die Immunisierung mit Bestandteilen der Myelinscheide (aktive EAE) wie auch durch den Transfer von Myelin-reaktiven T-Zellen (Transfer-EAE). In der pathogenetischen Kaskade erfolgt zunächst der Durchtritt von aktivierten T-Zellen durch die Blut-Hirnschranke, gefolgt von der Wiedererkennung der spezifischen Zielstruktur und somit Reaktivierung. In der Folge initiieren die T-Zellen eine lokal im Hirnparenchym gegen die Myelinmembran gerichtete Immunreaktion, bei der weitere Immunzellen (T- und B-Zellen, Makrophagen) rekrutiert werden.

Zum Zeitpunkt der Antragsstellung war dieses pathogenetische Konzept an entscheidenden Stellen erweitert worden. In den Mittelpunkt rückte die Erkenntnis, dass in der MS und in der EAE früh im Krankheitsverlauf neben der Entmarkung auch eine Schädigung der Axone auftritt (Ferguson et al., 1997, Trapp et al., 1998, Kornek et al., 2000), die als ein wesentlicher Faktor für die Behinderung angesehen wurde (Coles et al., 1999, Bjartmar et al., 2000). Die verantwortlichen Pathomechanismen waren jedoch wenig verstanden. Für den früh auftretenden axonalen Schaden wurde angenommen, dass ein ursächlicher Zusammenhang mit der ko-lokalisierten entzündlichen Infiltration besteht. Zwangsläufig stellte sich die Frage, weshalb eine primär gegen die Myelinscheide gerichtete Immunantwort, wie sie bei der EAE aus-

gelöst wird, zum neuronalen Schaden führt. In der Tat existieren Hinweise, dass eine ZNS-Antigen-unpezifische Akkumulation von aktivierten T-Zellen und Makrophagen in der weißen Substanz zum axonalen Schaden führt (Newman et al., 2003). In unserer Vorarbeit (Nitsch et al., 2004) konnten wir in Kokulturen aus Antigen-spezifischen T-Zellen und akuten lebenden Hirnschnitten mit Hilfe der 2-Photonen-Mikroskopie direkte T-Zell-Neuron-Interaktionen detektieren. Erstaunlicherweise fanden wir, dass Myelin-spezifische CD4⁺ T-Zellen, wie sie für die Induktion einer passiven EAE genutzt werden, im Parenchym direkt mit dem Zellkörper und -fortsätzen von Neuronen interagieren und neuronalen Untergang auslösen können. Diese Befunde bestätigten ähnliche Beobachtungen aus der humanen Einzelzellkultur (Giuliani et al., 2003) und legten nahe, daß T-Zellen in der Lage sind, unabhängig von ihrer Antigen-Spezifität direkt mit Neuronen zu interagieren und neuronalen Schaden zu verursachen. Als ein möglicher molekularer Kandidat für den T-Zell-vermittelten neuronalen Untergang galt der *tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL): In unseren Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass TRAIL-Rezeptoren im humanen ZNS exprimiert werden (Dörr et al., 2002a), T-Zellen TRAIL-vermittelt in Gliomzellen Zelltod (Dörr et al., 2002b) und wir in humanem Hirngewebe durch TRAIL insbesondere neuronalen Zelltod induzieren können (Nitsch et al., 2000; Dörr et al., 2004).

Daher war es das Ziel des Vorhabens, mögliche zeitliche Muster und molekulare Mechanismen Immunzell-vermittelter neuronaler Schädigung im Tiermodell der MS aufzuklären: Wann und wo kommt es in der EAE neben dem gut beschriebenen axonalen Schaden zu neuronalem Untergang? Ist der neuronale Schaden spezifisch für ein EAE-Modell oder kommt er in unterschiedlichen Mausstämmen und in aktiver und passiver EAE vor? Mechanistisch untersuchten wir, welche Mechanismen für die direkte T-zelluläre neuronale Schädigung verantwortlich sind, und welchen Beitrag der Todesligand TRAIL zur neuronalen Schädigung im ZNS im Verlauf der EAE und anderer entzündlicher ZNS-Erkrankungen (z.B. infektiöser Genese) leistet.

Ergebnisse, Vernetzung innerhalb des SFB, Reaktion der wissenschaftlichen Öffentlichkeit

In Zusammenarbeit mit dem SFB-Mitantragssteller Prof. R. Nitsch untersuchten wir systematisch das Ausmaß des neuronalen Zelluntergang in der EAE. Diese Ergebnisse, die aufgrund der aufwendigen stereologischen Quantifizierungsmethodik erst kürzlich fertiggestellt wurden und aktuell zur Publikation aufbereitet werden, zeigten eine quantitativ deutliche und statistisch signifikante Abnahme von Neuronen (alpha- und gamma-Motoneurone sowie Interneurone) im Rückenmark von EAE-Tieren. Dieser Effekt entsprach einem neuronalen Verlust von ca. 50-75% (verglichen mit Kontrollen) und war unabhängig von dem verwendeten Antigen (Myelin Oligodendrozyten-Glykoprotein *versus* Proteolipidprotein), dem verwendeten Mausstamm (SJL/J *versus* C57BL/6) sowie vom Immunisierungsprotokoll (aktive EAE *versus* adoptive Transfer-EAE). In der für weitergehende mechanistische Betrachtungen wichtigen Kinetik des neuronalen Verlustes zeigte sich, daß bereits zum Zeitpunkt der ersten neurologischen Defizite ein quantitativer Neuronenverlust von ca. 20-30% zu verzeichnen war, der wenig später, zum Zeitpunkt des Höhepunkts der Erkrankung, bei ca. 50-70% lag. Dieser massive Verlust war auch in der chronischen Phase zu finden, so dass zellbiologische oder präparationsbedingte Artefakte (wie z.B. eine reversible Schrumpfung von Nervenzellen) auszuschließen sind. Der unerwartet deutliche Verlust bewog uns, die Validität der im EAE-Tiermodell erhobenen Befunde bei der MS zu verifizieren. In Kooperation mit Dr. Cedric Raine (Albert-Einstein-Universität, New York, USA) untersuchten wir daher stereologisch den Untergang von Neuronen im Rückenmark von MS-Patienten und konnten die EAE-Daten bestätigen: wir fanden eine Reduktion der Zahl von alpha-Motoneuronen auf ca. 25%. Gleichzeitig beobachteten wir im EAE-Modell innerhalb der untersuchten Areale (Rückenmark-Vorderhorn) eine deutliche Infiltration der grauen Substanz durch Entzündungszellen, vornehmlich Mikroglia/Makrophagen sowie T-Lymphozyten.

Angesichts dieser diffusen T-Zell-Infiltration sahen wir unsere Ausgangshypothese von einer direkten T-Zell-vermittelten neuronalen Schädigung bestätigt. Daher untersuchten wir in Zusammenarbeit mit den SFB-Mitantragsstellern Prof. I. Bechmann und Prof. R. Nitsch, welchen Beitrag der T-Zell-assoziierte Todesligand TRAIL zur Schädigung des ZNS beiträgt, und ob sich eine mögliche TRAIL-Beteiligung therapeutisch nutzen lässt. In Einklang mit den Ergebnissen einer anderen Arbeitsgruppe (Roth et al., 1999) stellten wir jedoch fest, dass selbst wiederholte intrazisternale Applikationen von TRAIL keinen neurotoxischen Effekt in gesunden Tieren haben (Aktas et al., *Neuron* 2005). Dagegen führte intrazisternal verabreichtes TRAIL in Tieren mit einer milden EAE zu einer deutlichen Verschlechterung des Krankheitsverlaufes. Diese erworbene Suszeptibilität für TRAIL erklären wir mit einer Hochregulation des Apoptose-vermittelnden TRAIL-Rezeptors auf

Neuronen im entzündeten ZNS. Der Beitrag von TRAIL zur T-Zell-vermittelten Krankheitsmanifestation zeigte sich bei dem Transfer von TRAIL-defizienten, Myelin-spezifischen T-Zellen in naive Wildtyp-Empfängertiere: Die Krankheitsinzidenz und -schwere war im Vergleich zu Myelin-spezifischen T-Zellen vom Wildtyp deutlich vermindert. Ebenso verfügten TRAIL-defiziente T-Zellen über eine reduzierte neurotoxische Kapazität in der Kokultur mit organotypischen Hirnschnitten (Aktas et al., *Neuron* 2005). Die Beteiligung von TRAIL an neuronalen Schadensprozessen *in vitro* und *in vivo* legt die therapeutische Modulation dieses Todesliganden in der EAE nahe. Zur Fokussierung auf die Schädigungsphase der Erkrankung induzierten wir daher eine passive EAE durch den Transfer von enzephalitogenen, TRAIL-exprimierenden T-Zellen in naive Rezipienten. Um eine möglichst auf das ZNS (den Ort der Schädigung) beschränkte Blockade des TRAIL-Systems zu erreichen, erhielten die Rezipienten vor bzw. unmittelbar nach Ausbruch der Erkrankung intrazisternale Injektionen eines löslichen, rekombinanten TRAIL-R2:Fc-Konstruktes, das die T-Zell-vermittelte, TRAIL-abhängige Apoptose von Neuronen *in vitro* verhindert. In der Tat zeigte sich ein im Vergleich mit intrazisternalen PBS-Kontrollinjektionen signifikant abgeschwächter EAE-Verlauf. Allerdings blieb als alternative Erklärungshypothese die Möglichkeit eines Fc-Fragment-vermittelten immunmodulatorischen Effektes bestehen, der unabhängig von der Unterbrechung des TRAIL-Signalweges einen solchen Effekt vermitteln könnte. Daher wurde in einem Bestätigungsexperiment die spezifische protektive Wirkung des TRAIL-R2:Fc-Konstruktes im Vergleich zu einer reinen Fc-Kontrolle bestätigt. Die immunhistochemische Färbung für aktivierte Caspase 3 zeigte, dass unter TRAIL-Blockade eine geringere Anzahl apoptotischer Neurone im Hirnstamm nachweisbar war. Ebenfalls war das Ausmaß der axonalen Schädigung und der entzündlichen Entmarkung im Rückenmark (immunhistochemische Detektion von APP bzw. Luxol-Fast-Blue-Färbung) in den TRAIL-R2:Fc-behandelten Tieren reduziert. Die histopathologische und durchflußzytometrische Analyse des entzündlichen Infiltrats zeigte, dass die autoimmune Entzündungsreaktion unter der intrazerebralen TRAIL-Blockade nicht abgeschwächt ist. Dies weist darauf hin, dass die intrazerebrale Hemmung der TRAIL-Signalkaskade ihre klinische und neuroprotektive Wirkung nicht (indirekt) über eine Verminderung der autoreaktiven T-Zell-vermittelten Entzündung, sondern (direkt) über eine isolierte Hemmung von Schadensprozessen erreicht hat. Diese Bewertung von TRAIL als ein wesentliches Effektormolekül T-Zell-vermittelter autoimmuner Entzündungsreaktionen (Aktas et al., *Neuron* 2005) steht schließlich in Einklang mit jüngsten Befunden aus anderen neurodegenerativen Krankheitsmodellen (Martin-Villalba et al., 1999; Schmaltz et al., 2002; Zheng et al., 2004; Sato et al., 2006).

Weiterhin ermöglichte die enge Vernetzung innerhalb des Sonderforschungsbereichs die Untersuchung des TRAIL-Systems in infektiösen ZNS-Erkrankungen. In Zusammenarbeit mit den SFB-Mittragsstellern Prof. J. Weber und Prof. J. Priller stellten wir fest, daß intrathekale Applikationen von TRAIL die Entzündungsprozesse im Rahmen der Pneumokokken-Zellwand-induzierten experimentellen Meningitis deutlich reduziert und die durch die Meningitis bedingte neuronale Schädigung vermindert (Hoffmann et al., *J Clin Invest* 2007). Ausgangspunkt der Studie war die Beobachtung, daß bei Patienten mit Meningitis die Konzentration von TRAIL im Serum deutlich erhöht ist. Hier ergab sich der erste Hinweis, daß TRAIL in einem infektiös-entzündlichen Kontext einen antiinflammatorischen Effekt im Tierexperiment hat, der künftig als neuer Ansatzpunkt bei der Meningitistherapie dienen könnte (Hoffmann et al., *J Clin Invest* 2007).

Die Ergebnisse aus unserem SFB-Teilprojekt stellten wir in verschiedenen Übersichtsarbeiten zusammen (Zipp et al., *Trends Pharm Sci* 2007; Aktas et al., *Arch Neurol* 2007; Aktas et al., *Front Biosci* 2007; Aktas et al., *J Neuroimmunol* 2007). Insbesondere die Betrachtung von gemeinsamen inflammatorischen Schadensmechanismen in verschiedenen neurologischen Erkrankungen (Zipp & Aktas, *Trends Neurosci* 2006) stieß auf Interesse und war eine der konzeptuellen Grundlagen für eine neue SFB-Initiative, die schließlich in den Transregio-SFB 43 „The brain as a target of inflammatory processes“ (Beginn: Januar 2008) mündete.

B14 Zipp/Aktas

Literatur

- Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, Hohlfeld R, Friese M, Schroder R, Deckert M, Schmidt S, Ravid R, Rajewsky K. Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 2000;192:393-404.
- Bjartmar C, Kidd G, Mork S, Rudick R, and Trapp BD. Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2000;48:893-901.
- Coles AJ, Wing MG, Molyneux P, Paolillo A, Davie C.M, Hale G, Miller D, Waldmann H, and Compston A. Monoclonal antibody treatment exposes three mechanisms underlying the clinical course of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1999;46:296-304.
- Dörr J, Bechmann I, Waiczies S, Aktas O, Walczak H, Krammer PH, Nitsch R, Zipp F. Lack of TRAIL but presence of its receptors in the human brain. *J Neurosci* 2002a;22:RC209 1-5.
- Dörr J, Roth K, Zurbuchen U, Deisz R, Bechmann I, Lehmann TN, Meier S, Nitsch R, Zipp F. Tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing-ligand (TRAIL)-mediated death of neurons in living human brain tissue is inhibited by flupirtine-maleate. *J Neuroimmunol*. 2005 Oct;167:204-209.
- Dörr J, Waiczies S, Wendling U, Seeger B, Zipp F. Induction of TRAIL-mediated glioma cell death by human T cells. *J Neuroimmunol* 2002b;122:117-124.
- Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, and Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997;120:393-399.
- Giuliani F, Goodyer CG, Antel JP, Yong VW. Vulnerability of human neurons to T cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol* 2003;171:368-379.
- Kornek B, Storck MK, Weissert R, Wallstroe E, Stefferl A, Olsson T, Linington C, Schmidbauer M, and Lassmann H. Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions. *Am J Pathol* 2000;157:267-276.
- Lassmann H. The pathology of multiple sclerosis and its evolution. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999;354:1635-40.
- Martin-Villalba, A., Herr, I., Jeremias, I., Hahne, M., Brandt, R., Vogel, J., Schenkel, J., Herdegen, T., Debatin, K.-M. (1999) CD95 ligand (Fas-L/APO-1L) and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand mediate ischemia-induced apoptosis in neurons. *J. Neurosci.* 19:3809-3817.
- Newman TA, Woolley ST, Hughes PM, Sibson NR, Anthony DC, Perry VH. T-cell- and macrophage-mediated axon damage in the absence of a CNS-specific immune response: involvement of metalloproteinases. *Brain* 2001;124:2203-2214.
- Nitsch R, Bechmann I, Deisz RA, Haas D, Lehmann TN, Wendling U, Zipp F. Human brain-cell death induced by tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *Lancet* 2000;356:827-828.
- Nitsch R, Pohl E, Smorodchenko A, Infante-Duarte C, Aktas* O, Zipp* F. Direct impact of T cells on neurons revealed by two-photon microscopy in living brain tissue. *J Neurosci.* 2004;24:2458-2464.
- Peterson JW, Bo L, Mork S, Chang A, and Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001;50:389-400.
- Sato, K., Niessner, A., Kopecky, S.L., Frye, R.L., Goronzy, J.J., Weyand, C.M. (2006) TRAIL-expressing T cells induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in the atherosclerotic plaque. *J. Exp. Med.* 203:239-250.
- Schmaltz, C., Alpdogan, O., Kappel, B.J., Muriglian, S.J., Rotolo, J.A., Ongchin, J., Willis, L.M., Greenberg, A.S., Eng, J.M., Crawford, J.M., Murphy, G.F., Yagita, H., Walczak, H., Peschon, J.J., van den Brink, M.R. (2002) T cells require TRAIL for optimal graft-versus-tumor activity. *Nat. Med.* 8:1433-1437.
- Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick RA, Mork S, and Bo L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998;338:278-285.
- Zheng, S.J., Wang, P., Tsabary, G., Chen, Y.H. (2004) Critical roles of TRAIL in hepatic cell death and hepatic inflammation. *J. Clin. Invest.* 113:58-64.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- Begutachtete Veröffentlichungen

Zipp F, Waiczies S, Aktas O, Neuhaus O, Hemmer B, Schraven B, Nitsch R, Hartung HP. Impact of HMG-CoA reductase inhibition on brain pathology. **Trends Pharmacol Sci.** 2007 Jul;28(7):342-9.

Hoffmann O, Priller J, Prozorovski T, Schulze-Topphoff U, Baeva N, Lunemann JD, Aktas O, Mahrhofer C, Stricker S, Zipp F, Weber JR. TRAIL limits excessive host immune responses in bacterial meningitis. **J Clin Invest.** 2007 Jul;117(7):2004-13.

Aktas O, Schulze-Topphoff U, Zipp F. The role of TRAIL/TRAIL receptors in central nervous system pathology. **Front Biosci.** 2007 May 1;12:2912-21. Review.

Paul F, Jarius S, Aktas O, Bluthner M, Bauer O, Appelhans H, Franciotta D, Bergamaschi R, Littleton E, Palace J, Seelig HP, Hohlfeld R, Vincent A, Zipp F. Antibody to aquaporin 4 in the diagnosis of neuromyelitis optica. **PLoS Med.** 2007 Apr;4(4):e133.

Aktas O, Ullrich O, Infante-Duarte C, Nitsch R, Zipp F. Neuronal damage in brain inflammation. **Arch Neurol.** 2007 Feb;64(2):185-9. Review.

Aktas O, Waiczies S, Zipp F. Neurodegeneration in autoimmune demyelination: recent mechanistic insights reveal novel therapeutic targets. **J Neuroimmunol.** 2007 Mar;184(1-2):17-26.

Zipp F, Aktas O. The brain as a target of inflammation: common pathways link inflammatory and neurodegenerative diseases. **Trends Neurosci.** 2006 Sep;29(9):518-27.

Aktas O, Smorodchenko A, Brocke S, Infante-Duarte C, Schulze Topphoff U, Vogt J, Prozorovski T, Meier S, Osmanova V, Pohl E, Bechmann I, Nitsch R, Zipp F. Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL. **Neuron.** 2005 May 5;46(3):421-32.

Aktas O, Prozorovski T, Smorodchenko A, Savaskan NE, Lauster R, Kloetzel PM, Infante-Duarte C, Brocke S, Zipp F. Green tea epigallocatechin-3-gallate mediates T cellular NF-kappa B inhibition and exerts neuroprotection in autoimmune encephalomyelitis. **J Immunol.** 2004 Nov 1;173(9):5794-800.

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von Januar 2002 bis Dezember 2007 gefördert.

Haushalts-jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
Bis 2004	184.800,00	46.017,00		230.817,00
2005	86.400,00	27.200,00		113.600,00
2006	88.800,00	25.300,00		114.100,00
2007	88.800,00	25.300,00		114.100,00
Summe	448.800,00	123.817,00		572.617,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Einrichtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgeltgruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfskräfte)	F. Zipp, Prof. med.	Humanmedizin, Neurologie	Cecilie-Vogt-Klinik für Molekulare Neurologie im HKBB, Charité - Universitätsmedizin Berlin, AG Molekulare Neurologie im Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch	01/2005 - 12/2007	
	O. Aktas, PD Dr. med	Humanmedizin, Neurologie		01/2005 - 12/2007	
nichtwissenschaftl. Personal	B. Seeger		Cecilie-Vogt-Klinik für Molekulare Neurologie im HKBB, Charité - Universitätsmedizin Berlin, AG Molekulare Neurologie im Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch	01/2005 - 12/2007	
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfskräfte)	Würfel, Jens Waiczies, Helmar Siffrin, Volker Brandt, Alexander Bellmann-Strobl, Judith Lehnardt, Seija Glumm, Robert Prozorovski, Timour	Humanmedizin, Neurologie Chemie, Dr. rer. nat. Humanmedizin, Neurologie Humanmedizin, Neurologie Humanmedizin, Neurologie Humanmedizin, Neurologie Humanmedizin, Neurologie Biochemie, Dr. rer.nat	Cecilie-Vogt-Klinik für Molekulare Neurologie im HKBB, Charité - Universitätsmedizin Berlin, AG Molekulare Neurologie im Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch	01/2005 - 12/2005 02/2005 - 10/2005 01/2006 - 12/2007 08/2006 - 12/2006 01/2007 - 11/2007 01/2007 - 09/2007 10/2007 - 12/2007 09/2007 - 11/2007	Ib IIa/2 IIa IIa/10h IIa/2 IIa/2 IIa/2 IIa/2
nichtwissenschaftl. Personal	Pikol, Susan Langer, Bettina Lips, Janet Krüger, Christina		Cecilie-Vogt-Klinik für Molekulare Neurologie im HKBB, Charité - Universitätsmedizin Berlin, AG Molekulare Neurologie im Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch	01/2005 - 12/2006 07/2006 - 11/2006 10/2007 - 12/2007 01/2007 - 09/2007	Vc Vc/10h Vc Vc

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 B16

4.1.1 Titel:

Die Rolle der Mikroglia bei postläsionalen Veränderungen in Schichten anterograder axonaler Läsion

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Bechmann, Ingo, 28.10.1968

Institut für Klinische Neuroanatomie

J.W. Goethe-Universität, Theodor-Stern Kai 7, 60590 Frankfurt/Main

Telefon: 069/6301 87 126

Telefax: 069/6301 87 120

E-Mail: bechmann@med.uni-frankfurt.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung

Mikrogliazellen wandern in Zellen axonaler Degeneration und phagozytieren dort degeneriertes Myelin.

Es war weder bekannt, ob

1. Hierbei auch monozytäre Zellen rekrutiert werden
2. Die Antigenpräsentation nach axonaler Läsion immunologische Konsequenzen aufweist
3. Leukozyten das Gehirn auch wieder verlassen können
4. Mikroglia an den postläsionalen dendritischen Umbauvorgängen beteiligt sind

zu 1.: Wir konnten zeigen, dass es zu einer akuten Infiltration von Monozyten in die Läsionszonen kommt und dass diese Zellen dann zu typischen Mikrogliaformen transformieren (Bechmann et al., FASEB J 2005).

zu 2.: Wenn nach axonaler Läsion eine Autoimmunenzephalomyelitis induziert wurde, war diese deutlich abgeschwächt und es konnten Myelinepitope in zervikalen Lymphknoten nachgewiesen werden (Mutlu et al., 2006).

zu 3.: Mithilfe einer von uns entwickelten Technik von Kopfschnitten, die die Fluoreszenz von GFP erhält, konnten wir zeigen, dass T-Zellen aus Läsionsarealen in zervikale Lymphknoten wandern (Goldmann et al., J Leukozyte Biol 2006).

zu 4.: Wir konnten zeigen, dass Mikrogliazellen in CXCR3-ko Mäusen in weitaus geringerem Umfang in Läsionsareale migrieren und (dadurch) dendritische Umbauvorgänge unterbleiben (Rappert et al., J Neurosci 2004). Eine Charakterisierung der zugrundeliegenden Interaktion von Mikroglia mit denervierten Dendriten gelang bislang noch nicht und wird derzeit mittels 2-Photonenmikroskopie untersucht.

Unsere Befunde implizieren, dass eine intakte Blut-Hirn-Schranke die Rekrutierung von Immunzellen nicht ausschließt. Dieser Befund wurde von der wissenschaftlichen Gemeinschaft mit großem Interesse angenommen. Es folgten zwei Publikationen mit Titelseite in Trends in Immunology und seither zahlreiche Einladungen zu Vorträgen u.a. nach Bonn, Rotterdam, Groningen, Odense, Barcelona, Lissabon, Mailand, St. Gallen und Zürich.

Gemeinsame Publikationen entstanden zusammen mit den Teilprojekten A10, B6, B14, C10 und C12.

B16 Bechmann

4.2.1 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- **Begutachtete Veröffentlichungen**

- Färber K, Markworth S, Pannasch U, Nolte C, Prinz V, Kronenberg G, Gertz K, Endres M, **Bechmann I**, Enjoji K, Robson SC, Kettenmann H (2008) The ectonucleotidase cd39/ENTPDase1 modulates purinergic-mediated microglial migration. *Glia* 56(3):331-341.
- Ivens S, Kaufer D, Flores LP, **Bechmann I**, Zumsteg D, Tomkins O, Seiffert E, Heinemann U, Friedman A (2007) TGF-beta receptor mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain* 130(2):535-47.
- Bechmann I**, Galea I, Perry H (2007) What is the blood-brain barrier (not)? *Trends Immunol* 28(1):5-11.
- Galea I, **Bechmann I**, Perry H (2007) What is immune privilege (not)? *Trends Immunol* 28(1):12-8.
- Mutlu L, Brandt C, Kwidzinski E, Sawitzki B, Gimsa U, Mahlo J, Aktas O, Nitsch R, van Zam M, Laman JD, **Bechmann I** (2007) Tolerogenic effect of fiber tract injury: Reduced EAE severity following entorhinal cortex lesion. *Exp Brain Res* 178(4):542-53.
- Braun JS, Hoffmann O, Schickhaus M, Freyer D, Dagand E, Bempohl D, Mitchell TJ, **Bechmann I**, Weber JR (2007) Pneumolysin causes neuronal cell death through mitochondrial damage. *Infect Immun* 75(9):4245-54.
- Lehnardt S, Wennekamp J, Freyer D, Liedtke C, Krueger C, Nitsch R, **Bechmann I**, Weber JR, Henneke P (2007) TLR2 and caspase-8 are essential for group B Streptococcus-induced apoptosis in microglia. *J Immunol* 179(9):6134-43.
- Lipp M, Brandt C, Dehghani F, Kwidzinski E, **Bechmann I** (2007) PD-L1 (B7-H1) regulation in zones of axonal degeneration. *Neurosci Lett* 425(3):156-61.
- Lehnardt S, Henneke P, Lien E, Kasper DL, Volpe JJ, **Bechmann I**, Nitsch R, Weber JR, Golenbock DT, Vartanian T (2006) A mechanism for neurodegeneration induced by group B streptococci through activation of the TLR2/MyD88 pathway in microglia. *J Immunol* 177(1):583-92.
- Goldmann J, Kwidzinski E, Brandt C, Mahlo J, Richter D, **Bechmann I** (2006) T cells traffic from brain to cervical lymph nodes via the cribroid plate and the nasal mucosa. *J Leuko Biol* 80(4):797-801.
- Bechmann I**, Goldmann J, Kovac AD, Kwidzinski E, Simburger E, Naftolin F, Dirnagl U, Nitsch R, Priller J (2005) Circulating monocytic cells infiltrate layers of anterograde axonal degeneration where they transform into microglia. *Faseb J*: 19(6) 647-9. Epub 2005 Jan 25.
- Bempohl D, Halle A, Freyer D, Dagand E, Schröder NW, **Bechmann I**, Schröder NW, Weber JR (2005) Bacterial programmed cell death of cerebral endothelial cells: Dual death pathways. *J Clin Invest* 115(6):1607-15.
- Aktas O, Smorodchenko A, Brocke S, Infante-Duarte C, Prozorovski T, Meier S, Osmanova V, Pohl E, Beyer M, **Bechmann I**, Nitsch R, Zipp F (2005) Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL. *Neuron* 46(3):421-32.
- Dorr J, Roth K, Zurbuchen U, Deisz R, **Bechmann I**, Lehmann TN, Meier S, Nitsch R, Zipp F (2005) Tumor-necrosis-factor-related apoptosis-inducing-ligand (TRAIL)-mediated death of neurons in living human brain tissue is inhibited by flupirtine-maleate. *J Neuroimmunol* 167(1-2):204-9.
- Rappert A*, **Bechmann I***, Pivneva T, Mahlo J, Biber K, Nolte C, Kovac AD, Gerard C, Boddeke HW, Nitsch R, Kettenmann H (2004) CXCR3-dependent microglial recruitment is essential for dendrite loss after brain lesion. *J Neurosci* 24(39):8500-9.
- Seiffert E, Dreier JP, Ivens S, **Bechmann I**, Tomkins O, Heinemann U, Friedman A (2004) Lasting blood-brain barrier disruption induces epileptic focus in the rat somatosensory cortex. *J Neurosci* 24(36):7829-36.

- **Patente**

keine

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 01/2005 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts- jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
2005	55.200,00	15.400,00	9.800,00	80.400,00
2006	55.200,00	15.400,00		70.600,00
2007	55.200,00	15.400,00		70.600,00
Summe	165.600,00	46.200,00	9.800,00	211.400,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Einrichtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfskräfte)	Bechmann, Ingo, Prof. Dr. med.	Neuroanatomie Neuroimmunologie	Charité Goethe-Universität Frankfurt/Main	01.01.2005 bis 31.12.2007	/
nichtwissenschaftl. Personal	Mahlo, Jacqueline	/	Charité Goethe-Universität Frankfurt/Main	01.01.2005 bis 31.12.2007	/
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfskräfte)	Ellinghaus, Agnes Prodinger, Carolin Kwidzinski, Erik Lehnardt, Seija	Neuroanatomie Neuroimmunologie	Charité	01/2006- 03/2007 12/2005- 03/2007 04/2007- 12/2007 01/2005- 11/2005 01/2005- 11/2005	Ia/2 Ia/2 Ia Ia/2 Ia/2
nichtwissenschaftl. Personal		/			

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 B18

4.1.1 Titel:

Das Proteasom in Mikroglia und Astrozyten und seine Rolle bei Infektions- und Entzündungsprozessen im ZNS

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Biochemie/Immunologie

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Prof. Dr. Peter.-M. Kloetzel; 16.6.1948

Prof. Dr. Burkhardt Dahlmann, 27.12.1948

Charité Universitätsmedizin Berlin

Campus Charité Mitte

Institut für Biochemie

Monbijoustr. 2

10117 Berlin

Telefon: 030-450528071

Telefax: 030-450528

E-Mail: p-m.kloetzel@charite.de, Burkhardt.Dahlmann@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Einleitung

Astrozyten

Astrozyten sind eine Untergruppe der Gliazellen, zu denen auch die Oligodendrozyten und Mikroglia gezählt werden. Astrozyten kommen ausschließlich im Zentralnervensystem vor und leiten sich während der Embryonalentwicklung vom Neuralrohr bzw. dem Neuroektoderm ab. In den Mammalia übersteigt ihre Anzahl die von Neuronen in der Regel um einiges, wobei das Astrozyten-Neuronen-Verhältnis zwischen den Spezies und in den verschiedenen Hirnbereichen variieren kann.

Astrozyten erfüllen in erster Linie klassische *housekeeping* Funktionen, wie den Nährstofftransport zu den Neuronen und den Abtransport von neuronalen Stoffwechselprodukten¹. Sie haben die Aufgabe der Nährstoffspeicherung (Glykogen) und -konversion (Glukose => Lactat) für die Neurone, sowie die Aufrechterhaltung eines optimalen Ionen- und pH Milieus. Zudem sind sie mit an der Bildung der Blut-Hirn-Schranke beteiligt und induzieren die Synapsenbildung der Neurone². Astrozyten sind auch in der Lage, synaptische Signale zu modulieren^{3,4} bzw. zu ermöglichen, indem sie Neurotransmittern aus dem synaptischen Spalt (z.B. Glutamat, Dopamin) aufnehmen und abbauen. Durch die Ausführung dieser lebenswichtigen Aufgaben und ihren engen Kontakt zu den Neuronen sind Fehlfunktionen von Astrozyten geradezu prädestiniert, neuronale Erkrankungen auszulösen⁵.

Neben den oben genannten Aufgaben scheinen die Astrozyten auch eine Funktion beim Schutz vor Infektionen zu haben⁵⁻¹⁰. Diese äußert sich z.B. durch die Fähigkeit der Antigenpräsentation¹¹⁻¹⁴, Abgabe neurotropher Faktoren und Inaktivierung von Mikrogliazellen. Zudem wird vermutet, dass die Astrozyten, da sie ein Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke (BHS) sind, eine wesentliche Rolle bei der Kontrolle des Eintretens von Blutzellen über die BHS spielen. Astrozyten stellen auch eine Hauptquelle für Chemokine im Gehirn dar, u.a.¹⁵⁻¹⁷ produzieren sie Chemokine, die vor allem unreife dendritische Zellen (immature monocyte-derived dendritic cells (iMDDCs)) ins Gehirn rekrutieren. Darüberhinaus sind sie auch in der Lage proinflammatorischen Cytokine wie Interleukin-1, -6 -12 und 23, sowie *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) zu sezernieren⁵⁻¹¹.

Dennoch ist die Rolle der Astrozyten in der Antigenpräsentation umstritten⁶. Einige Untersuchungen legen nahe, dass sie einer vorherigen Stimulation bedürfen, bevor es zu einer MHC Expression kommt. Auch die Expression von co-stimulierenden Molekülen ist sehr umstritten; denn sie exprimieren scheinbar kaum co-stimulatorische Moleküle (Übersicht siehe Dong und Beveniste, 2001⁶). Es konnte aber

B18 Kloetzel/Dahlmann

gezeigt werden, dass sie vollkompetente antigenpräsentierende Zellen (APC's) sind, wenn sie in einem gleichzahligen Verhältnis mit T-Zellen vorliegen,¹⁸. Dabei scheinen sie sowohl Th1 als auch Th2 Antworten auslösen zu können¹⁹.

Darüberhinaus belegen neuere Untersuchungen^{9,11}, dass Astrozyten bereits im Ruhezustand verschiedene *Toll-Like-Rezeptoren* (TLR) exprimieren, was sie zur Erkennung von viralen und bakteriellen Erregern befähigt.

Das Ubiquitin-Proteasom-System

Das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) stellt den wichtigsten regulierten proteolytischen Degradationsmechanismus in eukaryontischen Zellen dar und ist deshalb an vielen essentiellen Vorgängen wie Zellteilung und -differenzierung, Apoptose, Transkriptionsregulation und der Stressantwort in der Zelle beteiligt²⁰⁻²².

Den katalytisch zentralen Teil des UPS bildet das 26S-Proteasom. Es besteht aus dem proteolytisch aktiven 20S-Kernkomplex und zwei peripheren 19S regulatorischen Partikeln, die für die Substraterkennung und -Bindung verantwortlich sind. Das 20S-Proteasom setzt sich aus vier heptameren Ringen zusammen, welche ihm eine zylindrische Form verleihen. Die äußeren Ringe bestehen aus sieben verschiedenen α -Untereinheiten und die inneren aus sieben verschiedenen β -Untereinheiten, von denen drei die proteolytischen Aktivitäten tragen. Die drei distinkten aktiven Zentren liegen auf der Innenseite des Komplexes in den β -Untereinheiten $\beta 1$ (LMP2), $\beta 2$ (MECL-1) und $\beta 5$ (LMP7). Jede der drei β -Untereinheiten hat eine unterschiedliche Präferenz für die Hydrolyse hinter sauren, basischen und hydrophoben Aminosäureresten (Übersicht siehe²³).

Substrate für das UPS stellen nicht mehr benötigte oder neu synthetisierte, aber fehlerhaft gefaltete cytosolische, nukleäre und membranständige Proteine dar, die i.d.R. mit Ubiquitin markiert werden. Einige der generierten Peptide dienen als Liganden für den „Major Histocompatibility Complex Class I“ (MHC I) und werden an der Zelloberfläche den cytotoxischen T-Zellen präsentiert, wodurch es zu einer Identifizierung und Zerstörung karzinogener bzw. infizierter Zellen kommt. Aufgrund dieses Umstandes kommt dem Proteasom auch eine immunologische Bedeutung zu^{21,22,24,25}.

In Mammalia-Zellen können unter Zytokineinfluss (z.B. $\text{INF}\gamma$) anstelle der proteolytisch aktiven konstitutiven Untereinheiten $\beta 1$ (delta), $\beta 2$ (Z) und $\beta 5$ (MB1) die induzierbaren Untereinheiten $\beta 1i$ (LMP2), $\beta 2i$ (MECL-1) und $\beta 5i$ (LMP7) eingebaut werden. Das so neu gebildete Immunproteasom besitzt eine veränderte Spaltpräferenz und scheint den Erfordernissen einer effizienteren Immunantwort besser angepasst zu sein als das Standardproteasom.

Das Proteasom im ZNS

Nach bisherigen Untersuchungen handelt es sich bei dem im Großhirn vorkommendem 20S Proteasom eher um den konstitutiven Standardtyp mit den katalytisch aktiven $\beta 1$ (delta), $\beta 2$ (Z) und $\beta 5$ (MB1) Untereinheiten²⁶⁻²⁸. Akaishi et al.²⁷ isolierten Proteasom aus Rattenhirn und fanden fast das gleiche Untereinheiten-Pattern und gleiche Aktivitäten wie bei Proteasomen aus Skelettmuskel. Piccinini et al.²⁹ fanden im Proteasom aus Human-Hirn- allerdings auch Immununtereinheiten, jedoch überwog auch hier der Standardtyp. Mishto et al detektierten die Untereinheit $\beta 1i$ (LMP2) lediglich in Hippocampus-Extrakten älterer Personen³⁰.

Da es sich bei Hirnextrakten vornehmlich um eine Mischung aus Neuronen, Astrozyten, Oligodendrozyten, Mikroglia und Endothelzellen handelt und die Astrozyten einen Großteil des Hirnvolumens ausmachen, liegt die Vermutung nahe, dass auch sie überwiegend Standard-Proteasom besitzen.

Multiple Sklerose und ihr Erkrankungsmodell EAE

Multiple Sklerose

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine der häufigsten entzündlichen Erkrankung des Zentralnervensystems (ZNS). Sie hat einen schubförmigen oder chronisch progredienten Verlauf, bei dem es zu Demyelinisierung von verschiedenen Bereichen im ZNS kommt. Je nach befallener Region des ZNS kommt es zu den unterschiedlichsten klinischen Symptomen und diese führen im Laufe der Erkrankung regelmäßig zu bleibenden Behinderungen.

Die primäre Ursache für die Entstehung der Multiplen Sklerose ist noch nicht bekannt, allerdings gibt es deutliche Hinweise auf einen Autoimmunerkrankungsvorgang, der sich gegen das Myelin des ZNS bzw. Oligodendrozyten richtet. Dabei spielen sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunantwort eine Rolle³¹.

Neuere Arbeiten legen den Schluss nahe, dass es sich bei MS um eine heterogene Erkrankung handelt, mit unterschiedlichen Ursachen für eine Demyelinisierung³². Bei einer Untersuchung von 235 aktiv demyelinisierenden Läsionen konnten vier Pattern aufgrund von unterschiedlichen Ursachen für die Demyelinisierung unterschieden werden. Die Pattern I und II können im Tiermodell reproduziert werden. Während bei ihnen die Myelinschichten das Hauptziel der Zerstörung sind, scheinen bei den Pattern III und IV die Oligodendrozyten selbst zerstört zu werden. Die Pattern III und IV konnten bisher im Tiermodell noch nicht eindeutig reproduziert werden³².

Über Zwillings- bzw. Familienstudien konnte belegt werden, dass genetische Faktoren bei der Entstehung der MS ebenfalls eine Rolle spielen. Umfangreiche genomweite Kopplungsanalysen und Assoziationsstudien zeigten das Vererbungsmuster einer polygenetischen Erkrankung³¹.

Viele Viren und Bakterien werden mit der Entstehung von MS in Zusammenhang gebracht, allerdings können diese Assoziationen in den unterschiedlichen Arbeitsgruppen nicht immer reproduziert werden³³.

Das murine Erkrankungsmodell der MS: Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis (EAE)

Die experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis gilt als eine der am häufigsten eingesetzte Modellkrankheit der MS^{34,35}. Eine Möglichkeit EAE zu induzieren ist, den Versuchstieren ein Myelinantigen, z.B. Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG), mit Freund'schem Adjuvans versetzt, subkutan zu injizieren. Durch das Freund'sche Adjuvans wird eine Entzündungsreaktion unspezifisch verstärkt. Nach etwa 12-14 Tagen kommt es zu einer akuten neurologischen Erkrankung der Versuchstiere. Zurückzuführen ist diese Erkrankung auf eine T-Zell vermittelte Immunreaktion, die sich gegen das Myelin des ZNS richtet. Je nach Mausstamm, verabreichtem Agens und Applikationsweg kann man verschiedene Formen der EAE auslösen. Zwar ähnelt keines der Modelle in allen Punkten der MS, dennoch konnten in den letzten Jahren wertvolle Rückschlüsse auf die menschliche Krankheit gezogen werden³⁶⁻³⁹. Da Frauen deutlich häufiger eine MS entwickeln als Männer, werden in der Regel für EAE Experimente nur weibliche Mäuse verwandt.

Während sich anfänglich das Hauptaugenmerk bei MS und ihrem Erkrankungsmodell der EAE auf die Rolle von CD4+ T-Zellen richtete, so haben Befunde aus verschiedenen Arbeitsgruppen, in denen durch CD8+ T-Zellen EAE induziert werden konnte, diese Zellgruppe ins Blickfeld rücken lassen⁴⁰⁻⁴².

Mendel et al.⁴³ und Ben-Nun et al.⁴⁴ gehörten zu den ersten Gruppen, die zeigen konnten, dass MOG35-55 in BL6 Mäusen EAE auslöst. Sun et al.⁴⁵ und Huseby et al.⁴⁶ wiesen darüber als erste nach, dass diese EAE auch durch CD8+ T Zellen hervorgerufen wird.

Inzwischen ist mehrfach versucht worden, das enzephalogene Epitope in MOG35-55 zu identifizieren. Mendel et al. lokalisierte ein MHC II Epitope mit der Kernsequenz MOG40-48⁴⁷, was von Sweeney et al. 2007 bestätigt wurde⁴⁸. Sun et al.⁴⁹ definierten MOG40-54 als den Bereich, der CD8+ Zellen stimuliert und EAE auslöst. Ford und Evavold⁵⁰ postulierten MOG37-46 als das minimale CD8+ T-Zell-Epitop, welches von MOG spezifischen T-Zellen erkannt wird.

Die Rolle von CD8+ Zellen in der EAE wird dennoch sehr kontrovers diskutiert. Montero et al.⁵¹ zeigten in C57BL/6 Mäusen, dass durch MOG35-55 induzierte EAE durch Injektion von CD4-Antikörpern, der Ausbruch von EAE verhindert werden konnte, nicht jedoch bei Verabreichung von CD8-Antikörpern. Abdul-Majid et al.⁵² wiesen dagegen nach, dass EAE sowohl in CD4-/- als auch CD8-/- DBA1 Mäusen induziert werden kann. Allerdings war der Phänotyp im Vergleich zum Wildtyp milderer. Eliminierung von CD4+-Zellen in CD8-/- Mäusen führte auch in diesem Modell zu einem Schutz vor

B18 Kloetzel/Dahlmann

EAE, wohingegen ein Entzug von CD8+ Zellen in CD4^{-/-} Mäusen zu einem selteneren Ausbruch von EAE führte. Auch in den WT Mäusen führte eine CD4+ Bindung zu einem Ausbleiben von EAE, jedoch nicht bei Eliminierung von CD8+ Zellen. Abdul-Majid und Kollegen interpretieren ihr Ergebnis dahingehend, dass in Abwesenheit von CD4+ Zellen eine EAE auch CD8+ vermittelt ausgelöst werden kann.

In humanen MS Läsionen dominieren CD8+ Zellen und man kann eine gesteigerte MHC I Expression auf Astrozyten, Oligodendrozyten und Neuronen je nach schwere und Aktivität der Läsionen beobachten. Somit sind alle Zellen des ZNS potentielle Ziele für auf MHC I gerichtete cytotoxische T-Zellen⁵³.

Auch die Rolle von Astrozyten in MS wird in der Literatur sehr kontrovers diskutiert. Es gibt sowohl Berichte vom Vorhandensein von Astrozyten in aktiven MS Plaques, die MHC II exprimieren⁵⁴, sowie Berichte von Gruppen, die das nicht finden konnten. Astrozyten scheinen demnach eher eine anti-inflammatorische Funktion zu besitzen⁵⁵.

Ambrosini et al.¹⁶ demonstrierten, dass stimulierte humane Astrozyten in der Lage sind, Chemokine abzugeben, die zur Einwanderung von unreifen DC ins ZNS führen.

Zielsetzung

1. Da nach bislang publizierten Daten Proteasomen des ZNS eher dem Standard-Typ zuzuordnen sind, sollte untersucht werden, ob Astrozyten, die immerhin einen wesentlichen Teil des Hirnvolumens einnehmen, die Fähigkeit haben, ihr Proteasom-System z.B. durch Einwirkung von immunmodulatorischen Cytokinen, einer veränderten immunologischen Situation anzupassen. Diese Untersuchungen sollten am Proteasom-System primärer Astrozyten aus Mäusen sowie einer murinen Astrozyten-Zelllinie (TSA-3) unter normalen Wachstumsbedingungen und unter dem Einfluss verschiedener Stimuli (INF gamma, LPS) durchgeführt werden.

2. Da die motorische Ausfallerscheinungen im Rahmen einer MS durch autoimmun-bedingte Läsionen im ZNS hervorgerufen werden, soll untersucht werden, ob sich das Proteasom-System im Hirngewebe von Mäusen, in denen experimentell eine autoimmun-enzephalomyelitis (EAE) ausgelöst wurde, im Sinne einer Cytokin-induzierten Veränderung der pathologischen Situation anpasst.

Ergebnisse

20S Proteasom in primären Astrozyten-Kulturen

Als erstes wurde ein Protokoll entwickelt und etabliert, das eine Isolation und weitestgehende Reinkultivierung von Astrozyten aus dem Großhirn neugeborener C57BL/6 Mäuse erlaubt. Dazu werden die entnommenen Großhirne von ihren Hirnhäuten befreit, durch das Pipettieren mit immer enger werdenden Pasteurpipetten die Zellen vereinzelt und in Poly-Lysin beschichtete Flaschen ausgesät. Die Zellen wurden unter guten Wachstumsbedingungen kultiviert. Nach zwei bis drei Tagen wurde die FCS-Menge erhöht und glukosefreies Medium verwendet, um Mikroglia, Oligodendrozyten und Fibroblasten zu eliminieren. Nach etwa 7 Tagen befinden sich dann fast ausschließlich Astrozyten in einem Monolayer in den Flaschen.

Auf diese Weise konnten aus ca. 40-50 Großhirnen neugeborener Mäuse $1,0-1,2 \times 10^8$ Zellen isoliert werden. Für eine Präparation von Proteasomen wurden mindestens 1×10^8 Zellen verwendet. Die Präparationsmethodik beinhaltete einen Glycerol-Gradienten und die Anionenaustauscher-Chromatographie.

Die Ausbeute an angereichertem 20S Proteasom betrug 10-20µg. Die geringe Zellzahl macht es kaum möglich, das Proteasom vollständig zu reinigen, so dass Vergleiche nur bedingt möglich waren. Die Untereinheiten-Zusammensetzung der gereinigten Proteasomen wurde mittels Immun-Westernblot analysiert. Die so gewonnenen primären Astrozyten zeigen eine starke Expression von Immununtereinheiten, so dass ein Unterschied zwischen stimulierten und unstimulierten Zellen nicht detektierbar ist.

Dieser Befund steht den bislang in der Literatur publizierten Daten, dass Proteasomen aus dem ZNS praktisch ausschließlich Standard-Proteasomen sind, diametral entgegen. Um die publizierten Daten zu überprüfen, wurden 20S Proteasomen aus dem Großhirn verschieden alter Mäuse isoliert und auf ihre Untereinheiten-Zusammensetzung hin analysiert.

Das 20S Proteasom im Großhirn von Mäusen verschiedener Altersstufen

Die Isolierung des 20S Proteasoms erfolgte mittels Anionenaustausch-Chromatographie (DEAE-Toyoppearl und MonoQ), Gelfiltration (Superose 6B) und hydrophober Interaktionschromatographie

(Phenylsuperose). Auf diesem Wege gelang es reine 20S Proteasomen in ausreichender Menge zu erhalten, deren spezifische Aktivitäten mit Hilfe fluorogener Peptidsubstrate (SLLVY-AMC, BzVGR-AMC und ZLLE-AMC) bestimmt wurden. Die Aktivitäten ändern sich mit zunehmendem Alter nicht (Abb. 1).

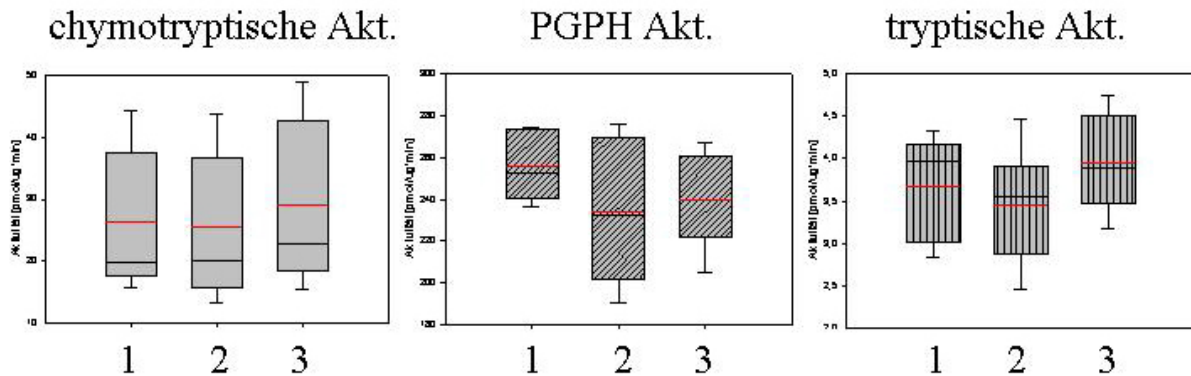


Abb. 1: Aktivitäten der 20S Proteasomen aus dem Großhirn von neugeborenen (1), 3 (2) und 8 Monate (3) alten Mäusen. Markiert ist als schwarze Linie der Median, als rote Linie der Mittelwert. 5te und 95ste Perzentile als Balken, 25ste und 75ste Perzentile als Boxbegrenzung

Weil die PGPH-Aktivität die dominierende der drei ist, liegt die Vermutung nahe, dass es sich beim Hirn-Proteasom hauptsächlich um ein Standard-Proteasom handelt⁵⁶. Diese Vermutung wurde mittels Western-Blot und 2D-PAGE überprüft. Weder im Immun-Western-Blot noch in der 2D-PAGE waren Immununtereinheiten nachweisbar (Abb. 2).

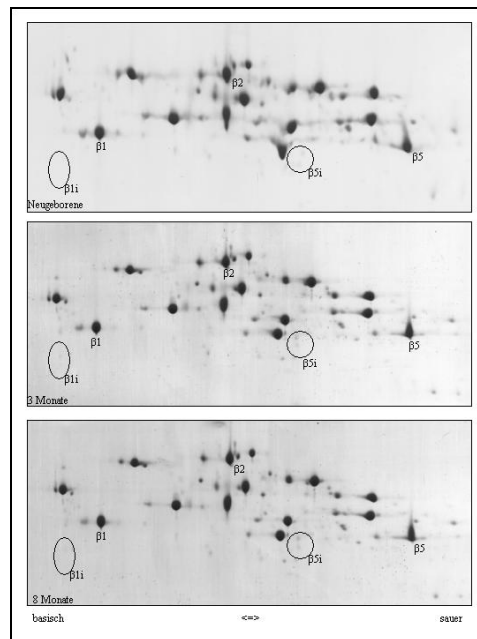


Abb. 2: 2D Gele 20S Maus-Großhirn verschiedener Alterstufen mit Coomassie-Färbung; die konstitutiven Untereinheiten $\beta 1$ (delta), $\beta 2$ (Z) und $\beta 5$ (MB1) sind gekennzeichnet; schwarz umrandet sind die Regionen, in denen die Immununtereinheiten zu finden wären.

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse den Schluss zu, dass die Proteasomen im Großhirn von Mäusen der hier untersuchten Alterstufen ausschließlich Standard-Proteasom sind. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit bislang publizierten Daten von Akaishi et al²⁷, stehen aber im Gegensatz zu den Befunden, die wir mit primären Astrocyten erhoben haben.

Proteasomen aus der Astrozyten-Zelllinie TSA-3

Aus Erfahrungen mit nicht-neuronalen Zelllinien, z.B. HeLa-Zellen, wissen wir, dass in Kultur gezogene Mammaliazellen auf jede Art von Stress unter anderem mit der Synthese von Immun-Proteasomen reagieren. Da die Isolationsprozedur und anschließende Inkulturnahme von primären Astrocyten aus neugeborenen Mäusen möglicherweise ein solcher Stress sind, der mit der Synthese von Immun-Proteasomen beantwortet wird, haben wir Maus-Astrocyten der Zelllinie TSA-3 versucht völlig stressfrei (kein Schütteln, nur vorgewärmtes Medium) zu ziehen. Isolation und Analyse der Proteasomen aus dieser so kultivierten Zelllinie enthielten fast keine Immun-Untereinheiten. Sobald diese Zellen jedoch ohne diese Vorsichtsmaßnahmen gezogen wurden oder in Anwesenheit von LPS bzw. $\text{IFN}\gamma$ kultiviert wurden, generierten sie Immuno-Proteasomen in ähnlichem Ausmaß wie bei den primären Astrozyten aus Neugeborenen beobachtet worden war. Das heißt, Astrozyten können auf Stress allgemein oder auf die Präsenz von bakteriellen Liganden für Toll-like Rezeptoren (LPS) bzw. durch die Anwesenheit von immun-stimulierenden Cytokinen ($\text{IFB}\gamma$) mit der Synthese von Immun-Proteasomen antworten.

Aus dem Grund ist nicht auszuschließen, dass bei mit inflammatorischen Prozessen einhergehenden Krankheiten des ZNS Astrozyten ebenfalls mit der Bildung von Immun-Proteasomen reagieren.

20S Proteasom im Großhirn von gesunden und EAE erkrankten Mäusen

Zur Untersuchung der Veränderung des Proteasoms bei Entzündungsprozessen im ZNS wurden weibliche C57Bl/6 Mäuse aktiv mit MOG35-55 (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) immunisiert. Bei der daraus resultierenden EAE wurden zwei Krankheitsstadien unterschieden: ein früher Zeitpunkt der Erkrankung noch ohne sichtbare Symptome (in den Abbildungen später mit dem Zusatz „ohne Symptome“ bezeichnet) und ein später Zeitpunkt, bei dem bereits neurologische Störungen (z.B. Schwanzlähmung, partieller Lähmung der Hinterbeine) auftraten (in den Abbildungen später mit dem Zusatz „später Zeitpunkt“ für OVA bzw. „mit Symptomen“ für MOG bezeichnet).

Die bisher erhobenen Daten zeigen, dass die 20S Proteasomen (EAE-Proteasomen), isoliert zum frühen Zeitpunkt aus dem Großhirn prospektiv erkrankter Tiere, im Vergleich zu denen der Kontrollgruppen eine statistisch signifikant erhöhte trypsin-ähnliche Aktivität aufweisen (siehe Abb. 3). Die anderen beiden Aktivitäten blieben weitestgehend unverändert.

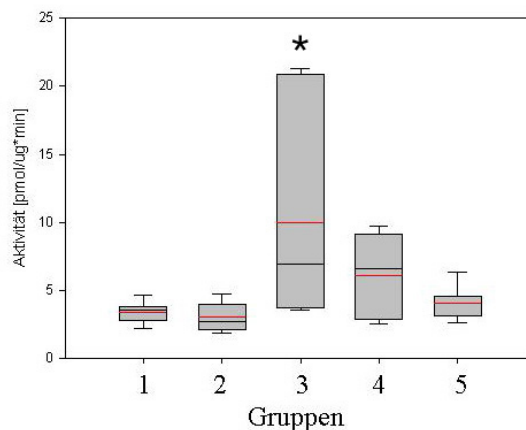


Abb. 3: Trypsin-ähnliche Aktivität [pmol/mg x min] der 20S Proteasomen aus EAE-Mäusen

Die trypsin-ähnliche Aktivität ist in den MOG Tieren ohne Symptome (3) statistisch signifikant erhöht im Vergleich zu der korrespondierenden OVA Gruppe (2) oder den unbehandelten Tieren (1); ($n = 3$, $P < 0,001$ mit Rank-Sum-Test,); dargestellt ist der Median (schwarze Linie), der Mittelwert (rote Linie), 5te und 95ste Perzentile als Balken, 25ste und 75ste Perzentile als Boxbegrenzung; 1 = unbehandelte Tiere; 2 = OVA ohne Symptome; 3 = MOG ohne Symptome, 4 = OVA später Zeitpunkt; 5 = MOG mit Symptomen

Da eine Erhöhung der tryptischen Aktivität auf einer Bildung von Immun-Proteasomen beruhen könnte, wurde die Untereinheiten-Zusammensetzung dieser Proteasomen aus EAE-Mäusen mittels Western-Blot und 2D-PAGE überprüft, bislang jedoch noch keine Veränderungen zwischen den zwei untersuchten Zuständen (ohne und mit Symptomen) detektiert. Die Untersuchung der Proteasom-Zusammensetzung ergab, dass die konstitutiven Untereinheiten $\beta 1$ (delta), $\beta 2$ (Z) und $\beta 5$ (MB1) vorhanden waren, die Immununtereinheiten $\beta 1i$ (LMP7) und $\beta 2i$ (LMP2) wurden jedoch nicht detektiert (siehe Abb. 4).

Allerdings weisen die Proteasomen mit erhöhter trypsin-ähnlicher Aktivität ein im Vergleich zu den anderen Proteasomen unterschiedliches Elutionsverhalten bei der Anionenaustauscherchromatographie auf, was auf posttranslationale Modifikationen hinweist, die jedoch noch nicht näher bestimmt werden konnten (siehe Abb. 5).

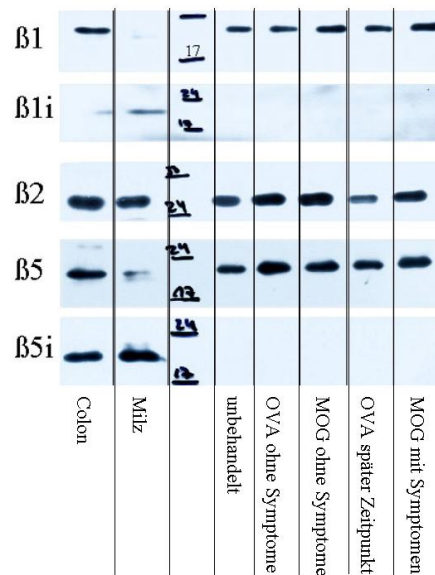


Abb. 4: Western-Blots EAE Versuch: Zusammensetzung der 20S Proteasomen aus dem Großhirn der Mäuse; verwendete Antikörper: $\beta 1/\delta$ (K43/7), $\beta 1i/LMP2$ (K864), $\beta 2/Z$ (mcp168), $\beta 5/MB1$ (SJJ3), $\beta 5i/LMP7$ (K63).

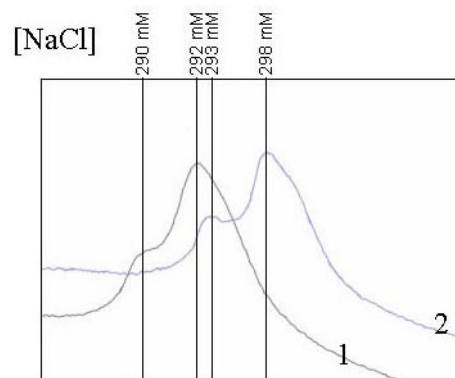


Abb. 5: Elutionspunkte der 20S Proteasomen aus den MOG-Tieren; 1 = MOG ohne Symptome mit erhöhter trypsin-ähnlicher Aktivität, 2 = MOG ohne Symptome

Zusätzlich wurde der Einfluss der partiellen Aktivitätsveränderung der Proteasomen aus EAE-Mäusen hinsichtlich einer veränderten Epitopgenerierung in *in-vitro* Verdaus mit einem MOG-Peptid (MOG29-62) untersucht. Die Aktivitätsveränderung in den MOG Tieren ohne Symptome resultierte in einem drastisch verlangsamten Abbau des Peptidsubstrates und einem veränderten Fragmentierungs-Pattern des MOG-Peptids. Potentielle MOG-Epitope (MOG40-48 und MOG42-50) wurden jedoch mit gleicher oder höherer Intensität in den Verdaus gefunden. Dies lässt auf eine erhöhte Effektivität und eine qualitativ andere Epitop-Generierung der Proteasomen mit erhöhter trypsin-ähnlicher Aktivität schließen.

B18 Kloetzel/Dahlmann

Zur Zeit untersuchen wir, ob die von den Proteasomen aus EAE-Mäusen generierten Epitopen veränderte MHC-I-Bindung oder -Stabilisierung besitzen.

Weiterhin haben wir Versuche mit RNA-Arrays (Affimetrix Mouse whole genome 430 2.0 plus) durchgeführt, in denen nach weiteren molekularen Veränderungen des Ubiquitin-Proteasom-Systems der erkrankten Mäuse versus Kontrollgruppe gesucht wurde. Auf RNA-Level sah man eine Induktion der Immunoproteasom-Untereinheiten $\beta 1i$ (LMP2) und $\beta 5i$ (LMP7) in den bereits erkrankten MOG Tieren. Die RNA von $\beta 2i$ (MECL-1) war in allen Tieren detektierbar und änderte ihre Expressionsstärke im Laufe der Erkrankung nicht.

Ein gleiches Bild zeichnete sich auch in der Real-time PCR ab, wobei die Induktion der Immunoproteasom-Untereinheiten $\beta 1i$ (LMP2) und $\beta 5i$ (LMP7) nicht so deutlich ausfiel. $\beta 2i$ (MECL-1) blieb unverändert.

Um proteasomale Veränderungen auf Einzelzellniveau zu erkennen, wurden mittels Immunfluoreszenz Gewebeschnitte aus dem Gehirn erkrankter Mäuse untersucht. Nach vorläufigen Ergebnissen sind die Immununtereinheiten $\beta 1i$ (LMP2) und $\beta 5i$ (LMP7) praktisch kaum im Gehirn von unbehandelten und OVA behandelten Tieren zu finden; vereinzelte Signale sind ausschließlich mit dem Mikroglia/Makrophagenmarker Iba-1 kolokalisiert. In EAE erkrankten Mäusen hingegen können beide Immununtereinheiten detektiert werden, wobei sie dann in kleinen, lokal beschränkten Populationen vermehrt auftreten und hauptsächlich mit Iba-1 sowie mit GFAP kolokalisieren, also durchaus von Astrozyten exprimiert werden. Diese Ansammlungen befinden sich in der Nähe von Ventrikel oder Blutgefäßen, in der Region des Hypothalamus, im Kleinhirn, aber auch im Parenchym des Großhirns.

Da im Vergleich zur Gesamtzellzahl des Gehirns relativ wenig Zellen Immunoproteasom-Untereinheiten exprimieren, ist es nicht verwunderlich, dass diese auf der Ebene der isolierten Proteasomen in der Masse der Standard-Proteasom-Untereinheiten nicht nachgewiesen werden können.

Auch in Western-Blots von 20S-Immunpräzipitationen aus den Rohextrakten des Großhirns, sowie in den Rohextrakten selbst, konnten keine Immununtereinheiten nachgewiesen werden.

Diskussion

20S Proteasom im Großhirn von Mäusen verschiedener Altersstufen und in kultivierten Astrozyten

Das aus dem Großhirn von Mäusen isolierte Proteasom enthält ausschließlich die konstitutiven Untereinheiten $\beta 1$ (delta), $\beta 5$ (MB1) und $\beta 2$ (Z). Die Immununtereinheiten sind nicht detektierbar. Diese Zusammensetzung deckt sich mit früheren Funden von Akaishi et al.²⁷ Die von Picinini et al.²⁹ im 20S Proteasom aus humanen Hirnproben gefundenen Immununtereinheiten ($\beta 1i$, $\beta 2i$ und $\beta 5i$) konnten bei den Mäusen nicht detektiert werden.

Es lassen sich auch keine Veränderungen bezüglich der Aktivitäten bzw. der Untereinheiten-Zusammensetzung mit zunehmendem Alter feststellen, wie von Piccini et al.²⁹ und Mishto et al.³⁰ beschrieben. Allerdings wurden in den vorliegenden Versuchen die Proteasomen auch vollständig gereinigt, wobei in der zitierten Literatur die Analysen der Proteasomen in der Regel in Gewebe-Lysaten durchgeführt werden.

Somit war zu erwarten, daß ruhende Astrozyten Standard-Proteasom besitzen. Auf der anderen Seite zeigen unsere Untersuchungen mit primären Astrozyten sowie mit der Astrozyten-Zelllinie TSA-3, dass dieser Zelltyp sehr wohl Immun-Proteasom-Untereinheiten generieren kann, sobald die Zellen gestresst werden, bakterielle Antigene (LPS) oder immunmodulatorische Cytokine ($IFN\gamma$) erkennen.

Um so interessanter waren es zu erfahren, ob solch eine Antwort auch durch die Auslösung einer experimentellen Autoimmun-Encephalopathie zu induzieren ist.

Proteasom im Großhirn von gesunden und EAE erkrankten Mäusen

Da Astrozyten sich nur aus neonatalen Großhirnen isolieren lassen, nicht jedoch aus Hirnen adulter Tiere, andererseits eine EAE sich nur in adulten Tieren induzieren lässt, musste die Charakterisierung der 20S Proteasomen aus Großhirnen von adulten Mäusen während des Verlaufs einer experimentell induzierten EAE durchgeführt werden. Diese Untersuchungen wurden in Kooperation mit Dr. Orhan Aktas und Ulf Schulze Toppfaff aus dem Projekt B14 (Zipp) durchgeführt.

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die im gesunden Großhirn geringfügige Zahl von Zellen, in denen die Immununtereinheiten $\beta 1i$ und $\beta 5i$ immunhistochemisch nachweisbar sind, nach Induktion der EAE kaum zunimmt. Dementsprechend konnte auch bei den erkrankten Tieren kein klassisches Immun-Proteasom mit

den Untereinheiten $\beta 1i$ (LMP2), $\beta 2i$ (MECL-1) und $\beta 5i$ (LMP7) gefunden werden. Dennoch scheint eine geringfügige Veränderung der Proteasomen stattzufinden; denn die trypsin-ähnliche Aktivität in den EAE-Proteasomen aus den MOG-Tieren ohne Symptome ist im Vergleich zu Kontrollen erhöht.

Eine zufriedenstellende Erklärung für diese erhöhte tryptische Aktivität kann zur Zeit noch nicht gegeben werden. Es konnten keine Veränderungen in der Zusammensetzung der Untereinheiten des 20S Proteasoms nachgewiesen werden (weder mittels 2D-PAGE, noch in Immun-Western-Blots von ein- und zweidimensionalen Gelen). Ein unterschiedliches Elutionsverhalten auf dem Anionenaustauscher deutet jedoch auf eine posttranslationale Modifikation hin. Diese Modifikation beeinflusst aber weder die isoelektrischen Punkte der Untereinheiten noch deren Molekulargewichte, da sie sonst in den 2D-PAGE sichtbar geworden wäre. Eine Modifikation, die diese Kriterien erfüllt könnte die Addition von β -O-gebundenem N-Acetylglucosamin (O-GlcNAc) an Serin- oder Threoninreste im Protein sein. Das hierfür benötigte Enzym, die O-GlcNAc Transferase ist im Hirn stark exprimiert⁵⁷. Es wird auch ein Zusammenhang zwischen O-GlcNAc Glykosylierung und einigen neuronalen Erkrankungen, wie Alzheimer^{57,58} und ALS (amyotrophic lateral sclerosis) diskutiert⁵⁷. Sumegi et al. konnten in 2D-PAGE Western-Blots mit O-GlcNAc-spezifischen Antikörpern und dem Lektin *wheat germ agglutinin* (WGA) zeigen, daß neun der vierzehn 20S-Untereinheiten mit O-GlcNAc modifiziert sind⁵⁹. Wells et al. war es nach Affinitätschromatographie mit einem spezifischen O-GlcNAc-Antikörper als Liganden möglich, die 20S Proteasom-Untereinheit $\alpha 6$ zu isolieren⁶⁰. Hinweise auf einen funktionellen Zusammenhang zwischen Glykosylierung und Proteasomaktivität wurden 2003 von Zhang et al. für die ATPase-Aktivität der 19S-Regulator-Untereinheit Rpt2 publiziert. Durch eine erhöhte Glykosylierung wurde der Abbau hydrophober Substrate, wie Sp1 gehemmt. Sp1 ist ein Transkriptionsfaktor, der eine wichtige Rolle im Zuckerhaushalt der Zelle spielt. Somit könnten die O-GlcNAc-Modifizierungen dazu dienen, die proteasomale Aktivität an den metabolischen Status der Zelle anpassen⁶¹. Innerhalb der Dissertation von Britta Strehl in der Arbeitsgruppe von Prof. Kloetzel (Charité, Institut für Biochemie) konnten Veränderungen im O-GlcNAc-Muster von Proteasomen aus Leber nach *L. monocytogenes* Infektion detektiert werden. Die $\beta 1$ (delta) Untereinheit war weniger und die $\alpha 3$ Untereinheit deutlich stärker glykosyliert. Dies resultierte auch in einer verstärkten Epitop-Precursor Bildung⁶². Nicola Klare konnte im Rahmen ihrer Doktorarbeit in der AG von Prof. Kloetzel durch eine Behandlung von 20S Proteasomen aus HeLaS3-Zellen mit Neuraminidase (aus *Arthrobacter ureafaciens*) zeigen, dass sich ihre Subtypen-Muster verändern. Durch die Abspaltung eines oder mehrerer Neuraminsäurereste kam es vermutlich zum Verlust einer negativen Ladung bzw. zu Konformationsänderungen aus denen Ladungsverschiebungen resultierten, was zu einem veränderten Elutionsprofil der Subtypen führte⁶³.

Aufgrund der oben genannten Befunde sollte in weiterführenden Experimenten das Glycosylierungsmuster der Proteasomen aus EAE-Mäusen untersucht werden, weil die proteasomale Funktion nicht ausschließlich durch das Vorhandensein der Immuno-Untereinheiten bestimmt wird, sondern eine Regulation der Aktivität auch durch posttranslationale Modifikationen denkbar ist.

Die veränderte trypsin-ähnliche Aktivität könnte dazu führen, dass mehr MOG-Epitope gebildet werden, was die Krankheit verstärken bzw. aufrechterhalten würde. Um diese Frage zu klären, wurden *in vitro* Verdau-Experimente mit isolierten Proteasomen und einem verlängerten MOG-Peptid durchgeführt und nach potentiellen bzw. in der Literatur beschriebenen Epitopen (MOG 37-46⁶⁴, MOG 40-54⁶³ und MOG 40-48⁶¹) gesucht.

Die potentiellen MOG-Epitope MOG40-48 und MOG42-50 wurden mit gleicher oder höherer Intensität von den Proteasomen mit erhöhter trypsin-ähnlicher Aktivität gebildet, bei deutlich geringerem Substratumsatz.

Die partielle Aktivitätsveränderung der EAE-Proteasomen hat demnach nicht nur eine erhöhte Effektivität hinsichtlich ihrer Epitop-Generierung zur Folge, sondern scheint auch durch ein verändertes Schnittmuster in einer qualitativ veränderten Epitop-Bildung zu resultieren. Die MHC-I Bindung dieser potentiellen Epitope muss jedoch noch abschließend untersucht werden. Sie befinden sich in der von Mendel et al.⁴⁷ und Sun et al.⁴⁹ definierten Region. Das von Ford und Evavold⁵⁰ postulierte Epitope MOG 37-46 wurde von den Proteasomen mit erhöhter trypsin-ähnlicher Aktivität in diesen Untersuchungen kaum gebildet.

Die im Rahmen dieses DFG-Projekts erhobenen Befunde unterstreichen die allgemeine Ansicht, dass das ZNS ein immun-privilegiertes Organ ist; denn selbst in den Bereichen des ZNS, in denen durch die EAE ausgelöst morphologisch Läsionen zu erkennen sind, ist nur eine sehr moderate und streng begrenzte Veränderung des Proteasomen-Systems, einem zentralen Mitspieler bei der Immunantwort, nachzuweisen.

Literaturverweise:

1. Ransom, B., Behar, T. & Nedergaard, M. New roles for astrocytes (stars at last). *Trends Neurosci* **26**, 520-2 (2003).
2. Slezak, M. & Pflieger, F. W. New roles for astrocytes: regulation of CNS synaptogenesis. *Trends Neurosci* **26**, 531-5 (2003).
3. Evanko, D. S., Zhang, Q., Zorec, R. & Haydon, P. G. Defining pathways of loss and secretion of chemical messengers from astrocytes. *Glia* **47**, 233-40 (2004).
4. Newman, E. A. New roles for astrocytes: regulation of synaptic transmission. *Trends Neurosci* **26**, 536-42 (2003).
5. Aschner, M., Sonnewald, U. & Tan, K. H. Astrocyte modulation of neurotoxic injury. *Brain Pathol* **12**, 475-81 (2002).
6. Dong, Y. & Benveniste, E. N. Immune function of astrocytes. *Glia* **36**, 180-90 (2001).
7. Aschner, M. Immune and inflammatory responses in the CNS: modulation by astrocytes. *Toxicol Lett* **102-103**, 283-7 (1998).
8. Benarroch, E. E. Neuron-astrocyte interactions: partnership for normal function and disease in the central nervous system. *Mayo Clin Proc* **80**, 1326-38 (2005).
9. Carpentier, P. A. et al. Differential activation of astrocytes by innate and adaptive immune stimuli. *Glia* **49**, 360-74 (2005).
10. Pawate, S., Shen, Q., Fan, F. & Bhat, N. R. Redox regulation of glial inflammatory response to lipopolysaccharide and interferongamma. *J Neurosci Res* **77**, 540-51 (2004).
11. Constantinescu, C. S. et al. Astrocytes as antigen-presenting cells: expression of IL-12/IL-23. *J Neurochem* **95**, 331-40 (2005).
12. Aloisi, F., Ria, F. & Adorini, L. Regulation of T-cell responses by CNS antigen-presenting cells: different roles for microglia and astrocytes. *Immunol Today* **21**, 141-7 (2000).
13. Gresser, O., Weber, E., Hellwig, A., Riese, S. & Regnier-Vigouroux, A. Immunocompetent astrocytes and microglia display major differences in the processing of the invariant chain and in the expression of active cathepsin L and cathepsin S. *Eur J Immunol* **31**, 1813-24 (2001).
14. Cornet, A. et al. Role of astrocytes in antigen presentation and naive T-cell activation. *J Neuroimmunol* **106**, 69-77 (2000).
15. Ambrosini, E. & Aloisi, F. Chemokines and glial cells: a complex network in the central nervous system. *Neurochem Res* **29**, 1017-38 (2004).
16. Ambrosini, E. et al. Astrocytes produce dendritic cell-attracting chemokines in vitro and in multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* **64**, 706-15 (2005).
17. Ubogu, E. E., Cossoy, M. B. & Ransohoff, R. M. The expression and function of chemokines involved in CNS inflammation. *Trends Pharmacol Sci* **27**, 48-55 (2006).
18. Nikcevich, K. M. et al. IFN-gamma-activated primary murine astrocytes express B7 costimulatory molecules and prime naive antigen-specific T cells. *J Immunol* **158**, 614-21 (1997).
19. Becher, B., Prat, A. & Antel, J. P. Brain-immune connection: immuno-regulatory properties of CNS-resident cells. *Glia* **29**, 293-304 (2000).
20. Glickman, M. H. & Ciechanover, A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev* **82**, 373-428 (2002).
21. Kloetzel, P. M. Antigen processing by the proteasome. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2**, 179-87 (2001).
22. Rock, K. L., York, I. A., Saric, T. & Goldberg, A. L. Protein degradation and the generation of MHC class I-presented peptides. *Adv Immunol* **80**, 1-70 (2002).
23. Dahlmann, B. Proteasomes. *Essays Biochem* **41**, 31-48 (2005).
24. Kloetzel, P. M. The proteasome and MHC class I antigen processing. *Biochim Biophys Acta* **1695**, 225-33 (2004).
25. Kloetzel, P. M. & Ossendorp, F. Proteasome and peptidase function in MHC-class-I-mediated antigen presentation. *Curr Opin Immunol* **16**, 76-81 (2004).

26. Akaishi, T., Shiomi, T., Sawada, H. & Yokosawa, H. Purification and properties of the 26S proteasome from the rat brain: evidence for its degradation of myelin basic protein in a ubiquitin-dependent manner. *Brain Res* **722**, 139-44 (1996).
27. Akaishi, T., Sawada, H. & Yokosawa, H. Properties of 26S proteasome purified from rat skeletal muscles: comparison with those of 26S proteasome from the rat brain. *Biochem Mol Biol Int* **39**, 1017-21 (1996).
28. Noda, C., Tanahashi, N., Shimbara, N., Hendil, K. B. & Tanaka, K. Tissue distribution of constitutive proteasomes, immunoproteasomes, and PA28 in rats. *Biochem Biophys Res Commun* **277**, 348-54 (2000).
29. Piccinini, M. et al. Interferon-gamma-inducible subunits are incorporated in human brain 20S proteasome. *J Neuroimmunol* **135**, 135-40 (2003).
30. Mishto, M. et al. Immunoproteasome and LMP2 polymorphism in aged and Alzheimer's disease brains. *Neurobiol Aging* **27**, 54-66 (2006).
31. Keegan, B. M. & Noseworthy, J. H. Multiple sclerosis. *Annu Rev Med* **53**, 285-302 (2002).
32. Kornek, B. & Lassmann, H. Neuropathology of multiple sclerosis-new concepts. *Brain Res Bull* **61**, 321-6 (2003).
33. Hauser, S. L. & Oksenberg, J. R. The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron* **52**, 61-76 (2006).
34. Ercolini, A. M. & Miller, S. D. Mechanisms of immunopathology in murine models of central nervous system demyelinating disease. *J Immunol* **176**, 3293-8 (2006).
35. Gold, R., Linington, C. & Lassmann, H. Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* **129**, 1953-71 (2006).
36. Ludwin, S. K. The pathogenesis of multiple sclerosis: relating human pathology to experimental studies. *J Neuropathol Exp Neurol* **65**, 305-18 (2006).
37. Gold, R., Hartung, H. P. & Toyka, K. V. Animal models for autoimmune demyelinating disorders of the nervous system. *Mol Med Today* **6**, 88-91 (2000).
38. Steinman, L. & Zamvil, S. S. How to successfully apply animal studies in experimental allergic encephalomyelitis to research on multiple sclerosis. *Ann Neurol* **60**, 12-21 (2006).
39. El Behi, M. et al. New insights into cell responses involved in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Immunol Lett* **96**, 11-26 (2005).
40. Steinman, L. Myelin-specific CD8 T cells in the pathogenesis of experimental allergic encephalitis and multiple sclerosis. *J Exp Med* **194**, F27-30 (2001).
41. Friese, M. A. & Fugger, L. Autoreactive CD8+ T cells in multiple sclerosis: a new target for therapy? *Brain* **128**, 1747-63 (2005).
42. Mars, L. T. et al. CD8 T cell responses to myelin oligodendrocyte glycoprotein-derived peptides in humanized HLA-A*0201-transgenic mice. *J Immunol* **179**, 5090-8 (2007).
43. Mendel, I., Kerlero de Rosbo, N. & Ben-Nun, A. A myelin oligodendrocyte glycoprotein peptide induces typical chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in H-2b mice: fine specificity and T cell receptor V beta expression of encephalitogenic T cells. *Eur J Immunol* **25**, 1951-9 (1995).
44. Ben-Nun, A. et al. The autoimmune reactivity to myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) in multiple sclerosis is potentially pathogenic: effect of copolymer 1 on MOG-induced disease. *J Neurol* **243**, S14-22 (1996).
45. Sun, D. et al. Myelin antigen-specific CD8+ T cells are encephalitogenic and produce severe disease in C57BL/6 mice. *J Immunol* **166**, 7579-87 (2001).
46. Huseby, E. S. et al. A pathogenic role for myelin-specific CD8(+) T cells in a model for multiple sclerosis. *J Exp Med* **194**, 669-76 (2001).
47. Mendel Kerlero de Rosbo, N. & Ben-Nun, A. Delineation of the minimal encephalitogenic epitope within the immunodominant region of myelin oligodendrocyte glycoprotein: diverse V beta gene usage by T cells recognizing the core epitope encephalitogenic for T cell receptor V beta b and T cell receptor V beta a H-2b mice. *Eur J Immunol* **26**, 2470-9 (1996).

B18 Kloetzel/Dahlmann

48. Sweeney, C. H., Mackenzie, K. J., Rone-Orugboh, A., Liu, M. & Anderton, S. M. Distinct T cell recognition of naturally processed and cryptic epitopes within the immunodominant 35-55 region of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Neuroimmunol* **183**, 7-16 (2007).
49. Sun, D. et al. Encephalitogenic activity of truncated myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) peptides and their recognition by CD8+ MOG-specific T cells on oligomeric MHC class I molecules. *Int Immunol* **15**, 261-8 (2003).
50. Ford, M. L. & Evavold, B. D. Specificity, magnitude, and kinetics of MOG-specific CD8+ T cell responses during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol* **35**, 76-85 (2005).
51. Montero, E. et al. Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD4+, CD25+ and CD8+ T cells: analysis using depleting antibodies. *J Autoimmun* **23**, 1-7 (2004).
52. Abdul-Majid, K. B. et al. Comparing the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis in CD4-/- and CD8-/- DBA/1 mice defines qualitative roles of different T cell subsets. *J Neuroimmunol* **141**, 10-9 (2003).
53. Hoftberger, R. et al. Expression of major histocompatibility complex class I molecules on the different cell types in multiple sclerosis lesions. *Brain Pathol* **14**, 43-50 (2004).
54. Kort, J. J., Kawamura, K., Fugger, L., Weissert, R. & Forsthuber, T. G. Efficient presentation of myelin oligodendrocyte glycoprotein peptides but not protein by astrocytes from HLA-DR2 and HLA-DR4 transgenic mice. *J Neuroimmunol* **173**, 23-34 (2006).
55. De Keyser, J., Zeinstra, E. & Frohman, E. Are astrocytes central players in the pathophysiology of multiple sclerosis? *Arch Neurol* **60**, 132-6 (2003).
56. Gaczynska, M., Rock, K. L. & Goldberg, A. L. Role of proteasomes in antigen presentation. *Enzyme Protein* **47**, 354-69 (1993).
57. Rexach, J. E., Clark, P. M. & Hsieh-Wilson, L. C. Chemical approaches to understanding O-GlcNAc glycosylation in the brain. *Nat Chem Biol* **4**, 97-106 (2008).
58. Marz, P. et al. Ataxin-10 interacts with O-linked beta-N-acetylglucosamine transferase in the brain. *J Biol Chem* **281**, 20263-70 (2006).
59. Sumegi, M., Hunyadi-Gulyas, E., Medzihradzky, K. F. & Udvardy, A. 26S proteasome subunits are O-linked N-acetylglucosamine-modified in *Drosophila melanogaster*. *Biochem Biophys Res Commun* **312**, 1284-9 (2003).
60. Wells, L. et al. Mapping sites of O-GlcNAc modification using affinity tags for serine and threonine post-translational modifications. *Mol Cell Proteomics* **1**, 791-804 (2002).
61. Zhang, F. et al. O-GlcNAc modification is an endogenous inhibitor of the proteasome. *Cell* **115**, 715-25 (2003).
62. Strehl, B. K. (2005). „Struktur und Funktion des 20S Proteasomen aus Organen *Listeria monocytogenes* infizierter Mäuse.“ Dissertation. Humboldt-Universität zu Berlin.
63. Klare, N. (2005). „Strukturelle und biochemische Analyse der 20S Proteasom-Subtypen aus humanen Zellen“.Dissertation. Humboldt-Universität zu Berlin.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- **Begutachtete Veröffentlichungen**
keine
- **Eingereichte Veröffentlichungen (mit Datum der Einreichung)**
keine
- **Nicht begutachtete Veröffentlichungen**
- **Patente**
keine

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 01/2005 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts- jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
2005	52.800,00	30.000,00		82.800,00
2006	55.200,00	30.000,00		85.200,00
2007	55.200,00	30.000,00		85.200,00
Summe	163.200,00	90.000,00		253.200,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Einrichtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgeltgruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfskräfte)	Kloetzel, PM. Prof. Dr. Dahlmann, B. Prof. Dr. Janek, K. Dr.rer.nat	Biochemie Biochemie Chemie	Inst. f. Biochemie Charité/CCM Inst. f. Biochemie Charité/CCM Inst. f. Biochemie Charité/CCM	01/05 – 12/07 01/05 – 12/07 01/05 – 12/07	
nichtwissenschaftl. Personal	Kloß, A. MTA	Biochemie	Inst. f. Biochemie Charité/CCM	01/05 – 12/07	
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfskräfte)	Siele, D. Dipl. Biologin	Biochemie	Inst. f. Biochemie Charité/CCM	03/05 – 12/07	BAT IIa/2
nichtwissenschaftl. Personal					

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 C3

4.1.1 Titel:

Funktionen von Gliazellen während epileptogener Prozesse

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Neurophysiologie

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Prof. Dr. med. Uwe Heinemann, 17.02.1944
AG Zelluläre Neurophysiologie und Pathophysiologie
Institut für Neurophysiologie
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Tucholskystrasse 2, 10117 Berlin

Telefon: (030) 450-528 152
Telefax: (030) 450-528 962
E-Mail: uwe.heinemann@charite.de

Dr. med. Oliver Kann, 13.10.1971
AG Neuronale Mitochondrien
Institut für Neurophysiologie
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Tucholskystrasse 2, 10117 Berlin

Telefon: (030) 450-528 357
Telefax: (030) 450-528 962
E-Mail: oliver.kann@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Mesiale Temporallappenepilepsien (TLE) sind häufig durch Progredienz, Pharmakoresistenz und schwere Folgeschädigungen gekennzeichnet. Das Hirngewebe zeichnet sich histopathologisch durch Nervenzellverluste, nachfolgende Reorganisation des Netzwerks und fibrilläre Astroglieose aus. Schädigung des Gewebes ist damit ein zentraler Aspekt der Epileptogenese. Wir haben in der Antragsperiode 2005-2007 folgende Haupthypothesen verfolgt:

1. Pathologische, neuronale Aktivität wie bei Status epilepticus ist mit Akkumulation von Calcium in Zytoplasma und Mitochondrien verbunden. Die verstärkte mitochondriale Ca^{2+} -Aufnahme führt zu Depolarisation der inneren Mitochondrienmembran, zu vermehrter Bildung von NO, ROS und toxischen Folgeprodukten, aber auch zum Verbrauch des intrinsischen Radikalfängers Glutathion. Es kommt zu Lipidoxidierung, Schädigung mitochondrialer Enzyme und DNA mit verminderter ATP Produktion und Zelltod.

2. Zusätzlich tragen Astrozyten und Mikrogliazellen sekundär wesentlich zu erhöhter Vulnerabilität der Nervenzellen bei. Ursache dafür könnte sein, dass Status epilepticus auch zu funktionellen Änderungen der Eigenschaften der Astrozyten führt, was nachfolgend mit einer gestörten Bildung von Glutathion bzw. der für Nervenzellen wichtigen Vorstufen einhergeht und somit die antioxidative Kapazität im Gewebe vermindert. Dieser negative Effekt wird durch Freisetzung von ROS und NO der Mikrogliazellen verstärkt, die nach Status epilepticus aktiviert sind.

Mit hochauflösender konfokaler Fluoreszenzmikroskopie und neu etablierten Färbe- und Auswertetechniken haben wir für individuelle neuronale Mitochondrien in hippocampalen Hirnschnittpräparaten zeigen können, dass es während epileptiformer Aktivität sowohl in Dendriten als auch im Zellkörper von Neuronen zu massiver und synchroner mitochondrialer Depolarisation kommt. Diese mitochondriale Depolarisation ist durch mitochondriale Ca^{2+} -Aufnahme und -Abgabe vermittelt (**Kovács et al., 2005**). Die-

se Studie liefert möglicherweise eine Erklärung für substanzelle Funktionsstörungen der Mitochondrien während epileptischer Anfälle, die zu zellulärem Energiemangel, verstärkter Produktion von freien Sauerstoff-Radikalen (ROS) und Zelltod führt. Wir haben weiterhin zeigen können, dass die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) ein Schlüsselfaktor für die Initiierung epileptiformer Aktivität ist, und dass Astrozyten eine höhere anti-oxidative Kapazität besitzen als Neurone. Interessanterweise zeigten Glutathion (intrinsisches Antioxidanz) -deprivierte Hirnschnittpräparate auch eine höhere Empfindlichkeit gegenüber epileptiformer Aktivität, was die besondere Rolle für ROS in der Epileptogenese unterstreicht (**Kovács et al., in Vorbereitung**). An Gewebe von Patienten mit Temporallappenepilepsie und aus dem Tiermodell (Pilocarpin-behandelte, chronisch epileptische Ratten) haben wir erstmalig ein Korrelat für 'Hypometabolismus' in epileptischen Hirnregionen nachgewiesen. Es zeigte sich im Hippocampus eine Regionen-spezifische Veränderung von evozierten NAD(P)H Transienten, die auf eine pathologische Veränderung des mitochondrialen Energiemetabolismus hinweist (**Kann et al., 2005**). Diese Veränderung könnte durch wiederholte Schädigung von mitochondrialer DNS durch freie Radikale zustande kommen. Da epileptiforme Aktivität in vitro häufig mit *spreading depression* assoziiert ist, haben wir diesen Aspekt genauer untersucht. Wir konnten für juveniles Hippocampusgewebe unter normoxischen experimentellen Bedingungen beschreiben, dass evozierte *spreading depressions* zu transienter Anoxie und erhöhtem Zelltod führen (**Pomper et al., 2006**). Für akute Hirnschnittpräparate von Epilepsie-Patienten haben wir weiterhin zeigen können, dass pharmakologisch-evozierte, epileptiforme Aktivität im Gyrus dentatus resistent gegenüber Carbamazepin ist. Dieser Befund korrelierte mit der Carbamazepin-Resistenz der Patienten und weist daraufhin, dass zentrale Mechanismen der Pharmakoresistenz nicht an der Blut-Hirn-Schranke, sondern im Hirnparenchym zu suchen sind (**Jandová et al., 2006**). In einem Kooperationsprojekt mit der Institution Cancer Research UK (London, UK) haben wir an transgenen Tieren demonstriert, dass ERK-Signaling eine weitere zentrale Rolle bei der Entstehung von Epilepsie spielen könnte (**Nateri et al., 2007**). Eine besondere Bedeutung kommt dabei der abnorm erhöhten Expression von NR2B-Rezeptor-Untereinheiten von Glutamat-Rezeptoren (NMDA-Typ) in der CA3-Region des Hippocampus zu. Da epileptische Aktivität verstärkt zur Bildung von ROS und NO führt, und diese sowohl reversibel als auch irreversibel zur Inhibition der mitochondrialen Atmungskette führen können, haben wir zuletzt die Bedeutung von mitochondrialen Funktionen (Atmungskette) für das Zustandekommen von komplexen neuronalen Netzwerkaktivitäten und zwar zunächst unter physiologischen Bedingungen untersucht (**Huchzermeyer et al., 2008**). Wir haben zeigen können, dass Abfälle des pO_2 im normoxischen Bereich zur deutlichen Abnahme von Gamma-Oszillationen und spontaner Netzwerkaktivität in Hirnschnittpräparaten führen. Diese Abnahme neuronaler Netzwerkaktivitäten wird wahrscheinlich durch eine deutliche Einschränkung der oxidativen Kapazität neuronaler Mitochondrien besonders im Bereich der Synapsen verursacht. Diese Publikation bildet die Grundlage für weitere zukünftige Studien unter pathologischen Bedingungen wie Epilepsie und zeigt die zentrale Rolle von mitochondrialen Funktionen (bzw. Dysfunktionen) für die Aktivität individueller Neurone und neuronaler Netzwerke. Wir möchten insbesondere dankend darauf hinweisen, dass die Bewilligung der Mittel für das Fluoreszenz-Imaging-System (Olympus Cell[^]R) durch die DFG eine wesentliche Voraussetzung für die Realisierbarkeit eines Teils der Publikationen war (Kovács et al., in Vorbereitung; Pomper et al., 2006; Huchzermeyer et al., 2008).

Die Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf diese Artikel waren durchweg positiv. Bis zum Februar 2008 sind die Artikel in folgender Häufigkeit zitiert worden (Referenz: ISI Web of Knowledge): Kann et al., 2005: **15**; Kovács et al., 2005: **10**; Jandova et al., 2006: **3**; Pomper et al., 2006: **6**; Kann and Kovács, 2007: **7**. Die Publikation von Pomper et al. (2006) wurde mit einem Editorial (Somjen, 2006) in der Journalausgabe hervorgehoben. Ebenso führten die Publikationen zur Physiologie und Pathophysiologie (Epilepsie) neuronaler Mitochondrien aus dieser und den vorangegangenen Antragsperioden zu Einladungen zu verschiedenen Konferenzen (u.a., O. Kann und R. Kovács zur Gordon Research Conference on Brain Energy Metabolism, 2006, Oxford, UK), zum Verfassen von Übersichtsartikeln (Kann and Kovács, 2007 für eine Sonderausgabe des American Journal of Physiology – Cell Physiology; Heinemann et al., 2006 für Advances in Neurology; Löscher et al., 2008 für Trends in Neuroscience), und zu vielfachen Anfragen für peer-review Gutachtertätigkeiten (Neuron, The Journal of Neuroscience, Journal of Neurochemistry, American Journal of Physiology etc.). Die enge Zusammenarbeit mit den Projekten A1 und C12 führte zu gemeinsamen Publikationen (**Windmüller et al., 2005**; **Ivens et al., 2007**).

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- **Begutachtete Veröffentlichungen**

1. Huchzermeyer C, Albus K, Gabriel HJ, Otáhal J, Taubenberger N, Heinemann U, Kovács R, Kann O. Gamma oscillations and spontaneous network activity in the hippocampus are highly sensitive to decreases in pO₂ and concomitant changes in mitochondrial redox state. **J Neurosci**. 2008 Jan 30;28(5):1153-62.
2. Löscher W, Gernert M, Heinemann U. Cell and gene therapies in epilepsy - promising avenues or blind alleys? **Trends Neurosci**. 2008 Feb;31(2):62-73.
3. Nateri AS, Raivich G, Gebhardt C, Da Costa C, Naumann H, Vreugdenhil M, Makwana M, Brandner S, Adams RH, Jefferys JG, Kann O, Behrens A. ERK activation causes epilepsy by stimulating NMDA receptor activity. **EMBO J**. 2007 Nov 28;26(23):4891-901.
4. Ivens S, Kaufer D, Flores LP, Bechmann I, Zumsteg D, Tomkins O, Seiffert E, Heinemann U, Friedman A. TGF-beta receptor-mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. **Brain**. 2007 Feb;130(Pt 2):535-47.
5. Päsler D, Gabriel S, Heinemann U. Two-pore-domain potassium channels contribute to neuronal potassium release and glial potassium buffering in the rat hippocampus. **Brain Res**. 2007 Oct 10;1173:14-26.
6. Kann O, Kovács R. Mitochondria and neuronal activity. **Am J Physiol Cell Physiol**. 2007 Feb;292(2):C641-57. Epub 2006 Nov 8. Invited Review.
7. Jandová K, Päsler D, Antonio LL, Raue C, Ji S, Njunting M, Kann O, Kovács R, Meencke HJ, Cavalheiro EA, Heinemann U, Gabriel S, Lehmann TN. Carbamazepine-resistance in the epileptic dentate gyrus of human hippocampal slices. **Brain**. 2006 Dec;129(Pt 12):3290-306.
8. Pomper JK, Haack S, Petzold GC, Buchheim K, Gabriel S, Hoffmann U, Heinemann U. Repetitive spreading depression-like events result in cell damage in juvenile hippocampal slice cultures maintained in normoxia. **J Neurophysiol**. 2006 Jan;95(1):355-68.
9. Kann O, Kovács R, Njunting M, Behrens CJ, Otáhal J, Lehmann TN, Gabriel S, Heinemann U. Metabolic dysfunction during neuronal activation in the ex vivo hippocampus from chronic epileptic rats and humans. **Brain**. 2005 Oct;128(Pt 10):2396-407.
10. Kovács R, Kardos J, Heinemann U, Kann O. Mitochondrial calcium ion and membrane potential transients follow the pattern of epileptiform discharges in hippocampal slice cultures. **J Neurosci**. 2005 Apr 27;25(17):4260-9.
11. Windmüller O, Lindauer U, Foddis M, Einhüpl KM, Dirnagl U, Heinemann U, Dreier JP. Ion changes in spreading ischaemia induce rat middle cerebral artery constriction in the absence of NO. **Brain**. 2005 Sep;128(Pt 9):2042-51.

- **Eingereichte Veröffentlichungen (mit Datum der Einreichung)**

- **Nicht begutachtete Veröffentlichungen**

1. Heinemann U, Kann O, Remy S, Beck H. Novel mechanisms underlying drug resistance in temporal lobe epilepsy. **Adv Neurol**. 2006;97:85-95. Review.

C3 Heinemann/Kann

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich 507 von 07/1995 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts- jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
Bis 2004	564.220,00	196.796,00		760.996,00
2005	66.000,00	12.800,00	46.000,00	124.800,00
2006	66.000,00	12.800,00		78.800,00
2007	66.000,00	12.800,00		78.000,00
Summe	762.220,00	235.176,00	46.000,00	1.043,396,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbei- ters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Ein- richtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	U. Heinemann, Prof. Dr. med.; Direktor O. Kann, Dr. med.; wis- senschaftlicher Assistent	Physiologie Physiologie	Institut für Neurophysio- logie, Charité – Universi- tätsmedizin Berlin	01/1995 bis 12/2007 09/2000 bis 12/2007	
nichtwissen- schaftl. Personal	H.J. Gabriel, Dr. ing. H. Siegmund, Dr. ing. K. Schulze, Dr. rer.nat.		Institut für Neurophysio- logie, Charité – Universi- tätsmedizin Berlin	01/1995 bis 12/2007 01/1995 bis 04/2007 01/1995 bis 12/2007	
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Otahal, Jakob De Hoz Garcia-Bellido, Livia Kovacs, Richard Ohm, Nicole Metzger, Robert Taubenberger, Nando Eisenach, Sven Kunert, Alexandra Albus David	Physiologie	Institut für Neurophysio- logie, Charité – Universi- tätsmedizin Berlin	01/2005- 09/2005 01/2005- 02/2005 06/2005 01/2006- 13/2007 02/2005- 07/2005 07/2005- 12/2005 04/2006- 03/2007 11/2006- 12/2006 11/2006- 12/2006 08/2007- 12/2007 08/2007- 12/2007	Ila Ila Ila Ila stud.Hk stud.Hk stud.Hk stud.Hk stud.Hk stud.Hk stud.Hk
nichtwissen- schaftl. Personal					

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 C7

4.1.1 Titel:

In situ Untersuchungen zu physiologischen Mechanismen der Mikrogliaaktivierung unter pathophysiologischen Bedingungen

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Physiologie

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Claudia Eder, PhD
St. George's, University of London
Division of Basic Medical Sciences
Cranmer Terrace, Tooting
London
SW17 0RE
UK

Tel.: +44-20-8725-4937 (office)
+44-20-8266-6041 (lab)
FAX: +44-20-8266-6719
e-mail: ceder@sgul.ac.uk

Dr. Tom Schilling
St. George's, University of London
Division of Basic Medical Sciences
Cranmer Terrace, Tooting
London
SW17 0RE
UK

T: +44-20-8266-6041
F: +44-20-8725-3581
E: t.schilling@sgul.ac.uk

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Mikrogliazellen, die ortsständigen Makrophagen des Gehirns, befinden sich im adulten gesunden Gewebe in einem funktionellen Ruhezustand. Im Rahmen pathologischer Ereignisse wie Hypoxie oder Epilepsie erfolgt eine Aktivierung der Mikrogliazellen, bei der sie von ihrer ramifizierten in eine amöboide Morphologie übergehen. Außerdem proliferieren sie und migrieren zum Ort der Schädigung. Vollständig aktivierte Mikrogliazellen sind in der Lage, Antigen zu präsentieren, abgestorbenes Zellmaterial zu phagozytieren und eine Vielzahl von Stoffen, wie pro- und antiinflammatorische Zytokine, Chemokine, Stickoxid und Sauerstoffradikale, freizusetzen. Diese Eigenschaften aktivierter Mikrogliazellen sind prinzipiell protektiver Natur, können jedoch auch neurotoxische Effekte auslösen. Im Rahmen der Immunreaktion werden Stoffe wie reaktive Sauerstoffradikale freigesetzt, die eine Schädigung des umliegenden Gewebes bewirken.

Mit Hilfe der Patch-Clamp-Technik wurden in den vergangenen Jahren die physiologischen Eigenschaften von Mikrogliazellen untersucht. Vor allem an isolierten kultivierten Einzelzellen wurden so Ionenkanäle identifiziert, die selektiv für K^+ , H^+ , Na^+ , Ca^{2+} oder Cl^- sind. Die differentielle Pharmakologie ermöglicht neben den Bestimmungen der biophysikalischen Eigenschaften eine Unterscheidung der verschiedenen Ionenkanäle. Untersuchungen an Mikrogliazellen *in situ* legen nahe, daß sie im ruhenden oder aktivierten Zustand die gleichen Ionenkanäle exprimieren können wie unter Zellkulturbedingungen.

C7 Eder/Schilling

Genauere Kenntnisse über die Aktivitätsmuster von Ionenkanälen während pathophysiologischer Mikrogliaaktivierung lagen nicht vor.

Ziel des Antrages war es, die Beteiligung mikroglialer Ionenkanäle im Rahmen von Aktivierungsvorgängen der Mikrogliazellen *in situ* zu untersuchen. Aufgrund der divergierenden Aussagen in der Literatur mußte ein geeignetes Modell etabliert werden, in dem die Aktivierung von Mikrogliazellen langfristig und kontrolliert ausgelöst werden konnte.

Dafür wurden murine Hirnschnitte von Hippokampus und entorhinalen Kortex angefertigt, die die anatomischen Verbindungen zwischen diesen Hirnarealen intakt ließen. Diese Hirnschnitte wurden entweder direkt hinsichtlich ihrer elektrophysiologischen Eigenschaften der Mikrogliazellen untersucht oder auf permeablen Membranen für 3 bis 7 Tage in Inkubatoren vor der Messung kultiviert. Untersucht wurden Hirnschnittpräparate von Tieren unterschiedlichen Alters. Ein Teil der Hirnschnitte wurde von Tieren kurz nach der Geburt, also etwa im Alter von P5, angefertigt, eine weitere Population wurde im Alter von etwa P20 untersucht. Hirnschnitte jüngerer Tiere waren aufgrund sehr kleiner Mikrogliapopulationen für die Untersuchungen nicht verwendbar, währenddessen Slicepräparate älterer Tiere nicht für längere Zeit im Inkubator kultivierbar waren.

In den unterschiedlichen Hirnschnittpräparaten wurden mittels Patch-Clamp-Technik in der Ganzzellkonfiguration Isolektin-markierter Mikrogliazellen hinsichtlich ihrer elektrophysiologischen Eigenschaften charakterisiert. Die Identität der Mikrogliazellen wurde zusätzlich durch die intrazelluläre Anfärbung mit einem über die Patchpipette applizierten Fluoreszenzfarbstoff anderer Emissionswellenlänge verifiziert. Erwartungsgemäß hatte die Mehrzahl der Mikrogliazellen in den akut isolierten Schnittpräparaten eine ramifizierte Morphologie, gekennzeichnet durch die kleinen Zellkörper und weit verzweigte Ausläufer. Im Unterschied dazu wies die Mikroglia der kultivierten Hirnschnittpräparate eine amöboide Form auf.

Die elektrophysiologischen Membraneigenschaften kultivierter und akuter Hirnschnittpräparate unterschieden sich hinsichtlich Zellkapazität, Ruhemembranpotential und Eingangswiderstand geringfügig, aber signifikant. Am ehesten sind diese Unterschiede auf die veränderte Spannungsklemme infolge der unterschiedlichen Morphologie zurückzuführen.

Zur Charakterisierung der Ionenkanäle wurden sowohl spannungs- als auch ligandenaktivierte Ionenkanäle von Mikrogliazellen *in situ* erforscht. Das Gros der untersuchten Mikrogliazellen exprimierte einen hyperpolarisationsaktivierten Kaliumkanal, der in seinen Eigenschaften dem klonierten Kir 2.1 entsprach. Der Anteil der Zellen, in denen dieser Kanal nachgewiesen werden konnte, war in Mikrogliazellen von kultivierten und akut isolierten Hirnschnitten in etwa gleich. Allerdings war die Stromdichte, die ein Marker für die Anzahl der exprimierten Kanäle ist, in den kultivierten Slices signifikant höher.

Eine analoge quantitative Zunahme der Kanalexpression wurde für einen weiteren mikroglialen Kaliumkanal in kultivierten Hirnschnitten im Vergleich zu akuten Hirnschnittpräparaten beobachtet. Dieser depolarisationsaktivierte Kaliumkanal war in der Mehrzahl der untersuchten Mikrogliazellen sowohl in akut präparierten als auch in kultivierten Hirnschnitten präsent, wobei die Stromdichte bei letzterer Bedingung signifikant erhöht war. Dieser Kanal zeigte in seinen biophysikalischen Parametern wie der zeitabhängigen Inaktivierung oder der kumulativen Inaktivierung bei repetitiver Depolarisation die typischen Eigenschaften des klonierten Kanals Kv1.3. Das Vorhandensein des Kv1.3-artigen Kaliumkanals in Mikrogliazellen von akut präparierten Hirnschnitten konnte nicht auf eine nach der Präparation sofort beginnende Entzündungsreaktion aufgrund des Schneidevorgang zurückgeführt werden, da keine Korrelation zwischen der Stromdichte und der verstrichenen Zeit nach der Präparation bestand. Vielmehr ist die Expression des Kv1.3-artigen Kaliumkanals genuin für die murinen Mikrogliazellen der untersuchten Altersgruppen.

Erstmals wurden in unseren Untersuchungen spannungsaktivierte Protonenkanäle bei Mikrogliazellen *in situ* beschrieben. Die Protonenkanäle von Mikroglia hippocampaler Hirnschnitte zeigten eine zeit- und spannungsabhängige Aktivierung. Amplitude und Aktivierungsschwelle der Protonenströme waren abhängig vom pH-Gradienten über der Zellmembran und die Protonenströme zeigten eine Sensitivität gegenüber extrazellulär appliziertem Zn^{2+} . Diese Eigenschaften stehen somit in Übereinstimmung mit den Charakteristika, die der kürzlich klonierte Ionenkanal Hv1 aufweist. Unterschiede in der Frequenz des Auftretens oder der Stromdichte mikroglialer Protonenströme konnte nicht zwischen akut präparierten und kultivierten Hirnschnitten oder zwischen verschiedenen Altersgruppen detektiert werden.

Ein Teil der untersuchten Mikrogliazellen zeigte die Aktivität von dehnungsaktivierten Chloridkanälen. Diese konnten sowohl in akut präparierten als auch in kultivierten Hirnschnittpräparaten nachgewiesen werden. In Abwesenheit von intrazellulärem ATP zeigte dieser Chloridstrom einen ausgeprägten run down, so daß der Strom nach wenigen Minuten nicht mehr nachweisbar war. Er entspricht mit den beobachteten Eigenschaften jenem Chloridkanal, der auch in isolierten kultivierten Mikrogliazellen nachgewiesen wurde.

Bei Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration in der Intrazellulärlösung konnten Ströme gemessen werden, die durch die Aktivität von kalziumaktivierten Kaliumkanälen bedingt waren. Diese kalziumaktivierten Kaliumkanäle waren ausschließlich in Zellen kultivierter Hirnschnitte juveniler Mäuse nachweisbar. Mikrogliazellen akut präparierter Hirnschnitte oder Hirnschnittkulturen älterer Mäuse exprimierten diesen Kanaltyp nicht. Typischerweise aktivierten diese Kaliumkanäle in Anwesenheit einer erhöhten Kalziumkonzentration bei Potentialen jenseits von +20 mV. Es konnte in einigen Mikrogliazellen Einzelkanalaktivität beobachtet werden. Die Einzelkanalleitfähigkeit des Kanals konnte mit 160 pS bestimmt werden. Diese kalziumaktivierten Kaliumkanäle waren inhibierbar durch extrazelluläres Tetraethylammonium und Paxillin, aber nicht durch Clotrimazole. Dieser Kanaltyp entspricht am ehesten dem klonierten Kanal Kca1.1.

In den oben aufgeführten Hirnschnittpräparaten wurde ebenfalls die Existenz von ligandengesteuerten Ionenkanälen in Mikrogliazellen untersucht, um der Frage nachzugehen, ob mikrogliale Ionenkanäle durch Neurotransmitter aktiviert werden können. Im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Untersuchungen an kultivierten isolierten Mikrogliazellen bewirkte die extrazelluläre Applikation von Glutamat keine detektierbaren Ionenströme. Sowohl in akuten als auch in kultivierten Hirnschnitten konnten mit der Patch-Clamp-Technik keine Glutamatrezeptoren auf Mikrogliazellen *in situ* nachgewiesen werden.

Ausgehend von diesen Ergebnissen wurden akut präparierte und kultivierte Hirnschnittpräparate in weiterführenden Experimenten als Modelle für Mikrogliazellen in unterschiedlichen Aktivierungsstadien benutzt. Mittels Patch-Clamp- und Fluoreszenzimagingexperimenten wurden Mikrogliazellen untersucht, die *in situ* akuten epileptiformen und hypoxischen Bedingungen ausgesetzt wurden. Dabei konnten vielversprechende neue Vordaten erhoben werden.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- Begutachtete Veröffentlichungen

SCHILLING T. & EDER C. (2007) Ion channel expression in resting and activated microglia of hippocampal slices from juvenile mice. *Brain Res.* 1186:21-8.

SCHILLING T. & EDER C. (2007) TRAM-34 inhibits nonselective cation channels. *Pflugers Arch.* 454:559-63.

Stock C., SCHILLING T., Schwab A. & EDER C. (2006) Lysophosphatidylcholine Stimulates IL-1 β Release from Microglia via a P2X₇ Receptor-Independent Mechanism. *J.Immunol.* 177:8560-8568.

EDER C. (2005) Regulation of microglial behavior by ion channel activity. *J Neurosci Res.* 81:314-21

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 01/2002 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts-jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
Bis 2004	72.000,00	36.813,00	24.900,00	133.713,00
2005	33.600,00	12.000,00		45.600,00
2006	33.600,00	12.000,00		45.600,00
2007	33.600,00	12.000,00		45.600,00
Summe	172.800,00	72.813,00	24.900,00	270.513,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbei- ters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Ein- richtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgelt- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Schilling, Tom; Dr. med. Eder, Claudia; PD Dr. rer. nat.	Physiologie Physiologie	Institut für Physiologie Institut für Physiologie	01/2005- 12/2007 07/1995- 12/2007	
nichtwissen- schaftl. Personal					
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)					
nichtwissen- schaftl. Personal	Akhionbare, Itohan		Institut für Physiologie	01/2005- 12/2007	Vc

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 C 10

4.1.1 Titel:

Kommunikation von Mikrogliazellen mit Astrozyten und Neuronen

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Neurowissenschaften

4.1.3 Leiterin oder Leiter:

Prof. Dr. Helmut Kettenmann
 Leiter der Forschungsgruppe Zelluläre Neurowissenschaften
 Geburtsdatum: 12.01.1955

Dienstanschrift:
 Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC)
 Zelluläre Neurowissenschaften
 Robert-Rössle-Str. 10
 13092 Berlin-Buch

Tel.: 030 9406 3325
 FAX: 030 9406 3819
 e-mail: kettenmann@mdc-berlin.de

Privatadresse:
 Gutenfelsstraße 21
 13129 Berlin
 Tel.: 030 474 3706

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

Microglial cells are the brain's intrinsic immune cells and serve as pathologic sensors in the brain since any type of injury or pathologic process leads to a transformation of these cells from a resting state to an activated form. This transition occurs within hours and causes a dramatic change in appearance; microglia change their highly branched, ramified morphology, retract their processes and eventually transform into an ameboid-looking cell in response to injury. The activated microglial cell can then actively migrate to the site of injury, proliferate and release a number of substances that affect the pathologic process. These include proinflammatory cytokines such as tumor necrosis factor α (TNF- α , interleukin-6 (IL-6) or interleukin-12 (IL-12), signals for the invading T-lymphocytes. Microglia are the antigen-presenting cells of the central nervous system and interact with invading immune cells via the major histocompatibility complex type-2 (MHCII) which then initiates an immune response. MHCII is expressed only in the activated microglial cells and we know little about the factors that initiate this activation or direct microglial cells to the site of injury. A number of recent studies have indicated that microglial cells not only express receptors for cytokines or chemokines, but also for classical neurotransmitters. Besides the receptors described in our group, AMPA/kainate type glutamate receptors have been characterized by Mami Noda's group in Fukuoka, Japan. They also report that glutamate or kainate both ligands for AMPA receptors, can trigger TNF α release. As demonstrated by immunohistochemistry, microglia upregulate the NR1 subunit of the NMDA receptor as well as AMPA GluR4 subunit in response to transient forebrain ischaemia (Gottlieb and Matute 1997), suggesting that microglial activation may allow plastic changes in ionotropic glutamate receptor expression. However, the expression of functional NMDA receptors have not yet been reported.

Metabotropic glutamate receptors have been studied by Jennifer Pocock's group in London, UK. Stimulation of group II mGluR on microglia can induce microglial stress (Kingham and Pocock 2000; Taylor et

C10 Kettenmann

al., 2002). Microglial stress can be induced by the peptide chromogranin A (CGA) or amyloid beta peptide 25-35 ($A\beta_{25-35}$), both of which are major components of Alzheimer plaques and implicated in microglial-driven neurotoxic cascades in Alzheimer's disease. CGA- or $A\beta_{25-35}$ -induced microglial stress can be inhibited by antagonists of group II mGluRs or agonists of group III mGluRs and indicates the involvement of microglial mGluRs in microglial apoptosis (Kingham et al., 1999; Taylor et al., 2003). These data also show that stimuli such as CGA and $A\beta_{25-35}$ cause the release of glutamate from microglia in such levels as to allow feedback activation of microglial mGluRs. CGA and $A\beta$ peptides have been shown to induce microglial glutamate release via the cystine-glutamate antiporter X_c^- transporter (Kingham et al., 1999; Qin et al., 2006) and inhibition of this transporter inhibits CGA induced microglial neurotoxicity (Kingham et al., 1999).

Moreover, bradykinin receptors have recently been identified by Noda's group in collaboration with us. These receptors control migration of microglia and attenuated LPS-induced release of TNF- α and IL-1 β , thus acting as anti-inflammatory mediators.

Reviews and cited literature:

- M. Gottlieb and C. Matute, Expression of ionotropic glutamate receptor subunits in glial cells of the hippocampal CA1 area following transient forebrain ischaemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 17 (1997), pp. 290-300
- Noda, M., Kettenmann, H. and Wada, K. (2006) Antiinflammatory effects of kinins via microglia in the central nervous system, *Biol. Chem.* 387:167-171
- Färber K., and Kettenmann H. (2005) Physiology of microglial cells, *Brain Res. Rev.* 48: 133–143. Färber K, and Kettenmann H (2006) Purinergic signaling and microglia. *Pflugers Arch.* 452(5):615-621.
- Färber, K., and Kettenmann H. (2006) Functional Role of Calcium Signals for Microglial Function, *Glia* 54:656-665.
- Kettenmann H. (2006) Triggering the brain's pathologic sensor, *Nat. Neurosci* 9: 1463-1464.
- Kettenmann H. and Steinhäuser C. (2005) Receptors for neurotransmitters and hormones In: Kettenmann H. and Ransom B. R. (eds.) (2005) *Neuroglia*, Second edition. Oxford University Press. New-York.
- P. J. Kingham et al., Apoptotic pathways mobilized in microglia and neurones as a consequence of chromogranin A-induced microglial activation. *J. Neurochem.* 73 (1999), 538-547.
- P. J. Kingham and J. M. Pocock, (2000) Microglial apoptosis induced by chromogranin A is mediated by a mitochondrial depolarisation and the permeability transition but not by cytochrome c release. *J. Neurochem.* 74, pp. 1452-1462.
- Möller T. (2002) Calcium signaling in microglial cells. *Glia*, 40: 184-194
- Nakajima K. and Kohsaka S. (2005) Response of microglia to brain injury In: Kettenmann H. and Ransom B. R. (eds.) (2005) *Neuroglia*, Second edition. Oxford University Press. New-York.
- Qin, S. Colin, C. Hinnens, I. Gervais, A. Cheret, C. and Mallat M. (2006) System X_c^- and apolipoprotein E expressed by microglia have opposite effects on the neurotoxicity of amyloid-beta peptide 1-40. *J. Neurosci.* 26, pp. 3345-3356.
- Streit J. (2005) Microglial cells In: Kettenmann H. and Ransom B. R. (eds.) (2005) *Neuroglia*, Second edition. Oxford University Press. New-York.
- Taylor D. L., Diemel L. T. and Pocock J. M. (2003) Activation of microglial group III metabotropic glutamate receptors protects neurons against microglial neurotoxicity. *J. Neurosci.* 15, pp. 2150-2160.

Preliminary work by this research group

Microglial cells are the major immunocompetent cells in the brain and express many features of monocytes. This includes signalling cascades well described in the immune system involving chemokines and cytokines and their receptor systems. We have recently developed an *in situ* model which allows to study the physiological responses of resting and activated microglia. This enabled us to characterize the functional receptors and the physiological phenotype of microglia *in situ*. An important step was the identification of the microglial cells in the acutely isolated slices. We used live slices labelling with tomato lectin

and this procedure allowed us to record membrane currents from identified microglia in a slice preparation (Boucsein et al., 2000).

GABA receptors in microglia modulate IL-6 release

GABA (γ -aminobutyric acid) can act as a neuroprotective agent besides its well established role as the main inhibitory neurotransmitter in the CNS. We found that microglial cells express GABA_B receptors indicating that these prominent immunocompetent cells in the brain are a target for GABA. Agonists of GABA_B receptors triggered the induction of K⁺ conductance in microglial cells from acute brain slices and in culture. Both subunits of GABA_B receptors were identified in cultured microglia by Western blot analysis and immunocytochemistry and were detected on a subpopulation of microglia *in situ* by immunohistochemistry. In response to facial nerve axotomy, we observed an increase in GABA_B receptor expressing microglial cells in the facial nucleus. We activated microglial cells in culture with lipopolysaccharide to induce the release of IL-6 and IL-12p40. This release activity was attenuated by simultaneous activation of the GABA_B receptors indicating that GABA can modulate the microglial immune response (Kuhn et al., 2004).

Dopamine and noradrenaline control distinct functions in rodent microglial cells

We found that mouse and rat microglia express functional dopamine receptors in culture and brain slices. Using the patch clamp technique as the functional assay we identified D₁- and D₂-like dopamine receptors using subtype-specific ligands. They triggered the inhibition of the constitutive potassium inward rectifier and activated potassium outward currents in a subpopulation of microglia. Chronic dopamine receptor stimulation enhanced migratory activity and attenuated the lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) release similar as by stimulation of adrenergic receptors. While, however, noradrenaline attenuated the LPS-induced release of TNF- α and IL-6, dopamine was ineffective in modulating this response. We conclude that microglia express dopamine receptors which are distinct in function from adrenergic receptors (Färber et al., 2005).

The potassium channels Kv1.5 and Kv1.3 modulate distinct functions of microglia

Activation of microglia by LPS leads to an induction of cytokine and NO release, reduced proliferation and increased outward K⁺ conductance, the latter involving the activation of Kv1.5 and Kv1.3 channels. We studied the role of these channels for microglial function using two strategies to interfere with channel expression, a Kv1.5 knockout (Kv1.5^{-/-}) mouse and an antisense oligonucleotide (AO) approach. The LPS-induced NO release was reduced by AO Kv1.5 and completely absent in the Kv1.5^{-/-} animal; the AO Kv1.3 had no effect. In contrast, proliferation was augmented with both, loss of Kv1.3 or Kv1.5 channel expression. After facial nerve lesion, proliferation rate was higher in Kv1.5^{-/-} animals as compared to wildtype. Patch clamp experiments confirmed the reduction of the LPS induced outward current amplitude in Kv1.5^{-/-} microglia as well as in Kv1.5 or Kv1.3 AO treated cells. Our study indicates that induction of K⁺ channel expression is a prerequisite for the full functional spectrum of microglial activation (Pannasch et al., 2006).

Serotonin receptors modulate IL-6 induced microglial migration

Using the patch-clamp technique, we identified functional serotonin receptors in microglial cells. So far, we found no effect of serotonin on the release of IL-6, IL-12, KC, MIP-1 α , TNF- α or nitric oxide. We found, however, that serotonin affected the IL-6 induced migration in microglial cells. In the presence of serotonin, the stimulating effect of IL-6 was abrogated; under this paradigm microglial migration was even below baseline. In contrast, ATP-triggered migration was not affected by coincubation with serotonin.

We also found that the anti-depressant drug citalopram, which increases the brain serotonin level, attenuated experimental glioma growth and improved survival. This effect of serotonin required the presence of microglial cells. Indeed, we could identify serotonin receptors on microglia from human glioma resection. Since glioma attracts microglia by release of IL-6, serotonin receptor activation blocked this chemoattraction of microglia. Consistently, microglial cells accumulate less around glioma in the presence of citalopram. Since the presence of microglial cells promotes tumor growth, their reduced recruitment due to the anti-depressive drug could be a new avenue for glioma therapy (Färber et al., submitted a).

C10 Kettenmann

Purinergic receptors control migration and cytokine release

Microglial cells express a variety of purinergic receptors and we could also identify functional receptors in microglial cells from brain slices (Boucein et al., 2003). We also found that purinergic receptors modulate IL-6, IL-12, TNF- α and MIP-1 α release. As reported by Shinishi Kohsakas group, microglial cells migrate in response to ATP and ADP. We recently found that inhibition of adenosine receptors impairs ATP triggered microglial migration. *cd39*/NTPDase1, is an ectonucleotidase that is chiefly responsible for catalysis of ATP to AMP and this enzyme is prominently expressed in microglia. In *cd39* null microglia, ATP fails to stimulate migration. The effects of ATP on *cd39* null cell migration can be restored by reconstitution with apyrase (a soluble ectonucleotidase), or by co-stimulation with adenosine (or serotonin). These data suggest that the co-stimulation of P2 and adenosine (or serotonin) receptors is a requirement for microglial migration. Using patch-clamp techniques, we detect functional P2Y and P2X purinergic receptors in *cd39* null microglial cells, indicating differential P2-reactivity in mutant cells. Moreover, we studied the response of microglia after transient occlusion of the middle cerebral artery in vivo. The *cd39* null mice exhibited larger ischemic brain lesions and the density of microglial cells in the penumbra was decreased when compared to controls. We conclude that microglial expression of *cd39* regulates microglial migration by the coordinated phosphohydrolysis of extracellular nucleotides and thereby influences evolution of ischemic brain lesions (Färber et al., submitted b).

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- Boucein C., Kettenmann H. and Nolte C. (2000) Electrophysiological properties of microglial cells in normal and pathologic rat brain slices. *Eur. J. Neurosci.*, 12: 2049-2058.
- Rappert A., Biber K., Nolte C., Lipp M., Schubel A., Bao L., Gerard N. P., Gerard C., Boddeke H. W. G. M. and Kettenmann H. (2002) Secondary lymphoid tissue chemokine (CCL21) activates CXCR3 to trigger a Cl current and chemotaxis in murine microglia. *J. Immunol.* 168: 3221-3226.
- Boucein C., Zacharias R., Färber K., Pavlovic S., Hanisch U.-K. and Kettenmann H. (2003) Purinergic receptors on microglial cells: functional expression in acute brain slices and modulation of microglial activation in vitro. *Eur. J. Neurosci.*, 17: 2267-2276.
- Hoffmann A., Kann O., Ohlemeyer C., Hanisch U.-K. and Kettenmann H. (2003) Elevation of basal intracellular calcium as a central element in the activation of brain macrophages (microglia): suppression of receptor-evoked calcium signalling and control of release function, *J. Neurosci.* 23: 4410-4419.
- Kuhn S. A., van Landeghem F. K., Zacharias R., Faerber, K., Rappert A., Pavlovic S., Hoffmann A., Nolte C., and Kettenmann H. (2004) Microglia express GABA(B) receptors to modulate interleukin release. *Mol. Cell. Neurosci.* 25: 312-22.
- Rappert A., Bechmann I., Pivneva T., Mahlo J., Nitsch R., Biber K., Nolte C., Kovac A.D., Gerard C., Boddeke H.W.G.M. and Kettenmann H. (2004) Microglial migration depends on chemokine receptor CXCR3 signaling after brain lesion in vivo, *J. Neurosci.*, 24: 8500-8509.
- Färber K., and Kettenmann H. (2005) Physiology of microglial cells, *Brain Res. Rev.* 48: 133– 143.
- Färber, K. Pannasch U. and Kettenmann H. (2005) Dopamine and noradrenaline control distinct functions in rodent microglial cells, *Mol. Cell Neurosci*, 29:128-138.
- Hoffmann A., Kann O., Ohlemeyer C., Hanisch U.-K. and Kettenmann H. (2003) Elevation of basal intracellular calcium as a central element in the activation of brain macrophages (microglia): suppression of receptor-evoked calcium signaling and control of release function. *J. Neurosci.* 23: 4410-4419.
- Hanisch U.-K., van Rossum D., Xie Y., Gast K., Misselwitz R., Auriola S., Goldsteins G., Koistinaho J., Kettenmann H. and Möller T. (2004) The microglia-activating potential of thrombin: the protease is not involved in the induction of proinflammatory cytokines and chemokines. *J. Biol. Chem.*, 279(50): 51880-51887.
- Kann O., Hoffmann A., Schumann R.R., Weber J.R., Kettenmann H. and Hanisch U.-K. (2004) The tyrosine kinase inhibitor AG126 restores receptor signaling and blocks release functions in activated microglia (brain macrophages) by preventing a chronic rise in the intracellular calcium level. *J. Neurochem.* 90: 513-525.

- Kraft R., Grimm C., Grosse K., Hoffmann A., Sauerbruch S., Kettenmann H., Schultz G., Harteneck C. (2004) Hydrogen peroxide and ADP-ribose induce TRPM2-mediated calcium influx and cation currents in microglia. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 286: C129-C137.
- Kuhn S.A., van Landeghem F.K.H., Zacharias R., Färber K., Rappert A., Pavlovic S., Hoffmann A., Nolte C. and Kettenmann H. (2004) Microglia express GABA_B receptors to modulate interleukin release. *Mol. Cell. Neurosci.* 25: 312-322.
- Markovic D., Glass R., Synowitz, M. and Kettenmann H. (2005) Microglia stimulate the invasiveness of glioma cells by increasing the activity of metalloprotease-2, *J. Neuropath. Experimental Neurology*, 64: 754-762.
- Synowitz M., Glass R., Faerber K, Markovic D, Kronenberg G., Herrmann K., Schnermann J., Nolte C., van Rooijen N., Kiwit J., and Kettenmann H. (2006) A1 Adenosine Receptors in Microglia Control Glioblastoma-Host Interaction. *Cancer Res* 66: 8550-8557.
- Pannasch U., Färber K., Nolte C., Blonski M., Yan Chiu S., Messing A. and Kettenmann H. (2006) The potassium channels Kv1.5 and Kv1.3 modulate distinct functions of microglia. *MCN* 33:401-411.
- Sliwa M., Markovic D., Gabrusiewicz K., Synowitz M., Glass R., Zawadzka M., Wesolowska A., Kettenmann H., and Kaminska B. (2006) The invasion promoting effect of microglia on glioblastoma cells is inhibited by cyclosporine A. *Brain* 2006; doi:10.1093/brain/awl263
- Noda M, Kariura Y, Pannasch U, Nishikawa K, Wang L, Seike T, Ifuku M, Kosai Y, Wang B, Nolte C, Aoki S, Kettenmann H, Wada K. (2007) Neuroprotective role of bradykinin because of the attenuation of pro-inflammatory cytokine release from activated microglia. *J Neurochem.* 101:397-410.
- Färber K., Synowitz M., Pannasch U., Kronenberg G., Markovic D.S., van Rooijen N., Engels B., Uckert W., Glass R., Bhagat C., Bader M., Endres M., Kettenmann H. Reduction of glioma growth by serotonin effects on microglial cells, submitted for publication.
- Färber K., Markworth S., Pannasch U., Prinz V., Kronenberg G., Gertz K, Endres M, Enyoji K, Robson S.C., Kettenmann H. The ectonucleotidase *cd39/ENTPDase1* modulates purinergic-mediated microglial migration , submitted for publication.

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 01/2005 bis 12/2007 gefördert.

Haushalts-jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
2005	55.200,00	13.600,00		68.800,00
2006	55.200,00	13.600,00		68.800,00
2007	55.200,00	13.600,00		68.800,00
Summe	165.600,00	40.800,00		206.400,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mi- tarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Ein- richtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Entgeltgruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Helmut Kettenmann, Prof. Dr.	Neurobiologie	MDC	7/1995- 12/2007	
nichtwissen- schaftl. Personal	Horst Kagelmaker Irene Haupt		MDC MDC	01/1998- 12/2005 01/2005- 12/2007	
Ergänzungsausstattung					
wissenschaftl. Personal (einschl. Hilfs- kräfte)	Katrin Färber, Dr. Brigitte Haas Joo-Hee Wälzlein Jochen Müller Bruno Benedetti Giselle Cheung Larisa Bulavina	Neurobiologie	MDC MDC MDC MDC MDC MDC MDC	01/2005- 07/2005 01/2006- 05/2006 12/2005 01/2007- 05/2007 01/2006- 12/2007 09/2007- 12/2007 11/2007- 12/2007 09/2007- 12/2007	Ila TVöD EO 14/2 Ila/2 TVöD EO 14/2 TVöD EO 14/2 TVöD EO 13/1 TVöD EO 13/1 TVöD EO 13/1
nichtwissen- schaftl. Personal					

4.1 Allgemeine Angaben zum beendeten Teilprojekt SFB 507 C12

4.1.1 Titel:

The role of blood-brain barrier disruption in cerebral cortex dysfunction

4.1.2 Fachgebiete und Arbeitsrichtung:

Neurophysiologie

4.1.3 Leiter/in:

Friedman Alon MD PhD
 9.10.1964
 Zlotowski Center for Neuroscience
 Ben Gurion University
 Beersheva Israel
 Telefon: 00972 8 64 00 893
 Telefax: 00972 8 64 00 896
 E-Mail: Alonf@bgu.ac.il

Heinemann Uwe Prof. Dr. med.
 17.02.1944
 Inst. Neurophysiology
 Charité Universitätsmedizin Berlin
 10117 Berlin, Germany
 0049 30 450 52 81 52
 0049 30 450 52 89 62
 uwe.heinemann@charite.de

4.2 Bericht über die Entwicklung des Teilprojekts

4.2.1 Bericht

4.2.1.1 Introduction

Epilepsy, affecting 0.5-2% of the population worldwide, is one of the most common neurological disorders. While the characteristic electrical activity in the epileptic cortex has been extensively studied, the mechanisms underlying epileptogenesis are still poorly understood. Focal neocortical epilepsy often develops following traumatic, ischemic or infectious brain injury. Under these conditions, vasculature damage is common and includes a local compromise of the blood-brain barrier (BBB; Abbott et al., 2006; Tomkins et al., 2001; Neuwelt, 2004). Ultrastructural studies of human epileptic tissue demonstrating increased micropinocytosis and fewer mitochondria in endothelial cells, a thickening of the basal membrane, and abnormal tight junctions further support the notion of lasting BBB dysfunction in at least some forms of epilepsy (Cornford and Oldendorf, 1986 ;Cornford, 1999 ;Kasantikul et al., 1983). Indeed, clinical and animal studies showed that vascular damage and, specifically, opening of the BBB is often observed in epileptic brain regions, but was generally believed to result from the seizure activity, rather than contribute to its generation (Cornford, 1999). However, conversely to that option, we have observed in some post-traumatic patients a long lasting BBB opening corresponding to abnormal cortical function as revealed by electroencephalographic (EEG) analyses (Korn et al., 2005). These observations led us to hypothesize that BBB dysfunction may have a direct role in the pathogenesis of epilepsy. Supporting this hypothesis of primary BBB lesions as an initial event leading to neocortical epilepsy, we demonstrated that opening of the BBB in the rat somatosensory cortex exposes the secluded brain microenvironment to serum components, resulting in the delayed development of epileptiform activity (Seiffert et al., 2004). However, the mechanisms underlying cortical dysfunction following BBB injury are unknown. Under this grant we have set out to elucidate these mechanisms, in an animal model of BBB disruption. Experimental evidence suggests that astrocytes display modified properties in epileptic tissue from human and animal (Pollen and Trachtenberg, 1970; Bordey and Sontheimer, 1998; Hinterkeuser et al., 2000; Jauch et

al., 2002; Eid et al., 2005) and are likely to play a key role in the pathogenesis of epilepsy (Seiffert et al., 2006). Since astrocytes are known to be contributors to BBB formation (Ballabh et al., 2004) and enhanced immunolabeling against the astrocytic marker, glial fibrillary acidic protein (GFAP), is observed to follow a breach in the integrity of the BBB (Seiffert et al., 2004), we hypothesized that these cells may play a role in epileptogenesis after BBB disruption.

In this study, we investigated the mechanisms underlying epileptogenesis induced by BBB opening and the short and long-term consequences of BBB breakdown on cortical structure and function. Parallel clinical study suggest that BBB breakdown is common in the cerebral cortex of patients following mild head trauma, is associated with cortical dysfunction and is more frequent in patients with post-traumatic epilepsy.

4.2.1.2 TGF- β receptor mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis (for more details see *Ivens et al., Brain, 130:535-47, 2007*)

In order to study the consequences of an open BBB on brain function, we employed an established in-vivo model of disturbing BBB using deoxycholic acid sodium salt (DOC). Using this model we produce a localized, highly reproducible perturbation in the BBB by opening a cranial window over the somatosensory region through which the exposed cortex is superfused with DOC solution (2 mM) for 30 min. In-vivo MRI obtained 24 h after exposure to DOC confirmed BBB opening by showing local enhancement of the T1 signal following injection of Gd-DTPA. The MRI images also demonstrated that there was no penetrating injury or significant intracortical bleeding due to the treatment, supporting previous histological analyses (Seiffert et al., 2004). Treatment with either DOC or bovine serum albumin (BSA) induced indistinguishable hypersynchronized epileptiform activity in the treated region. In BSA and in DOC treated brains, evoked, "early", short latency responses, were followed by long-lasting paroxysmal field potentials that could be evoked in the entire treated region (~3–5 mm). The paroxysmal prolonged activity was propagating along a wide cortical area within the treated region. Clear epileptiform activity was recorded in 72% of slices (DOC: n = 100 out of 139, BSA: 36 out of 50 slices) from over 90% of the treated rats (DOC: n = 47 of 51, BSA: 12 of 13 rats), but in only 9.1% of slices (2 of 22) from sham-operated rats (1 of 7) and in 16.3% of slices (8 of 49) from the non-treated contralateral hemisphere of treated rats (6 of 19 animals, Pearson Chi-square, $p < 0.001$). These findings point to reorganization of the BBB-disrupted cortex in a manner similar to the chronically injured (Prince and Tseng, 1993), under cut (Hoffman et al., 1994), or maldeveloped cortex (Jacobs et al., 1996).

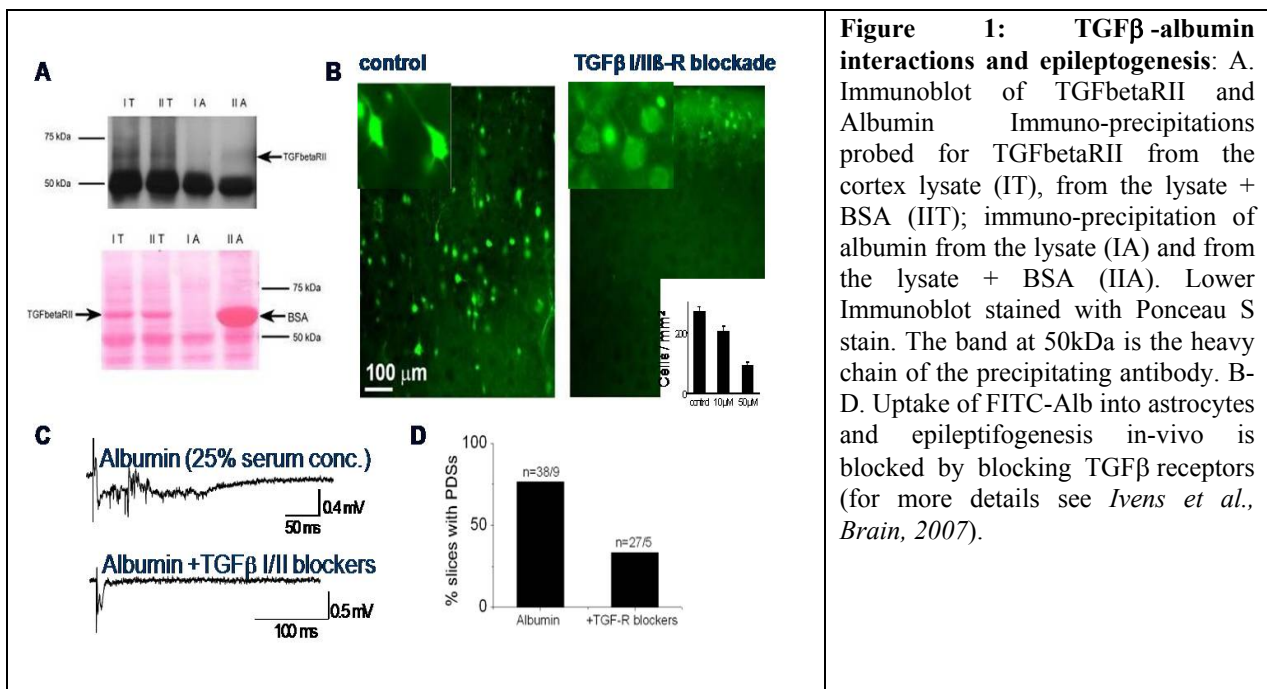
To confirm that our BBB opening protocol results in diffusion of serum albumin into the brain's extracellular space, we injected Evans-blue intra-peritoneally and then traced the BBB non-permeable albumin-Evans-blue complex in brain capillaries (Ehrlich, 1885; Friedman et al., 1996). While in control brains, fluorescence was limited to the intra-capillary space, after BBB opening, Evans-blue-albumin complex was observed around the capillaries. 6-8 hours post treatment, the albumin-dye complex was detected inside some cellular elements. To further explore the mechanisms underlying albumin uptake by brain cells, we directly exposed cortical slices to albumin labeled with FITC or biotin. Prominent intracellular staining was evident in the neocortex and hippocampus of all slices (242.2 ± 10.3 cells/mm², n = 269 windows from 50 sections, 10 slices). The number of stained cells increased during the first 40 min of exposure, during which staining clearly shifted from extra-nuclear sites (membrane and/or cytoplasm) to the nucleus. Many labeled cells exhibited processes that were directed towards blood vessels, resembling astrocytic end feet. In addition, labeled albumin was found in the cytoplasm (but not the nucleus) of other cells around blood vessels, probably perivascular cells. To control for the specificity of albumin uptake, slices were exposed to either FITC-dextran (70 kD), which has a molecular weight similar to that of albumin, or to ovalbumin labeled with Texas Red (45 kD). In the latter experiments, labeling was limited to the cytoplasm of perivascular cells and was never found in parenchymal. To identify the brain cells that take up FITC-albumin, immunohistochemical labeling for astrocytes and neurons was performed using antibodies directed against GFAP and MAP2 as markers, respectively. Confocal analysis of co-labeled cells revealed that most of the FITC-albumin-containing cells expressed GFAP, but none expressed MAP2. To test the nature of the uptake process a competition assay was performed in the presence of increasing amounts of non-labeled albumin in the bathing solution. FITC-albumin uptake was reduced in a dose-dependent manner as expected for a receptor-mediated process. Taken together, the selectivity of ligand uptake (albumin but not dextran and ovalbumin), the selectivity of cell-type uptake (astrocytes but not neurons), the sub-cellular localization of labeled albumin and the dose-dependency in the competition

assay strongly suggest that the process of albumin uptake into the brain cellular compartments is mediated via a specific receptor.

In the in-vitro brain slices, albumin uptake by astrocytes was faster and more efficient in comparison to that observed in the in-vivo paradigm. If albumin uptake has a role in the development of BBB dysfunction, we would expect that the induction of cortical dysfunction by albumin may also be accelerated in vitro. We tested this hypothesis by continuous recordings of population activity ($n = 26$) or single neuron responses ($n = 5$) to albumin wash-in (0.1 mM). Albumin wash-in for 1-3 h resulted in one slice (10%, $n = 10$) showing abnormal, paroxysmal responses. Exposure to albumin for 4-6 hours resulted in robust hypersynchronized, prolonged paroxysmal responses in 15 out of 16 slices. All control slices washed with ACSF for a similar time showed normal field potentials ($n = 5$).

The experiments described so far suggested that the rapid transport of albumin is receptor mediated and that this transport is followed by a delayed and robust change in network neuronal responses. TGF- β receptor type 2 (TGF- β R2) has been recently found to function as an albumin-binding protein in lung endothelial cells (Siddiqui et al., 2004). To test the possibility that TGF- β Rs mediate albumin uptake into brain astrocytes, we exposed cortical slices to either the TGF- β R type 1 (TGF- β R1) kinase activity inhibitor, SB431542, and/or to antibodies against TGF- β R2. SB431542 reduced the number of FITC-albumin-labeled-cells in a dose dependent manner. Similarly, in the presence of anti-TGF- β R2 antibodies, the number of labeled cells was reduced and the labeled fraction showed mainly membrane staining, with no nuclear staining. These findings suggest that the transport of albumin into cells is dependent on TGF- β Rs.

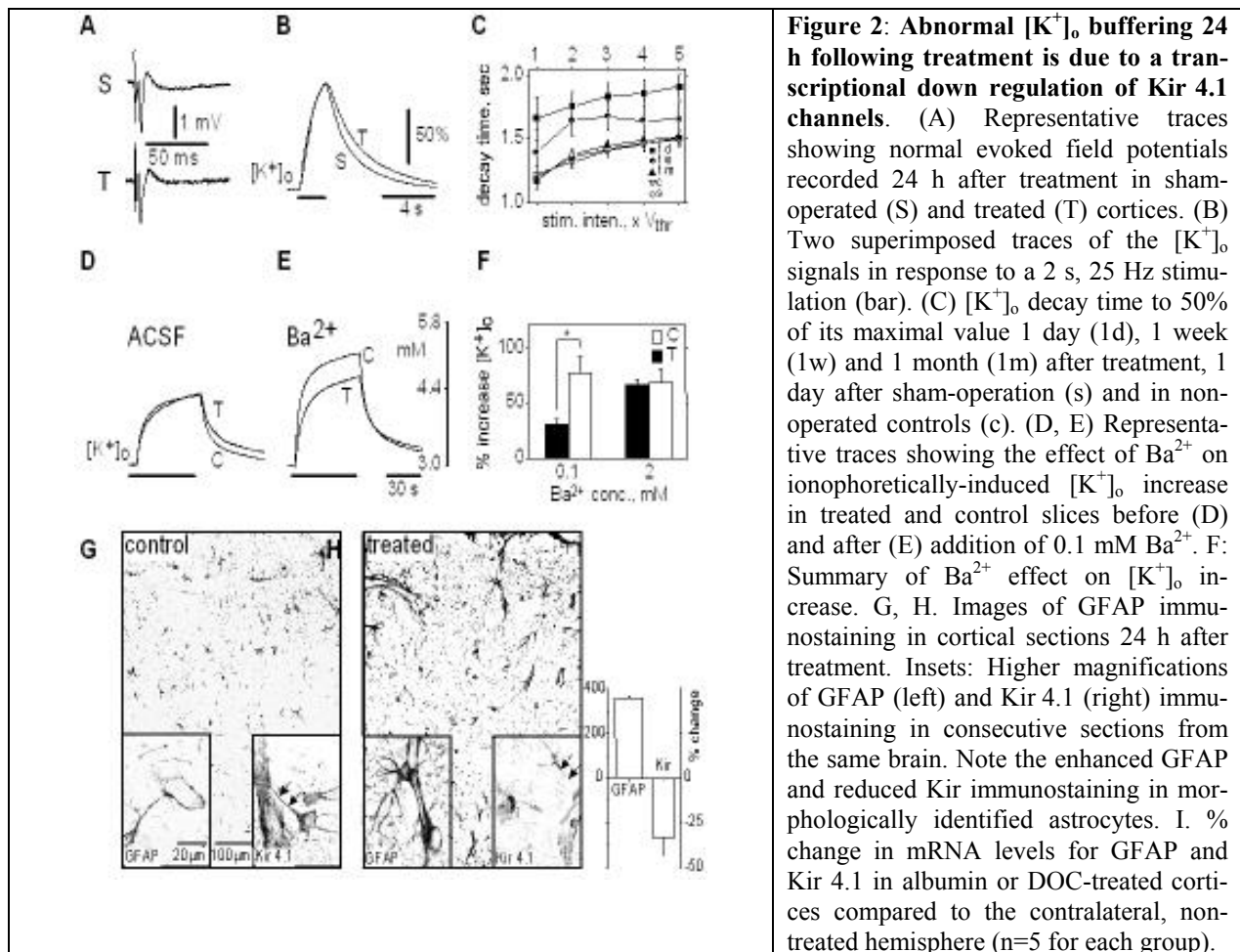
To probe the role of TGF- β Rs in the generation of abnormal electrophysiological responses, we exposed rat cortices in vivo to albumin in the presence and absence of TGF- β R antagonists. Extracellular recordings in vitro one week after treatment revealed paroxysmal activity in 76.3% of the slices from albumin-exposed rats as compared to 29.3% of the slices from rats exposed to both albumin and TGF- β R antagonists (45 of 59 slices, $n = 13$ animals compared with 12 of 41 slices, $n = 6$ animals, Pearson chi square $p < 0.001$). Thus, the application of TGF- β R antagonists at the time of exposure of the brain environment to serum albumin effectively blocks the consequent generation of epileptiform activity (Fig. 1). These findings validate the involvement of TGF- β R-mediated albumin transport in the generation of abnormal brain activity following albumin exposure.



4.2.1.3 Extracellular buffering of K^+ is impaired during epileptogenesis

Previous studies of the injured cortex, the BBB-disrupted cortex and the albumin-exposed cortex all show a window of at least several days before epileptiform activity can be recorded (e.g. Hoffman et al., 1994; Seiffert et al., 2004). Within this period of epileptogenesis an astrocytic reaction is established, as shown by enhanced immunostaining against the GFAP. The pioneer works of Kuffler and Potter (1964) established that astrocytes control the brain's extracellular environment, particularly by buffering rises in $[K^+]_o$ during neuronal activity. Thus, we tested the hypothesis that during this window period of epileptogenesis, i.e., following treatment but prior to onset of epileptiform activity, $[K^+]_o$ buffering is impaired (Pollen and Trachtenberg, 1970; D'Ambrosio et al., 1999). Using ion sensitive microelectrodes (ISMEs), we measured changes in $[K^+]_o$ following neuronal activation 24 hours after BBB disruption. In all slices, a low frequency (20 s interval) stimulation of the white matter showed normal field responses for treated animals similar to that recorded from sham and non-operated control rats, thus excluding epileptiform activity at this early stage. During repetitive stimulation (25 Hz, 2 s, one stimulation train), the rate of increase of $[K^+]_o$ and the maximal increase in $[K^+]_o$ were similar in treated and control brains. In contrast, the decay in $[K^+]_o$ was slightly, but significantly, slower in treated than in sham-operated or control slices. Interestingly, the reduced $[K^+]_o$ clearance following stimulation returned to control values within four weeks after treatment with DOC.

The reduced clearance of $[K^+]_o$ during epileptogenesis implied a down regulation of astrocytic K^+ channels. It has been demonstrated that the inwardly rectifying K^+ channels play a particularly important role in K^+ buffering (Ransom and Sontheimer, 1995; D'Ambrosio et al., 1999). We performed local K^+ application by ionophoresis and pharmacological manipulations to further explore the mechanisms underlying reduced $[K^+]_o$ clearance. We applied low (100 μ M) and high (2 mM) concentrations of Ba^{2+} to differentially block inward-rectifying K^+ currents (I_{KIR}) and leak K^+ currents (I_{KIL}), respectively (Ransom and Sontheimer, 1995; Jauch et al., 2002). These experiments indicate a reduction in I_{KIR} in the presence of normal I_{KIL} 24 h following treatment. Six hours of in-vitro exposure to serum albumin was similarly associated with a reduced effect of 100 μ M Ba^{2+} on ionophoretically induced increases in $[K^+]_o$. Since the Kir 4.1 channel has been shown to be expressed in cortical astrocytes, especially in the processes of astrocytes wrapping synapses and blood vessels (Higashi et al., 2001; Hibino et al., 2004), we performed immunostaining experiments to reveal Kir levels following treatment with DOC. Twenty-four hours after treatment, Kir 4.1 channel immunolabeling was markedly reduced, whereas GFAP labeling was enhanced. Furthermore, quantitative real-time RT-PCR showed significant higher GFAP and lower Kir 4.1 mRNA levels 14-48 hours following in-vivo exposure to either DOC or albumin. These accumulating results suggest an early transcriptional down regulation of Kir 4.1 channels, yielding a lower level of Kir 4.1 functional protein and resulting in reduced $[K^+]_o$ buffering (Fig. 2).



4.2.1.4 Blood-brain barrier disruption results in delayed functional and structural alterations in the rat neocortex (for more details see Tomkins et al., *Neurobiology of Disease*, 25:367-77, 2007).

To study delayed alterations in cortical structure and function following BBB breakdown, we performed morphological, electrophysiological and behavioral experiments on animals which underwent focal BBB disruption in the sensory-motor region (treated group), and 30 sham-operated animals (control group). In 3 out of 75 animals, multiple, spontaneous, partial seizures, with occasional secondary generalization, were noted 2-6 days after the operation. To study BBB permeability and gross anatomical characteristics of the treated cortical region we performed brain MRI scans on 13 anesthetized rats. MRI images excluded a penetrating injury or significant intracortical bleeding due to the operation. During the first two weeks after the treatment a focal increase in T2 signal and cortical volume was observed in all animals, suggesting local brain edema. Following contrast agent administration, the cortical signal was significantly enhanced in the treated compared to the contralateral hemisphere in the DOC- but not the sham- treated group. To differentiate between the early, short-term effect that might be related directly to the increased BBB permeability and long-term secondary changes, results were analyzed separately for two treated groups: an "early" (1-16 days post surgery) and a "late" (25-225 days) group.

To study gross anatomical alterations in the cortex of DOC-treated rats, we measured the cortical volume of the treated hemisphere using MRI images. In the early DOC-treated group (days 1-13 after treatment, n=5) while focal brain swelling was observed in the slices corresponding directly to the treated region no significant difference was noted in the overall cortical volume between the treated and contralateral hemispheres. However, in the late group (days 22-56 after treatment, n=4) the volume of the DOC-treated hemisphere (but not the sham-operated one) was found to be $10 \pm 0.56\%$ smaller compared to the non-treated contralateral one ($p=0.0001$, Fig. 4A). Next, we counted cell nuclei in 39 consecutive brain sections stained with hematoxylin from animals sacrificed 1 day (n=4), 1 week (n=4) and >1 month after treatment (n=5). The total cell count in the treated hemisphere had not changed at day one following treatment, but decreased by 6.93% at 1 week and by 10.89% 1 month after treatment. Immuno-labeling

for the neuronal marker MAP2 revealed a 29.64% reduction in the number of immuno-labeled neurons 1 month after treatment. The change in the number of inhibitory interneurons was tested by counting cells positively immuno-labeled for GAD. One month after DOC a significant decrease of 11.41 % in GAD positive neurons was found. In contrast, a 54.76 % increase was found in the number of GFAP positive labeled astrocytes. Focal injections of biocytin into 16 treated slices showed a prominent loss of dendrites in morphologically identified pyramidal neurons one month after treatment. These results indicate a loss of both principal cells and interneurons following BBB disruption.

To reveal whether these anatomical and electrophysiological changes carry any functional significance, animals motor functions were tested at different time points after surgery using a set of standardized tests. No significant differences were found in beam balancing, circle exit, seeking and reflex tests, between sham-operated and DOC treated rats. In the raised beam crossing test, in the early group (1-16 days post treatment) there was a tendency for higher failure rates in treated rats. In the late group (25-225 days following treatment), failure rates were significantly higher in the treated group on all tested beam widths. In addition, treated animals were significantly slower on all beam widths. Also, to test whether these results were due to general behavioral alterations rather than motor dysfunction, animals underwent an open field test (n=24). Statistically significant differences were found in motor related behavior parameters (i.e. movement time, frequency of rearing, and average distance moved). However no difference was found in the behavior related parameter (time spent near the margins of the open field). These results suggest that functional deficits in DOC-treated animals worsen with time, and seem to be restricted to activities related to sensory-motor functions

4.2.1.5 Blood-brain barrier disruption in patients with post-traumatic epilepsy (for more details see *Tomkins et al., JNNP 2007*).

Traumatic brain injury (TBI) is an important cause of focal epilepsy. As described above, our animal experiments indicate that disruption of the BBB plays a critical role in the pathogenesis of post-traumatic epilepsy (PTE). To investigate the frequency, extent and functional correlates of increased BBB permeability following mild TBI in epileptic PTE and non-epileptic controls brain imaging and EEG was performed in 32 patients, with 17 suffering from PTE. All underwent brain magnetic resonance imaging (bMRI) and were evaluated for BBB disruption, using novel quantitative techniques developed in our laboratory. Cortical dysfunction was measured using quantitative electroencephalographic electroencephalography (qEEG) recordings, and localized using standardized low resolution brain electromagnetic tomography (sLORETA). TBI patients displayed significant pathological qEEG slowing compared to controls. However, no significant differences were found between spectral qEEG analyses of qEEG from PTE and non-epileptic patients. While bMRI revealed that PTE patients were more likely to present with intracortical lesions ($p=0.02$), no relation to the size of the cortical lesion ($p=0.19$) was found. Increased BBB permeability was found in 76.9% of PTE patients compared to 33.3% of non-epileptic patients ($p=0.047$), and could be observed several years following the trauma. Cerebral cortex volume with BBB disruption was significantly larger in PTE patients ($p=0.001$). In 70% of patients, abnormally slow (delta band) activity was co-localized, by sLORETA, with regions showing BBB disruption. Our findings demonstrate that lasting BBB pathology is common in mild TBI patients, with increased frequency and extent in PTE patients, and a correlation between the region of disrupted BBB and abnormal neuronal activity is suggested (Fig. 3).

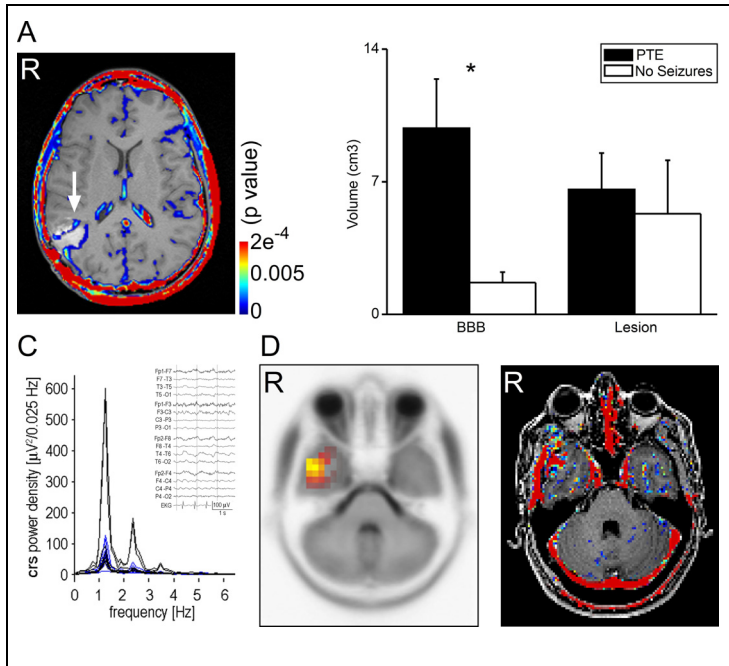


Figure 3: BBB disruption in post-traumatic epilepsy: (A) Statistically significant enhancement of T1 MRI scan in the region surrounding the cortical lesion in a patient, 10 days following the trauma. (B) Among PTE patients, the volume of BBB disruption was significantly larger than that of non-epileptic patients. (C) A 34-year-old PTE patient one month following mild TBI. Power spectrum (0.5-11 Hz) showing a marked increase in power at 1.125 Hz, taken from an EEG recording demonstrating abnormal slowing maximal at right frontal and temporal electrodes (inset). (D) sLORETA localizing the pathological signal to the anterior parts of the right middle temporal gyrus (Brodmann area 21, Left), and MRI signal enhancement indicating increased BBB permeability localized to the same region (Right). * = $p < 0.05$.

4.2.2 Liste der aus dem Teilprojekt seit der letzten Antragstellung entstandenen Publikationen

- **Referierte Veröffentlichungen**

1. Behrens, C.J., van den Boom L.P., De-Hoz, L., **Friedman, A.**, and **Heinemann U.** 2005, Induction of sharp wave-ripple complexes in vitro and reorganization of hippocampal networks. *Nat Neurosci.* 8:1560-7.
2. Benmoyal-Segal L, Vander T, Shifman S, Bryk B, Ebstein R, Marcus E, Shtassman J, Darvasi A, Herishanu Y, Friedman A and Soreq H., 2005, Acetylcholinesterase /Paraoxonase interactions increase the risk of insecticide-induced Parkinson's disease. *FASEB J.*, 19:452-4.
3. Zumsteg, D., **Friedman, A.**, Wennberg, R.A. and Wieser, H.G. 2005, Source localization of mesial temporal interictal epileptiform discharges: Correlation with intracranial foramen ovale electrode recordings. *Clin Neurophysiol.* 116:2810-8.
4. Zumsteg, D., **Friedman, A.**, Wieser, H.G and Wennberg, R.A. 2006, Source localization of interictal epileptiform discharges: Comparison of three different techniques to improve signal to noise ratio. *Clin Neurophysiol.* 117(3):562-71.
5. Brown, R.O., Benmoyal-Segal, L., Zumsteg, D., David, Y., Kofman, O., Berger, A., Soreq, H. and **Friedman, A.** 2006, Coding region paraoxonase polymorphisms dictate accentuated neuronal reactions in chronic, sub-threshold pesticide exposure. *FASEB J.* 20:1733-5.
6. Zumsteg, D., **Friedman, A.**, and Wennberg, R.A. 2006, Propagation of interictal discharges in temporal lobe epilepsy: Correlation of spatiotemporal mapping with intracranial foramen ovale electrode recordings. *Clinical Neurophysiology.* 117:2615-26.
7. Behrens CJ, van den Boom LP, **Heinemann U.** 2007. Effects of the GABA(A) receptor antagonists bicuculline and gabazine on stimulus-induced sharp wave-ripple complexes in adult rat hippocampus in vitro. *Eur J Neurosci.* 25:2170-81.
8. Tolner EA, Frahm C, Metzger R, Gorter JA, Witte OW, Lopes da Silva FH, **Heinemann U.** 2007. Synaptic responses in superficial layers of medial entorhinal cortex from rats with kainate-induced epilepsy. *Neurobiol Dis.* 26:419-38.
9. Ivens, S., Kaufer, D., Seiffert, E., Bechmann, I., Tomkins, O., **Heinemann, U.** and **Friedman, A.** 2007, TGF β receptor mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain*, 130:535-47.
10. Tomkins, O., Friedman, O., Ivens, S., Reiffurth C., Major, S., Dreier, J.P., **Heinemann, U.** and **Friedman, A.** 2007, Blood-brain barrier disruption results in delayed functional and structural alterations in the rat neocortex. *Neurobiology of Disease*, 25:367-77.
11. Lev Pavlovsky and **Alon Friedman.** 2007, Pathogenesis of Stress-Associated Skin Disorders: Exploring the Brain-Skin Axis. *Curr. Problems in Dermatology*, 35: 136-145.
12. **Alon Friedman**, Christoph J Behrens and Uwe Heinemann. 2007, Cholinergic Dysfunction in Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsia.* 48: 126-130.
13. O Tomkins, I Shelef, I Kaizerman, A Eliushin, Z Afawi, A Misk, M Gidon, A Cohen, D Zumsteg, **A Friedman.** Blood-Brain Barrier Disruption in Post-Traumatic Epilepsy. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry.* Published Online First (Epub ahead of print) 8 Nov 2007.
14. Cohen J. E., Zimmerman G., **Friedman A.**, Dori A. and Soreq H. 2008, Acetylcholinesterase impairs homeostasis in mouse hippocampal granule cells. *Hippocampus*, 18:182-92.
15. Randolph Klingebiel, **Alon Friedman**, Ilan Shelef and Jens P. Dreier. 2008, Focal cortical necrosis in a patient with high-grade ICA stenosis and status aurae migraenalis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 79:89-90.
16. Gabriel Zimmerman, Marleisje Njunting, Sebastian Ivens, Elsa Toner, Christopher J. Behrens, Miriam Gross, Hermona Soreq, Uwe Heinemann and **Alon Friedman**, Acetylcholine-Induced Seizure-like Activity and Cholinergic Modified Gene Expression in Chronically Epileptic Rats. *European Journal of Neuroscience*, in-press.
17. C.J. Behrens, A. Liotta, **A. Friedman.**, P. van den Boom, A. Draguhn and U. Heinemann. Cholinergic regulation of hippocampal network oscillations in vitro. *Submitted.*

4.3 Bewilligte Mittel für die laufende Förderperiode

Das Teilprojekt wurde im Sonderforschungsbereich von 01/2005 bis 12/ 2007 gefördert.

Haushalts- Jahr	Personalmittel	Sachmittel	Investitionsmittel	Gesamt
2005	52.800,00	13.200,00		66.000,00
2006	55.200,00	13.200,00		68.400,00
2007	55.200,00	13.200,00		68.400,00
Summe	163.200,00	39.600,00		202.800,00

4.3.1 Personal im Teilprojekt

	Name, akad. Grad, Dienststellung	engeres Fach des Mitarbeiters	Institut der Hochschule oder der außeruniv. Einrichtung	im SFB tätig von (Monat/ Jahr) bis (Monat/ Jahr)	Vergütungs- gruppe
Grundausrüstung					
wissenschaftl. Mitarbeiter (einschl. Hilfskräfte)	Heinemann Uwe Dr. med. Friedman A MD PhD.	Neurophysiologie Neurophysiologie	Neurophysiology Institute, Charité Physiology Department, Ben-Gurion Univ.		
nichtwissen- schaftl. Mitarbeiter					
Ergänzungsausrüstung					
wissenschaftl. Mitarbeiter (einschl. Hilfskräfte)	Orie Browne Tomkins Oren Cohen Jonathan Lev Pavlovsky Gnatek Yehudit	Neurophysiologie Neurophysiologie Neurophysiologie Neurophysiologie Neurophysiologie	Ben-Gurion Univ. Ben-Gurion Univ. Ben-Gurion Univ. Ben-Gurion Univ. Ben-Gurion Univ.	07/04 – 10/05 07/04 – 11/06 07/04 – 01/05 07/04 – 01/06 06/07 – 09/07	
nichtwissen- schaftl. Mitarbeiter	Drorit Saar Bitan Yifat Erez David		Ben-Gurion Univ. Ben-Gurion Univ. Ben-Gurion Univ.	09/04 – 12/04 01/05 – 08/07 01/06 – 08/07	

5 **Veranstungsverzeichnis**

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Khrantsov, V.V. Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Novosibirsk, Rußland	In-vitro and in-vivo studies of new donors and acceptors of nitric oxide: Possible pharmacological applications.	FMP	07.09.95	Blasig
M. Chrétien, Montreal	Processing of Neuropeptides	Charité	26.09.95	Einhäupl/ Dirnagl
A. Aguzzi, Zürich	Molekulare Pathogenese der Prionerkrankungen	Charité	27.09.95	Einhäupl
S. Noachtar, München	Fokale motorische Phänomene im epileptischen Anfall	Charité	06.11.95	Einhäupl/ Schmitz
W. Paulus, Göttingen	EEG-Quellenanalyse bei neurologischen Erkrankungen	Charité	04.12.95	Einhäupl/ Schmitz
A. Thron, Aachen	Diagnostik und therapeutische Perspektiven spinaler Gefäßmißbildungen	Charité	11.12.95	Einhäupl
Prof. Dr. E. Neher; Göttingen	Biophysikalische Aspekte der Transmitterfreisetzung in neuroendokrinen Zellen und Nervenendigungen.	Anatomie/Charité	03.01.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. D. Swandulla; Erlangen	Immunophilins as mediators of inflammation - a novel role for FK506-binding protein FKBP12.	Anatomie/Charité	10.01.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. Volker Schmieden; Frankfurt	Funktion und pharmakologisches Profil des inhibitorischen Glycinrezeptors und Modellierung seiner Ligandenbindung	Neurophysiologie Charité	12.01.96	Heinemann
Prof. Dr. U. Misgeld; Universität Heidelberg	GABA _A - and GABA _B receptor-mediated mechanisms in rat midbrain culture.	Anatomie/Charité	17.01.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
R. Dengler; MHH Hannover	Funtionelle Veränderungen motorischer Einheiten bei Motoneuron-Krankheiten	Neurologische Klinik	22.01.96	Einhäupl/ Dirnagl
Prof. Dr. B. Winblad; Karolinska Institutet, Huddinge,Sweden	Alzheimer's disease: Clinic, management and future treatments.	Anatomie/Charité	24.01.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
G. Curio; FU Berlin	Biophysikalische Grundlagen und klinische Perspektiven neuromagnetischer Meßtechnik	Neurologische Klinik	29.01.96	Einhäupl/ Dirnagl
Prof. Dr. U. Rapp; MSZ, Universität Würzburg	Rolle der Raf Kinasen bei Proliferation und Differenzierung.	Anatomie/Charité	31.01.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. Terlau; Göttingen	Aktivierung und Regulation heterologisch exprimierter Kaliumkanäle	Neurophysiologie, Charité	02.02.96	Heinemann
K. Poeck; RWTH Aachen	Tutorielle Expertensysteme in der Neurologie	Neurologische Klinik	05.02.96	Einhäupl/ Dirnagl

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Dr. T. Naumann; Universität Freiburg	Axotomie induzierte Veränderungen im Septumkomplex der Ratte: Welche Rolle spielt der neurotrophe Faktor NGF?	Anatomie/Charité	07.02.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
B.-U. Meyer; HU Berlin	Die diagnostische Erschließung des kallosalen motorischen Systems mit der transkraniellen magnetischen Kortextstimulation	Neurologische Klinik	12.02.96	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Dr. G. Schwach; Universität Göttingen	Subzelluläre Lokalisation und Regulation cAMP-abhängiger Proteinkinasen.	Anatomie/Charité	14.02.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Ulrich Müller	Analysis of integrin functions by molecular genetic approaches	MDC	19.02.96	Kettenmann
Symposion: Choi, Klockgether, Beyreuther, Hohlfeld	Impact of modern neuroscience on clinical neurology	Charité, Berlin	24.02.96	Einhäupl/Dirnagl
Pfriege, F., USA, Stanford	'Glial cells promote synapse formation between retinal ganglion cells in vitro'	MDC	26.02.96	Kettenmann
Symposion: Robert Nitsch und Thomas G. Ohm	"Entorhinal-Hippocampal interaction"	Anatomie/Charité	27.02.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. Rolf Klee; Berlin	Eigenschaften von K+-Strömen in akut isolierten hippocampalen Neuronen	Neurophysiologie, Charité	08.03.96	Heinemann
Laborseminar: Bildgebende Methoden zur Darstellung von Schadensmechanismen		Institut für Physiologie	01.04.96	
Prof. Dr. L. Szeress; University of Pecs, Hungary	Species differences of neuronal connections between rodents and primates.	Anatomie/Charité	03.04.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. J. Bockaert; CRNS, Montpellier, France	Glutamate metabotropic receptors — structure, function and transduction.	Anatomie/Charité	10.04.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. W. Grodd; Neuro-radiologische Abt., Radiol. Unikliniken, Tübingen	Volumenselektive Protonen-Spektroskopie des Gehirns.	Anatomie/Charité	17.04.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. D. Kömpf; Lübeck	Kortikale Organisation von Augenbewegungen	Neurologie	22.04.96	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Dr. B. Anderton; Institute of Psychiatry, London, U.K.	Molecular mechanisms of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease.	Anatomie/Charité	24.04.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Brust, Peter; Forschungszentrum Rosendorf	Regulation der Blut-Hirnschranke durch vasoaktive Faktoren.	FMP	25.04.96	Blasig
Prof. Trimble, Institute of Neurology, London, England	Clinical journey through the frontal lobe	Neurologische Klinik	29.04.96	Einhäupl/Dirnagl

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Prof. Faber	Biophysical basis of inhibition: Lessons from the Mauthner cell circuitry an from cultured synapses	Physiologie	02.05.96	Graduiertenkolleg
Prof. Dr. M. Lauritzen; Lab of Clinical Neurophysiology, Glostrup, DK	Pathophysiology of Migraine: The Spreading Depression Hypothesis	Anatomie/Charité	08.05.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Seega, Ludwigshafen	Stoke therapy with anrod: Preclinical MRI studies	Charité	09.05.96	Graduiertenkolleg
Dr. C. Kaltschmidt; Biochemisches Institut, Albert Ludwig Universität Freiburg	Signalcascades activating transcription factor NF-kB in the nervous system.	Anatomie/Charité	15.05.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. T. Sander; Neurologische Klinik	Molekulargenetische Befunde bei idiopathisch generalisierten Epilepsien	Neurologische Klinik	20.05.96	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Dr. S. File; Psychopharmacology Research Unit, London, UK	Psychopharmacology of Anxiolytics	Anatomie/Charité	22.05.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. H. Mourek; Karls Univ. Prag	Fettsäuren und Entwicklung des ZNS	Universitätsklinikum Charité, Forschungshaus	23.05.96	
Prof. O. Pongs; Zentrum f. Mol.Neuro-Biol.; Inst. f. Neurale Signalverarbeitung, Hamburg	Molecular biology of voltage gated K ⁺ channels	Physiologie	24.05.96	Graduiertenkolleg
PD Dr. H. Jarry; Frauenklinik, Abt. f. Klin. und Exp. Endokrinol., Göttingen	Neuroendokrinologische Regulationsprozesse im Hypothalamus.	Anatomie/Charité	29.05.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Symposion: Frahm, Freund, Turner, Flor, Birbaumer, Kleinschmidt, Thrans, Cohen	1st Berlin International Conference on Cortical Plasticity	Neurologische Klinik	01.06.96	Einhäupl u.a.
Prof. Dr. M. Dietrich; LMU München	Topische Hirnstammdiagnostik anhand von Augenbewegungsstörungen	Neurologische Klinik	03.06.96	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Dr. I. Soltesz; Anatomy and Neurobiol., Univ. of California, Irvine, U.S.A.	Functional Organization and Plasticity of Hippocampal GABAergic Inhibition.	Anatomie/Charité	05.06.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Uwe Drescher	Eph receptor tyrosine kinases and axonal guidance	MDC	05.06.96	Kettenmann
Prof. Wadman	Changes in properties of outward K ⁺ -channels in chronically induced epileptic tissue	Physiologie	07.06.96	Heinemann
Dr. Thomas Mittmann; Seattle, USA	Über die Ergebnisse zu bildgebenden Meßverfahren von Natrium-Konzentrationsänderungen in kortikalen Nervenzellen	Neurophysiologie, Charité	10.06.96	Heinemann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Prof. Dr. B. Nixon; Ralph Lowell Labs, Harvard Med. Sch. McLean Hosp. Belmont, USA	Proteolytic systems and vesicular trafficking in Alzheimer's disease.	Anatomie/Charité	12.06.96	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. O. Pongs; Zentrum für Mol. Neuro-biol., Inst. f. Neurale Signalverarb., Hamburg	Funktionelle Bedeutung Schnell Inaktivierender Kalium-Kanäle im ZNS der Säuger.	Anatomie/Charité	19.06.96	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Prof. Spudich; Houston, Texas, USA	Bacterial Phototaxis	Charité	21.06.96	Weber
Prof. Dr. John S. Kelly; Univ. Edinburgh	5-HT receptors in the central nervous system	Neurophysiologie Charité	24.06.96	Heinemann
Pico Caroni	Intrinsic determinants of neurite outgrowth and synaptic plasticity	MDC	26.06.96	Kettenmann
Prof. Dr. M Gratzl; Institut für Anatomie, TU München	Proteine des Exozytoseapparates endokriner Zellen.	Anatomie/Charité	26.06.96	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. H. D. Schmidt; Physiologie; FU Berlin	Adaptation isolierter Rattenherzen nach abrupter Änderung der Calcium-Konzentration: ein bisher unbekannter kardialer Regelmechanismus	Physiologie, FU Berlin	28.06.96	
Prof. Isaac Parnass, Prof. Hanna Parnass; Israel	Is the presynaptic autoreceptor the voltage sensor which regulates the time course of transmitter release in fast synapses?	Neurophysiologie, Charité	01.07.96	Heinemann
Dr. R. Banati; MCR Clinical Sciences Centre, London, U.K.	Imaging microglial activation in vivo.	Anatomie/Charité	03.07.96	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Prof. Galla; Münster	Lipid-Protein-Monoschichten an der Luft-Wasser-Grenzfläche als Modelle des alveolaren Lungensurfactants	Medizinische Physik und Biophysik, Charité	10.07.96	
Prof. Dr. D. N. Stephens, Lab. of Exp. Psychol., Univ. Sussex, Brighton, U.K.	A glutamatergic hypothesis of drug dependence.	Anatomie/Charité	10.07.96	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Herde, J., Univ. Halle	'Retinale Tumore - eine Standortbestimmung und neue Optionen in der Therapie'	Neurophysiologie	11.07.96	Heinemann
Symposium des Projektbereichs B: Rothe, Herde, Voges, Patt, Babrakakis, Wiestler, Westphal u.a.	„Physiologie und Beeinflussung glialer Tumore“	MDC	11.07.96	Kettenmann
Prof. Pepperberg; Chicago, USA	Lifetime of Rhodopsin	Charité	12.07.96	

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Martin Grumet	Multiple interactions of receptor protein tyrosine phosphatase b with neural cell adhesion molecules	MDC	03.08.96	Kettenmann
Bernarding, Berlin	NMR-Diffusions-Bildgebung des Gehirns	Charité	15.08.96	Einhäupl/ Villringer
Markus A. Ruegg	The role of agrin and its binding proteins in synapse formation	MDC	21.08.96	Kettenmann
Symposion: Aguzzi, Brandner, Klein, Raeber	Prion Diseases	Charité	27.08.96	
Stavrou, Hamburg	Monoklonale Antikörper gegen gliomassoziierte Antigene	Charité	29.08.96	
Peter Sonderegger	Neuroserpin, a neuron-specific axonally secreted serine protease inhibitor	MDC	11.09.96	Kettenmann
Peter Sonderegger	NgCAM and axonin-1 as components of the pathway sensor apparatus of growth cones	MDC	12.09.96	Kettenmann
Jonathan A. Raper	Repellent cues and growth cone guidance	MDC	16.09.96	Kettenmann
Lückermann, Göttingen	Ca ²⁺ -abhängige intrazelluläre pH-Änderungen in hippocampalen CA1 Neuronen in vitro	Physiologie	17.09.96	Graduiertenkolleg
Dr. Stanewsky; Waltham, USA	Luciferase as a new reporter to study circadian rhythms in living Drosophila individuals	Neurophysiologie, Charité	23.09.96	Heinemann
Dr. Johannes Bernarding, Berlin	Diffusionswichtende Bildgebung beim Hirninfarkt	Neurologische Klinik	26.09.96	Einhäupl/ Dirnagl
Symposion	Calcium Signalling	MDC	28.09.96	Kettenmann
Symposion: Einhäupl, VillringerArnold, Lempert, Weber, Harms, Zschenderlein, Egert, Schielke	"State of the Art" in der neurologischen Therapie.	Neurologische Klinik	01.10.96	Einhäupl u.a.
Prof. A. Marty	Synaptic transmission in the cerebellum	MDC	02.10.96	Kettenmann
Prof. Joel Yaari; Israel	Functional and structural changes in synaptic NMDA receptors in the developing hippocampus	Neurophysiologie, Charité	09.10.96	Heinemann
	Egsdorf-Symposion des Graduiertenkollegs		18.10.96	Graduiertenkolleg
Jürgen Behrens	The E-cadherin/catenin complex in cell adhesion and signal transduction	MDC	23.10.96	Kettenmann
Dr. Elisabeth Koss; Cleveland University	Alzheimer's Disease from a Neuropsychological Perspective	Neurologische Klinik	29.10.96	Einhäupl/ Dirnagl
Prof. Sakmar; New York, USA	Visual Transduction	Charité	30.10.96	Einhäupl/ Villringer

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Prof. Dr. Wolf	Reflex-Epilepsien	Virchow, Berlin	31.10.96	Einhäupl/ Schmitz
Llano, I., Göttingen, MPI	„Ca- Imaging in cerebellar slices“	Physiologie, Charité	01.11.96	Heinemann
Meeting der neurowissenschaftlichen Forschungsgruppen am MDC		Bogensee	01.11.96	Kettenmann
Robert A. Weinberg, USA	Berlin Lecture on Molecular Medicine 1996: Cyclin and the control of the cell cycle	MDC	07.11.96	Kettenmann
Khramtsov, V.V.; Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Novosibirsk, Rußland	The role of nitric oxide in stress-induced hypertension and in the regulation of mitochondrial permeability transitions.	FMP	07.11.96	Blasig
Symposion des Projektbereich C: Beyreuther, Hamprecht, Lassmann u. a.	Funktionen nicht-neuronaler Zellen bei degenerativen und regenerativen Prozessen im Zentralnervensystem	Anatomie/Charité	08.11.96	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. T. Lempert; Berlin	Otolithen-Erkrankungen und Schwindel	Neurologische Klinik	11.11.96	Einhäupl
Prof. McGeer	Immune response of the brain	Charité	13.11.96	Dirnagl/Volk
Dr. H. Meierkord	Optische Messung epileptischer Aktivität	Virchow, Berlin	14.11.96	Einhäupl
PD M. Schabet; Tübingen	Therapeutische Prinzipien bei malignen Hirntumoren	Neurologische Klinik	25.11.96	Einhäupl/ Dirnagl
Adrian Pini	Axon guidance by chemorepulsion	MDC	27.11.96	Kettenmann
Sander	Genetik der idiopathischen generalisierten Epilepsien	Virchow, Berlin	28.11.96	Einhäupl/ Schmitz
Prof. Wittinghofer; Dortmund	p21-ras and GAP	FU Berlin	05.12.96	
Prof. Dr. M. Dietrich; München	Topische Hirnstamm-Diagnostik anhand von Augenbewegungsstörungen	Neurologische Klinik	09.12.96	Einhäupl/ Dirnagl
Symposion	Neuronale Zellkulturen als Ersatz für Tierversuche bei Untersuchungen zur zerebralen Ischämie: Neurotoxizität und neuroprotektive Wirkung von Pharmaka	MDC	11.12.96	Kettenmann
Prof. Dr. H. Flor; Berlin	Chronischer Schmerz: Neue Aspekte der Pathophysiologie und Therapie	Neurologische Klinik	16.12.96	Einhäupl/ Dirnagl
Prof. Krishtal; Ukraine	K, Na-gated K conductance in hippocampal neurons	Neurophysiologie, Charité	19.12.96	Heinemann
Prof. Lohse; Würzburg	G-Protein ab-Untereinheiten	FUBerlin	10.01.97	
Prof. Dr. J. Bogousslavsky; Lausanne	Progressive Stroke	Neurologische Klinik	13.01.97	Einhäupl/ Dirnagl

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Dr. Hättig, Neuropsychologie UKRV, Berlin	Lateralisierte Gedächtnisfunktionen bei Temporallappenepilepsie	Virchow, Berlin	16.01.97	Einhäupl/ Schmitz
Symposium des Projektbereich A: Resch, Dermietzel, Wiestler u.a.	Funktionen nicht-neuronaler Zellen bei akuten ZNS Erkrankungen	Neurologische Klinik	20.1.97	Einhäupl/ Dirnagl u.a.
Dr. Andrea Streit	Neural Induction and competence	MDC	21.01.97	Kettenmann
Prof. Kretschmar, Göttingen	Prionkrankheiten	Charité	22.01.97	Einhäupl/ Dirnagl
PD O. Witte; Düsseldorf	Späteeffekte und Ferneffekte nach fokalen zerebralen Ischämien: Sekundäre Schädigung und reaktive Plastizität	Neurologische Klinik	27.01.97	Einhäupl/ Dirnagl
Prof. Trimble, Institute of Neurology, National Hospital for Neurology and Neurosurgery, London, England	The effect of seizures on the individual and society	Virchow, Berlin	30.01.97	Einhäupl/ Schmitz
Prof. Dr. P. Marx; Berlin	Stroke Units - Die Antwort der neurologen auf ein aktuelles Problem? Erste Erfahrungen und Ausblick	Neurologische Klinik	10.02.97	Einhäupl/ Dirnagl
Scheuler	Negative motorische Phänomene bei Epilepsie	Virchow, Berlin	13.02.97	
Kolloquium	Die Rolle von Mikrogliazellen bei Erkrankungen des Nervensystems	MDC	19.02.97	Kettenmann
Dr. Frances Edwards, London	ATP - a fast transmitter. How is it different from glutamate	MDC	07.03.97	Kettenmann
Mathias Burg; Schering, Berlin	Steroid-induzierte GABA _A -rezeptorvermittelte depolarisierende PSPs in der CA1-Region des Hippocampus der Ratte	Neurophysiologie, Charité, Berlin	19.03.97	Heinemann
Dr. Jean Lauder, USA	GABA as a trophic signal for embryonic monoamine neurons but negative signal for GABA neurons	MDC	19.03.97	Kettenmann
Oliver Hobert	Lim homeobox genes and neural development in the nematode C.elegans	MDC	25.03.97	Kettenmann
Prof. Dr. T. E.; DeCoursey, USA	Physiology of ion channels in Leukocytes	Neurophysiologie, Charité, Berlin	07.04.97	Heinemann
Symposium	Der Einsatz von Fluoreszenzmikroskopie in Anatomie und Physiologie	MDC	07.04.97	Kettenmann
Dr. Heinz Beck; Bonn	Ca ²⁺ -activated K ⁺ -currents in human hippocampal neurons	Neurophysiologie, Charité, Berlin	09.04.97	Heinemann
Prof. Dr. T. E., DeCoursey, USA	Voltage-gated proton channels: mechanismen of gating and permeation by protons	Neurophysiologie, Charité, Berlin	09.04.97	Heinemann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Dr. Emil Toescu, Birmingham, UK	Mechanismen des kapazitiven Kalziumeinstroms in Mikrogliazellen in aktivierten Astrozyten	MDC	09.04.97	Kettenmann
Prof. Dr. E. Torebjörk; Uppsala	Novel classes of nociceptors in human skin and their role in pain and hyperalgesia	Neurologische Klinik	05.05.97	Einhäupl/Dirnagl
Dr. H. Haberl; Berlin	Indikationen und Operationstechnik des ventrikuloperitonealen Shunts	Neurologische Klinik	26.05.97	Einhäupl/Dirnagl
Carter, Adrian; Boehringer Ingelheim KG	Zukünftige neuroprotektive Strategien für die Behandlung des menschlichen Schlaganfalles.	FMP	27.05.97	Blasig
Esther T. Stoeckli	Molecular mechanisms of commissural axon pathfinding	MDC	28.05.97	Kettenmann
Szabo, Andrea; Biological research center, Hungarian Academy of Sciences	Production of vasoactive agents in different cerebral endothelial cells.	FMP	29.05.97	Blasig
Prof. Dr. Anders Björklund, University of Lund	„Neural transplantation in Parkinson's disease: Present status and future perspective	Charité	04.06.97	Einhäupl/Kupsch
Prof. Somjen; USA	Cellular Physiology of Cerebral Hypoxia	Neurophysiologie, Charité, Berlin	06.06.97	Heinemann
Symposion	Functions of Glial Cells	Bogensee	07.06.97	Kettenmann
Prof. Dr. A. Straube; München	Augenbewegungs-Störungen und Kleinhirn	Neurologische Klinik	09.06.97	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Sprinzl; Bayreuth	Steuerung der Proteinbiosynthese durch GTPasen	Charité	12.06.97	
Prof. Dr. C. E. Elger; Bonn	Temporallappenepilepsie und Gedächtnis	Neurologische Klinik	23.06.97	Einhäupl/Dirnagl
Andrew J.W. Furley	Analysis of mice carrying mutations in the neural cell adhesion molecules TAG-1 and L1	MDC	25.06.97	Kettenmann
Gemeinsames Meeting der Berliner Neurowissenschaftlichen SFBs und Graduiertenkollege		Bogensee	4./5.7.97	Kettenmann
Dr. W. Reith; Heidelberg	Diffusions- und perfusions-Bildgebung bei akuter zerebraler Ischämie	Neurologische Klinik	07.07.97	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Schultz; Berlin	Rezeptor-G-Protein Interaktion	Charité	09.07.97	
Bähr, Tübingen	Leben und Tod im Nervensystem: Molekulare Grundlagen neuraler Reparaturmechanismen	Charité	21.07.97	Einhäupl/Dirnagl
Symposion: Einhäupl, Dirnagl, Beyreuther, Heiss, Jendroska, Villringer, Aguzzi	Demenz: Ende des Nihilismus	Hilton Hotel, Berlin	24.07.97	Einhäupl/Dirnagl u.a.

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Michael Hortsch	Molecular functions of the L1 family of cell adhesion molecules...	MDC	13.08.97	Kettenmann
Engelhardt, Bad Nauheim	Mechanisms of lymphocyte migration across the blood-brain barrier	Charité	18.08.97	Weber
Paul G. Layer	Retinospheroids: complete reconstitution of a vertebrate retina from fully dispersed cells	MDC	20.08.97	Kettenmann
Symposion: Burmester, Buttgereit, Hiepe, Krause, Priem, Einhäupl	Rheumatisch-Neurologische Systemerkrankungen	Charité, Berlin	30.08.97	Einhäupl u.a.
Symposion: Wiestler, Pietsch, Weggen Waha u. a.	Molekulare Pathogenese des Medulloblastoms, Tumore des Nervensystems: ein Modell f. Humane PNETs usw.	Charité	02.09.97	
Susan Kenwrick	Neural cell adhesion molecule L1: lessons from a human disease	MDC	10.09.97	Kettenmann
Symposion: Einhäupl, Bachus, Kllier Meier, Zierz	Amyotrophe Lateralsklerose	Charité, Berlin	13.09.97	Einhäupl u.a.
Prof. Sergej Korogod, Dnjepropetrowsk, Rußland	Electro-geometrical coupling in morphologically complex neurons	MDC	22.09.97	Kettenmann
Prof. Quingming Luo, Wuhan, China	Optical Imager of the Human Brain	Neurologische Klinik	23.09.97	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Dr. Arno Villringer	Neurovascular Coupling	Neurologische Klinik	01.10.97	Einhäupl/Dirnagl
Sidney Strickland; Stony Brook University, Dept. of Pharmacology New York, USA	Proteases, the extracellular matrix, and neuronal death in the mouse central nervous system	Anatomie/Charité	15.10.97	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. P. Lavie; Israel	Melatonin - the key to sleep gate	Neurologische Klinik	20.10.97	Einhäupl/Dirnagl
Prof. Krishtal; Kiew	Excitatory connectivity between CA1 pyramidal cells mediated by NMDA receptors	Neurophysiologie, Charité	20.10.97	Heinemann
Wieland B. Huttner; Universität Heidelberg	Biogenesis of neurosecretory vesicles	Anatomie/Charité	22.10.97	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. J. Bernarding, Berlin	Diffusionswichtende Bildgebung beim Hirninfarkt	FU/Bejamin Franklin	27.10.97	
Symposion: Einhäupl, Lempert, von Pannwitz, Weber, Schmitz, Valdueza, Wolf, Arnold, Schielke, Dreier	Der neurologische Notfall.	Neurologische Klinik	01.11.97	Einhäupl/Dirnagl

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Klaus Unsicker; Universität Heidelberg Institut für Anatomie und Zellbiologie	Functions of transforming growth factors β in the nervous system	Anatomie/Charité	05.11.97	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Dr. Alessandro Cellerino	Physiological, pharmacological, and pathological actions of brain derived neurotrophic factor in the retina	MDC	05.11.97	Kettenmann
Symposion New approaches to liposomal transfection -Performance characteristics and Transfection in applications		MDC	06.11.97	Kettenmann
Arnold R. Kriegstein; Columbia Physicians & Surgeons Dept. of Neurology New York, USA	Unusual roles for amino acid transmitters during neocortical development	Anatomie/Charité	12.11.97	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Dr. J. Weber; Neurologie	Bakterielle Meningitis: Pathophysiologie und adjuvante Therapie heute!	Neurologische Klinik	17.11.97	Einhäupl/Dirnagl
Rudolf Jaenisch; Whitehead Institute, MIT Boston, USA	DNA methylation and imprinting: who needs it anyway	Anatomie/Charité	19.11.97	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Dr. René Pumain; Paris	4-Aminopyridin induces activities in the hippocampus and neocortex	Neurophysiologie, Charité	24.11.97	Heinemann
Prof. Dr. S. Willich, Berlin	Epidemiologie atherothrombotischer Erkrankungen	FU/Bejamin Franklin	24.11.97	
Dr. Denise Manahan-Vaughan; Dublin, Irland	Metabotropic glutamate receptors as bidirectional modulators of synaptic plasticity	Neurophysiologie, Charité	25.11.97	Heinemann
Roland Martin; NIH, Neuroimmunology Branch Bethesda, USA	Autoimmune pathogenesis of multiple sclerosis from cellular immunology to novel treatments	Anatomie/Charité	26.11.97	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Dr. Hans-Herrmann Gerdes	Sorting and vesicular transport of chromogranin B imaged with GFP	MDC	26.11.97	Kettenmann
Prof. Weissman; Zürich	Prion Diseases	Charité	27.11.97	Einhäupl
Dr. H. Haberl; Berlin	Indikation und Technik der Shunt-Anlage beim Hydrocephalus	Neurologische Klinik	01.12.97	Einhäupl
Onur Güntürkün; Ruhr-Universität Bochum Fakultät für Psychologie AE Biopsychologie	Zur Genese von Gedächtnis aus biologischer Materie - Untersuchungen an neuronalen und virtuellen Schaltkreisen	Anatomie/Charité	03.12.97	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. M. Kaps, Lübeck	Neue technische Entwicklungen der neurovaskulären Ultraschall Diagnostik	FU/Bejamin Franklin	08.12.97	

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Wolfgang Kuschinsky; Universität Heidelberg-Physiologisches Institut	Mikrozirkulation und Glucosetransporter im Gehirn	Anatomie/Charité	10.12.97	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. Dietmar Kuhl	Synaptic Plasticity: Learning about activity-dependent genes	MDC	10.12.97	Kettenmann
Prof. Dr. Ohm; Anatomie	Altern, Apolipoprotein E und Alzheimersche Erkrankung	Neurologische Klinik	15.12.97	Einhäupl/Dirnagl
Peter Janich; Universität Marburg Institut für Philosophie	Woher haben die Neurowissenschaften ihre Gegenstände? Philosophische Bemerkungen aus der Sicht des methodischen Kulturalismus	Anatomie/Charité	17.12.97	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dr. Ruth Empson; Birmingham, England	Calcium-induced calcium release in neurons and its modulation by cyclic ADP ribose, a metabolite of NAD	Neurophysiologie, Charité	18.12.97	Heinemann
Rodney Murphey; University of Massachusetts; Neuroscience & Behavior Program; Massachusetts, USA	Searching for the molecular engram: CaMKII and habituation in Drosophila	Anatomie/Charité	07.01.98	Neurowiss. Kolloquium der Charité
PD Dr. Müller-Felber; München	Prognose und Verlauf entzündlicher Myopathien	Neurologische Klinik	12.01.98	Einhäupl/Dirnagl
Richard Miles; Institute PasteurLab Neurobiology CellParis, Frankreich	On the functional diversity of synaptic inhibition in the hippocampus	Anatomie/Charité	14.01.98	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. Bo Norrving, Lund; Schweden	Quality systems in stroke care and therapy	FU/Bejamin Franklin	19.01.98	
Menahem Segal; Weizman Institute, Dept. of Neurobiology, Rehovot, Israel	Dendritic spines: regulation of growth and function	Anatomie/Charité	21.01.98	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. Helmchen, Berlin	Forschung mit nichteinwilligungsfähigen Patienten	Neurologische Klinik	26.01.98	Einhäupl/Dirnagl
Ety Benveniste; University of AlabamaDept. of Cellbiology	Cytokine Modulation of glial cell gene expression	Anatomie/Charité	28.01.98	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Priv.-Doz. Dr. Dr. T.R. Tölle, München	Molekulare Mechanismen der Chronifizierung von Schmerzen	FU/Benjamin Franklin	02.02.98	
Roger Tootell; MGH NMR-CenterCharlestown, USA	From retinotopy to recognition: functional MRI studies of human visual cortex	Anatomie/Charité	04.02.98	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Prof. Dr. Stöhr; Augsburg	Radikuläre Syndrome - klinische und elektrophysiologische Diagnostik	Neurologische Klinik	09.02.98	Einhäupl/Egert
Rodolfo R. Llinas; New York University, Medical CenterNew York, USA	Calcium concentration microdomain and the molecular events triggered during synaptic release	Anatomie/Charité	11.02.98	Neurowiss. Kolloquium der Charité

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Rodney Murphey, Massachussets, USA	Searching for the molecular engram: CaMKII and habituation in Drosophila	Inst. f. Anatomie Charité	7.1.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Richard Miles Institut Pasteur, Lab Neurobiology Cell, Paris	On the functional diversity of synaptic inhibition in the hippocampus	Inst. f. Anatomie Charité	14.1.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Th.-N. Lehmann, Virchow-Klinikum, Charité Berlin	Möglichkeiten der Grundlagenforschung am resezierten Hirngewebe nach epilepsiechirurgischen Eingriffen	Hotel Steigenberger	14.1.1998	Epilepsie-Kolloquium
Menahem Segal Weizman Institut, Department of Neurobiology, Rehovot, Israel	Dendritic spines: regulation of growth and function	Inst. f. Anatomie Charité	21.1.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Horst Simon La Jolla, USA	Engrailed and Parkinson - could there be a link? A developmental study	MDC Berlin	21.1.1998	FG Kettenmann
Payam Rezaie	Microglia during human fetal development	MDC Berlin	21.1.1998	FG Kettenmann
Etty Benviste, Alabama, USA	Cytokine modulation of glial cell gene expression	Inst. f. Anatomie Charité	28.1.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Ole Ottersen, Oslo	Transport function of glia: from glutamate to water	MDC Berlin	28.1.1998	FG Kettenmann
Olaf Pongs, Hamburg	Structure and function of fast inactivating potassium channels	MDC Berlin	3.2.1998	FG Kettenmann
Roger Tootell, Charlestown, USA	From retinotopy to recognition: functional MRI studies of human visual cortex	Inst. f. Anatomie Charité	4.2.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Rodolfo R. Llinas New York, USA	Calcium microdomains and transmitter release	Inst. f. Anatomie Charité	11.2.1998	Berlin Neuroscience Lecture
Dietmar Schmitz, Berlin	Untersuchungen zum Einfluss von Serotonin im Hippokampus und entorhinalen Kortex mit Hilfe von extra-, intrazellulären u. Patch-Clamp Ableitungen	Inst. f. Klinische Physiologie, FU Berlin	24.2.1998	Patch-Clamp Kolloquium
Dominico Pelligrini-Giampietro, Florenz	The GluR2 hypothesis: Ca ²⁺ permeable AMPA receptors and neurodegeneration	MDC Berlin	26.2.1998	FG Kettenmann
Peter Bartsch Hartmut Krüger Berlin	Interiktale Wechselbeziehung fokaler und perifokaler Strukturen des Cortex nach Analyse lokaler Feldpotentiale im HF-Bereich des ECoG von Patienten	Hotel Steigenberger	11.3.1998	Epilepsie-Kolloquium
Hanns Möhler, Zürich	New approaches to anxiety disorders and epilepsy by GABA _A receptor gene knock out and knock in strategies	MDC Berlin	12.3.1998	FG Kettenmann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Olga Garaschuk, Kiev	Spontaneous Ca ²⁺ oscillations during early hippocampal development and their role for maturation of glutamatergic synapses	MDC Berlin	17.3.1998	FG Kettenmann
Hannah Monyer MPI für Medizinische Forschung, Heidelberg	Characterization of native glutamate receptors in identified neurones	Inst. f. Anatomie Charité	29.4.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Astrid Rohlmann, Dallas	Conditional knock out of the multifunctional receptor LRP in liver and brain	MDC Berlin	4.5.1998	FG Kettenmann
Ole Didrik Laerum, Bergen	Genetic alterations and biology in invasive gliomas	MDC Berlin	13.5.1998	FG Kettenmann
Kai Kaila, Helsinki, Dept. Biosci. Div. Physiology Helsinki University Finland	Mechanisms of GABA _A receptor-mediated inhibition and excitation in the early postnatal and adult rat hippocampus	Inst. f. Anatomie Charité	13.5.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Josef Kriegstein, Marburg	Mechanisms of neuronal degeneration and protection	MDC Berlin	20.5.1998	FG Kettenmann
Yehezkel Ben-Ari, Hospital de Port Royal Paris, Frankreich	Functionality of neosynapse formation in adult temporal lobe epilepsy	Inst. f. Anatomie Charité	20.5.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Patrick Schloss Biochemistry Department University of Dublin Dublin, Ireland	The serotonin transporter: a primary target for antidepressant drugs	Inst. f. Physiologie Charité	26.5.1998	GRK 238
Jörg Streit Institut für Physiologie, Universität Bern, Schweiz	Synaptic depression and pattern generation in spinal cultures	Inst. f. Anatomie Charité	27.5.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Andrew Matus Friedrich Miescher Institut, Basel, Schweiz	Molecular Basis of Plasticity in Dendritic Spines	Inst. f. Anatomie Charité	3.6.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Wayne Crill, Dept. Physiol. & Biophys. Univ. Washington School of Medicine, Seattle, USA	Transduction of synaptic inputs into spike trains by neocortical pyramidal neurons	Inst. f. Anatomie Charité	10.6.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Peter Bandettini Biophysics Research Institute Wisconsin Med. College, Milwaukee, USA	Exploring the upper limits in spatial resolution, temporal resolution and interpretability of fMRI		17.6.98	
Abdel-Boussouf, Strasbourg	In vitro study of intracellular pH regulation during differentiation of oligodendrocyte from rat cerebellum	MDC Berlin	12.6.1998	FG Kettenmann
Vadim Dedov, Kiev	Mitochondrial participation in calcium handling in neurones	MDC Berlin	17.6.1998	FG Kettenmann
George Augustine Dept. Neurobiology Duke University Med. Center Durham, USA	Dendritic signaling pathways involved in cerebellar long-term synaptic depression	Inst. f. Anatomie Charité	24.6.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
A. Draguhn, Berlin R. Polder, Tamm	Voltage and Patch-Clamp Techniques: Basics to Advanced	Institut für Physiologie, Charité	26.6./27.6.1998	Workshop in Verbindung mit ENA-Meeting 1998
Verschiedene	1998 Forum of European Neuroscience	Hotel InterContinental Berlin	27.06. – 01.07.1998	Kettenmann
W. Müller	Cellular compartmentation by the second messenger Ca in nervous system cells.	Inst. f. Anatomie Charité	01.07.1998	Satellitensymp. XIII zu ENA-Meeting 1998
Karl Josef Zilles Vogt Brain Research Institute Univ. Düsseldorf Düsseldorf	Architectonical, transmitter receptor and functional imaging studies of the cerebral cortex: a contribution to the European Computerized Brain Database	Inst. f. Anatomie Charité	08.07.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Markus Missler, Dallas, Texas	Cell-cell interactions between neurons: genetic and biochemical analysis of alpha-neurexins and their ligands	Institut für Physiologie, Charité	8.7.1998	GRK 238
Patric K. Stanton Albert Einstein College of Medicine, New York, USA	Role of intracellular Ca ²⁺ stores and second messengers in long term depression of synaptic strength in area CA1 of the hippocampus	Institut für Physiologie, Charité	10.7.1998	GRK 238
Carla J. Shatz Div. Neurobiology University of California, Berkeley, USA	Form from function: neural activity sculpts connectivity in visual system development	Inst. f. Anatomie Charité	15.7.1998	Berlin Neuroscience Lecture
Beate Sick, Zürich	Steps towards comparative genomic hybridization using scanning near field microscopy	MDC Berlin	24.7.1998	FG Kettenmann
Klaus Unsicker	Roles of TGF -beta in neuronal development	MDC Berlin	29.7.1998	FG Kettenmann
Olaf Strauß, Berlin	Regulation of L-type Ca ²⁺ channels by protein kinase Ca and tyrosine kinases in cells of the retinal pigment epithelium	MDC Berlin	5. 8. 1998	FG Kettenmann
Anka G. Ehrhardt Medical Center , Biomedical Imaging Group, Univ. of Massachusetts, USA	Probing of Calmodulin Binding to its Target Molecules by Fluorescence Anisotropy – in vitro and in vivo	Institut für Physiologie, Charité	12.8.1998	AG Heinemann
Verschiedene	Zwischenkolloquium des DFG-Schwerpunktes „Die Rolle von Mikrogliazellen bei Erkrankungen des Nervensystems“	Tagungszentrum Bogensee	21. – 23.09.1998	Kettenmann
Wolfgang Streit University of Florida College of Medicine and Brain Institute, Gainesville	Activation of microglia during regeneration: are there lessons for Alzheimer's disease?	MDC Berlin	24.9.1998	FG Kettenmann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Marcus Frank	rMAL, a glycosphingolipid associated protein of myelin and apical membranes of epithelial cells	MDC Berlin	25.9.1998	FG Kettenmann
Heike Franke, Leipzig	P2 receptor mediated effects on astrocytes in vitro	MDC Berlin	2.10.1998	FG Kettenmann
Walter Stühmer, Göttingen	Ionotropic purinergic receptors and their pharmacology	MDC Berlin	14.10.1998	FG Kettenmann
Cord-Michael Becker Institut für Biochemie Universität Erlangen Erlangen	Der inhibitorische Glycinrezeptor und die Molekularbiologie hypertoner Bewegungsstörungen	Inst. f. Anatomie Charité	28.10.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Georg Reiser, Magdeburg	Hormonal Ca ²⁺ regulation in astrocytes and cellular mechanisms of neurotoxicity	MDC Berlin	30.10.1998	FG Kettenmann
Rolf Dermietzel Institut für Anatomie Ruhr-Universität, Bochum	Differentielle Expression von Gap Junction Proteinen im Zentralen Nervensystem	Institut für Physiologie, Charité	30.10.1998	Paul-Ehrlich-Zentrum f. Experim. Medizin
Tilman Grune, Berlin	Proteolysis and oxidative stress	MDC Berlin	3.11.1998	FG Kettenmann
Verschiedene	Jahrestagung 1998 der HFG	Humboldt-Uni	04. – 05.11.1998	HFG / Kettenmann
Veit Flockerzi Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Homburg	Funktion der β - and γ -Untereinheiten spannungsabhängiger Ca ²⁺ Kanäle	Inst. f. Anatomie Charité	4.11.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Paul Kremer, Heidelberg	Laser incuded fluorescence detection of malignant gliomas using albumin labelled fluorescein	MDC Berlin	25.11.98	FG Kettenmann
Franz Hofmann Institut für Pharmakologie und Toxikologie, TU München	Regulation of neuronal function by cyclic nucleotide regulated ion channels and protein kinases	Inst. f. Anatomie Charité	18.11.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Dieter Weiss Institut f. molekulare und zelluläre Physiologie d. Tiere Universität Rostock	Video-mikroskopische Einblicke in die Physiologie und Pathologie der lebenden Nervenzelle	Institut für Physiologie, Charité	23.11.1998	GRK 238
Paul Kremer, Heidelberg	Laser incuded fluorescence detection of malignant gliomas using albumin labelled fluorescein	MDC Berlin	25.11.1998	FG Kettenmann
Johann P. Ruppersberg, Physiologisches Institut Universität Tübingen	Intracellular regulation of inward rectifier K ⁺ channels	Inst. f. Anatomie Charité	25.11.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Norman Bowery, University of Birmingham Dept. Pharmacology, UK	Metabotropic GABA-B receptors and their significance in pain and epilepsy	Inst. f. Anatomie Charité	2.12.1998	Neurowiss. Kolloquium der Charité

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Constantino Iadecola, University of Birmingham Dept. Pharmacology Minneapolis, USA	Nitric oxide, cerebrovascular regulation and ischemic brain injury: perspective of a decade	Inst. f. Anatomie Charité	9.12.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Roger Traub University of Birmingham Birmingham, UK	Fast network oscillations in the hippocampus	Institut für Physiologie, Charité	9.12.1998	SFB 515
Michal Schwartz, Weizmann Institute Dept. Neurobiology Rehivot, Israel	Innate and acquired immune responses are beneficial for CNS repair and rescue: compatibility with immune privilege	Inst. f. Anatomie Charité	16.12.1998	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Martin Stemmler, Innovationskolleg Theoretische Biologie, HU, Berlin	Information maximization in single neurons	Institut für Physiologie, Charité	18.12.1998	GRK 238
Ulrike Blömer	In vivo gen transfer by a lentiviral vector	MDC Berlin	13.1.99	FG Kettenmann
Hanns Möhler Institut für Pharmakologie ETH und Universität Zürich, Schweiz	Transgenic approaches to anxiety disorders and their pharmacology	Inst. f. Anatomie Charité	13.1.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
S. Belachew, Jean-Michel Rigo, Belgien	Neurotransmitters-mediated regulation of CNS myelination Inhibitory neurotransmission inhibitors (INItoxins): new proapoptotic agents?	MDC Berlin	14.1.1999	FG Kettenmann
Heinrich Terlau MPI für experimentelle Medizin, Göttingen	Peptide neurotoxins from predatory cone snails as specific ligands for voltage dependent ion channels	Inst. f. Physiologie Charité	19.1.1999	GRK 238 u. SFB 515 / TP B1
Tobias Bonhoeffer MPI for Neurobiology München-Martinsried	Optical imaging of columnar systems in the visual cortex	Inst. f. Anatomie Charité	20.1.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Michael Müller Dept. of Cell Biology, Duke University Medical Center, Durham, USA	Intrinsic optical signals induced by anoxia and spreading depression	Institut für Physiologie, Charité	26.1.1999	GRK 238 u. SFB 507
Hannelore Ehrenreich, Göttingen	Endothelin B receptor deficient rats as a subtraction model to study the cerebral endothelin system	MDC Berlin	28.1.99	FG Kettenmann
D. Balschun Institut f. Neurobiologie Magdeburg	Induktions- u. Konsolidierungsmechanismen hippocampaler Langzeitpotenzierung	Inst. f. Biochemie	28.1.1999	Paul-Ehrlich-Zentrum f. Experim. Medizin
Robert F. Berman Neurological Surgery University of California Davis, California	Adenosine as an endogenous anticonvulsant: Evidence from in vivo and in vitro models of epilepsy	Institut für Physiologie, Charité	2.2.1999	GRK 238 u. SFB 507

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Reinhard Eckhorn, Institut für Physik Phillips-Universität-Marburg Marburg	Synchronisation im Sehkortex bei stabilen und bewegten Netzhautbildern	Inst. f. Anatomie Charité	3.2.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Uwe Heinemann Institut f. Physiologie Charité, Berlin	Convulsiver Status epilepticus im Tiermodell	Institut für Physiologie, Charité	11.2.1999	Epilepsie-Kolloquium der Charité
Pasko Rakic Dep. Neurobiology, Yale University, New Haven, USA	The logistics of brain development	Inst. f. Anatomie Charité	17.2.1999	Berlin Neuroscience Lecture
R. Nau Neurologische Klinik Universität Göttingen	Neuronale Schäden bei bakterieller Meningitis	Neurologie, Charité	18.2.1999	Weber
Verschiedene	Methodenkurs: Cerebrale Ischämieforschung: Modelle und Methoden	Exp.Neurologie	1.-2.3.1999	Dirnagl
G. Buzsaki Center for Molecular and Behavioral Neurosciences Rutgers University Newark, USA	Oscillations and plasticity in the hippocampal formation	Institut für Physiologie, Charité	3.3.1999	SFB 515 SFB 507 GRK 238
Tömmes, Stefan Institut f. Physiologie Charité, Berlin	Principles and handling of the titanium/sapphire laser	Institut für Physiologie, Charité	03.1999	SFB 507/GRK
Müller, W. Institut f. Physiologie Charité, Berlin	Seminartag Methodenkurs: Zweiphotonenmikroskopie, Patch-Clamp und Imaging	Institut für Physiologie, Charité	03.1999	MDC
Desdemona Fricker Laboratoire Neurobiologie Cellulaire Institute Pasteur, Paris	Measurements of firing threshold in hippocampal neurones	Institut für Physiologie, Charité	11.3.1999	SFB 515/ GRK 238/2
Wytse Wadman Institute for Neurobiology University of Amsterdam	Redistribution of LVA calcium channels in CA1 pyramidal cells during development	Institut für Physiologie, Charité	11.3.1999	SFB 515/ GRK 238/2
Cedric Raine Dept. Pathology Albert Einstein College of Medicine, NY, USA	Proving a role for autoantibodies during demyelination in multiple sclerosis – the end of a long journey	Inst. f. Anatomie Charité	21.4.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Michael Frotscher Anatomisches Institut Freiburg	Development of specific synaptic connections in the hippocampus	Inst. f. Anatomie Charité	28.4.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Christian Steinhäuser Rheinische Friedrichs-Wilhelm-Universität Bonn	Eigenschaften von K ⁺ Kanälen und Glutamatrezeptoren in Astrozyten des Hippokampus: Charakteristische Veränderungen bei Epilepsie und nach kortikaler Läsion	Institut für Physiologie, Charité	30.4.1999	GRK / SFB 507

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Michael Dittrich Institut für Neurophysiologie, Universität Köln	Die Wirkung lokaler Applikation von NO auf den L-Typ-Kalziumstrom in Kardiomyozyten	Institut für Physiologie Charité	4.5.1999	GRK / SFB 507
Oliver Brüstle Neuropathologie Universitätskliniken Bonn	Embryonic stem cell-derived neural precursors	Inst. f. Anatomie Charité	5.5.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Giora Feuerstein Experimental Station Dupont Pharmaceuticals Wilmington, USA	Inflammatory cells and mediators in stroke – new opportunities for novel therapeutics	Inst. f. Anatomie Charité	12.5.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
William F. Colmers Department of Pharmacology, University of Alberta, Kanada	Some central actions of NPY	Institut für Physiologie, Charité	14.5.1999	GRK / SFB 507
Sprecher: Menzel Institut für Neurobiologie FU Berlin	Behavioral analysis of transgenic and knockout animals	Konrad-Zuse-Center, Berlin	14.- 15.5.1999	SFB 515
N. Burnashev Max-Planck Institut für medizinische Forschung Heidelberg	Role of postsynaptic AMPA receptor channels in short-term modification of excitatory synaptic transmission in local neocortical circuits	Institut für Physiologie, Charité	17.5.1999	GRK
Christopher Rose Department of Neuroscience, University of Montreal, Kanada	Mechanisms involved in pathogenesis of hepatic encephalopathy	Institut für Physiologie, Charité	21.5.1999	GRK / SFB 507
Michael Chopp Neurology Henry Ford Hospital, Detroit, USA	The clot thickens: therapeutic opportunities for treatment of stroke	Inst. f. Anatomie Charité	26.5.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Henning Walczak Tumor Immunology Program DKFZ, Heidelberg	New TRAILs to death: characterisation of a novel apoptosis-inducing receptor-ligand system	Inst. f. Anatomie Charité	02.6.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
David Linden Dept. Neuroscience John Hopkins University, Baltimore, USA	Use-dependent synaptic plasticity in the cerebellum	Inst. f. Anatomie Charité	09.6.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Gregory del Zoppo Mol.&Experimental Med. Scripps Research Institute LA Jolla, USA	Microvascular injury and integrin-matrix interactions following focal cerebral ischemia	Inst. f. Anatomie Charité	16.6.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Christian Rosenmund Max-Planck Institut für biophysikalische Chemie Göttingen	Munc13-1 is essential for fusion competence of glutamergic synaptic vesicles	Institut für Physiologie, Charité	17.6.1999	SFB 515 A. Draguhn
Hans Henkes Essen	Ergebnisse der interdisziplinären Therapie zerebraler Angiome	Neurologie, Charité	21.6.1999	Meyer/ Schmitz/ Einhäupl

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Sebastian Brandner Neuropathologie Univer- sitätsspital Zürich, Schweiz	In vitro differentiation and neural transplantation of em- bryonic stem cells: a novel strategy for gene transfer into the central nervous system	Inst. f. Anatomie Charité	23.6.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Michael Försting Zentralinstitut für Rönt- gendiagnostik, Essen	Decompressive craniectomy in acute stroke: Experimental results and clinical application	Inst. f. Anatomie Charité	30.6.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Verschiedene	SFRR Summer Meeting "An- tioxidants, Adaption, Aging"	Dresden	02.- 06.07.1999	A7 (Grune)
TA Yousry München	Etablierung kortikaler Land- marken mittels fMRT	Neurologie, Charité	5.7.1999	Meyer/ Schmitz/ Einhäupl
Russel Reiter Cellular & Structural Biol. Univ. Texas Health Sci- ence Center, Antonio, USA	Oxydative damage in the cen- tral nervous system: protection by melatonin and clinical im- plications	Inst. f. Anatomie Charité	07.7.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Julie Anderson School of Gerontology University of Southern California, LA	Kainic acid toxicity in glu- tathione peroxidase knockout mice	Neurologie, Charité	7.7.1999	Grune/ Dirnagl
Alle Mitglieder der Berli- ner SFBs, GRKs etc.	Berliner Neurowissenschaftli- ches Forum	Tagungszentrum Bogensee	08.- 0.07.1999	SFB 507
Kelvin Davies School of Gerontology University of Southern California, LA	Transient adaptation to oxida- tive stress in mammalian cells	Neurologie, Charité	12.7.1999	Grune/ Dirnagl
Michael Weller Dept. Neurology Molecu- lar Neuro-Oncology, Uni- versität Tübingen	Genetic regulation and thera- peutic modulation of apoptosis in human malignant gliomas.	Inst. f. Anatomie Charité	14.7.1999	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Merab Kokaia Department of Clinical Neuroscience, Lund Uni- versity Hospital, Schweden	Neurotrophin regulation of epileptogenesis and synaptic transmission	Institut für Physi- ologie, Charité	20.7.1999	GRK / SFB 507
David Prince Department of Neurology, Stanford University Medi- cal Center, Stanford, USA	Cellular mechanisms of post- traumatic epileptogenesis	Inst. f. Anatomie Charité	21.7.1999	GRK / SFB 507
Yoel Yari Department of Physiology Hebrew University Hadassah Medical School Jerusalem, Israel	Control of hippocampal exci- tability by extracellular calcium	Institut für Phy- siologie, Charité	11.10.1999	SFB 507 Prof. U. Heinemann
Verschiedene	4. Berliner Symposium für angewandte klinische Immuno- logie	Charité – CCM	16.10.1999	I. f. Immuno- logie, Charité / Woicie- chowski
Ulrike Tauer	Advanced confocal and dual photon laser scan microscopy	Institut für Phy- siologie, Charité	11/99	GRK / SFB 507

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Stephan Baader Institut für Anatomie Universität Bonn	Engrailed als molekularer Regulator neuronaler Kompartimentierung im Kleinhirn der Maus	Institut für Physiologie, Charité	8.11.1999	GRK 238 / SFB 507
Peter Somogy Anatomical Neuropharmacology MRC Oxford, UK	Location of receptors and synapses in hippocampal circuits	Inst. f. Anatomie Charité	15.11.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
W. Stühmer MPI für experimentelle Medizin, Göttingen	A potassium channel involved in cell cycle and proliferation	Inst. f. Anatomie Charité	22.11.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Verschiedene	6. Tagung "Mechanismen der Zell- und Gewebeschädigung"	Potsdam	25.-27.11.1999	A7 (Grüne)
Dept. Physiology University of Oslo, Norway	LTP expression mechanisms – clues from transgene mice	Inst. f. Anatomie Charité	29.11.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Wolfgang Müller Institut für Physiologie Charité	Postsynaptic receptor modification as a potential mechanism underlying synaptic strength	Institut für Physiologie, Charité	12.1999	Berlin Winterschool on Neuroscience (SFB 515)
Rajesh Khanna Department of Physiology University Toronto, Kanada	Calcium-activated potassium channels in neuroimmune cells	Institut für Physiologie, Charité	06.12.1999	SFB 507 C. Eder
Hans-Christian Pape Institut für Physiologie Otto-von-Guericke University, Magdeburg	Cellular mechanisms of emotional signal processing in the amygdala	Inst. f. Anatomie Charité	06.12.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Verschiedene	Synapse development and plasticity	Institut für Physiologie Charité	09.-11.12.1999	GRK 238/GRK 120, Innovationskolleg Theoretische Biologie
Martin Koltzenburg Neurologische Klinik Universität Würzburg	Modality-specific action of neurotrophins on sensory neurons	Inst. f. Anatomie Charité	13.12.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Regina Jakob Department of Pharmacology & Physiology University of Chicago	Action of K_{ATP} channel openers on mitochondria in hippocampal neurons	Institut für Physiologie, Charité	16.12.1999	GRK 238/2 SFB 507
Andreas Draguhn Institut für Physiologie Charité, Berlin	Hochfrequente Oszillationen in elektrisch gekoppelten neuronalen Netzwerken	Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin	20.12.1999	Colloquium Neurophysik FU, Berlin
Eduardo Soriano Facultat Biologica, Univ. Barcelona, Spain	Role of diffusible signals in neuronal migration and axonal growth	Inst. f. Anatomie Charité	20.12.1999	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Claus Bruehl Neurologische Abteilung Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf	Bikarbonat-induzierte Modulation von Ca^{2+} -Stößen in CA1 Neuronen des Hippokampus	Institut für Physiologie, Charité	21.12.1999	SFB 507 C. Eder

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Nuria Estape Consejo Superior de Investigaciones Biológicas de Barcelona	Neuropharmacology of serotonin: potentiation of SSRI antidepressant effects by 5-HT1A receptor antagonists	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	3.12.1999	Denise Manahan-Vaughan
Christian Alzheimer	Rolle somatodendritischer GIRK Kanäle bei der Verrechnung von EPSPs in kortikalen Pyramidenzellen	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	15.12.1999	W. Müller
Dorothea Schulte, Boston, USA	Homeodomain Proteins in the Neural Retina and the Development of the Retinotectal Projection Map	MDC	10. 1. 2000	FGHK/Kettenmann
Norbert Sommer Neurologische Klinik, Philipps Universität, Marburg	Pathogenesis of multiple sclerosis	Inst. f. Anatomie Charité	10.1.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Walter Inst. f. Kinderneurol. und -epileptol. Bremerhaven	Welche Bedeutung haben epileptische Anfälle im 1. Lebensjahr für die weitere Entwicklung des Kindes?	Hotel Steigenberger	12.1.2000	Epilepsie-Zentrum Berlin
Michael Hortsch (University of Michigan)	From Cell Adhesion to Membrane Skeleton organization - The Case of the L1 Family of Neural Cell Adhesion Molecules	MDC	13. 1. 2000	FG Kettenmann
Edward Dudek Dept. Anatomy & Neurobiology, Colorado State University, Fort Collins, Texas, USA	Synaptic reorganisation of the hippocampus: hypothetical mechanisms of chronic epileptogenesis	Institut für Anatomie, Charité	17.1.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Tamas Horvath Dept. Obstetrics & Gyn. Yale University Hospital New Haven, USA	UCPs in the CNS: uncoupled neuronal mitochondria predict thermal synapses in the brain	Institut für Anatomie, Charité	24.1.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Volker Hagen (FMP)	Caged Biomolecules	MDC	27. 1. 2000	FG Kettenmann
Alastair Compston Neurology Unit University of Cambridge Cambridge, UK	Multiple sclerosis: laboratory insights and clinical applications	Institut für Anatomie, Charité	31.1.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Jörg Schulz Neurodegeneration Lab. University Tübingen	Molecular mechanisms of neuronal apoptosis: New strategies for the treatment of neurodegenerative diseases?	Institut für Anatomie, Charité	07.2.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
St. Sachse Dipl.-Psych. I. Teschner Epilepsiezentrum Kleinwachsenau	Psychische Einflußfaktoren auf das Anfallsgeschehen erwachsener Patienten	Hotel Steigenberger	09.2.2000	Epilepsie-Zentrum Berlin
Karen Steel (Nottingham, MRC for Hearing Research, UK)	Sensory hair cell development and the genetics of deafness	MDC	10.2.2000	Frank Pfrieger
Wolfgang Uckert (MDC)	Retroviral gene transfer in immunotherapy	MDC	17. 2. 2000	FGHK/Kuhn

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
John Garthwaite, London	Nitric oxide pathophysiology	MDC	24. 2. 2000	FG Kettenmann
Christian Steinhäuser Exp. Neurobiol. u. – chirurg. Universität Bonn	Eigenschaften humaner Astrozyten des Hippokampus von Epilepsie-Patienten	Inst. f. Klinische Physiologie, FU Berlin	29.2.2000	Berliner Patch-Clamp Colloquium
B. Tettenheim Klinik f. Neurologie, St. Gallen, Schweiz	Die Behandlung der Epilepsie in der Schwangerschaft	Hotel Steigenberger	08.3.2000	Epilepsie-Zentrum Berlin
W. Stummer Neurochirurgie München	Fluoreszenzgestützte Resektion maligner Gliome unter Verwendung der 5 Aminolävulinsäure	Klinik für Neurologie, CVK	13.3.2000	Ch. Woiciechowsky
Wolfgang Brück (Neuropathology, Virchow)	Oligodendrocyte pathology in Multiple Sclerosis	MDC	23. 3. 2000	Koordinationsbereich Neurowissenschaften
Verschiedene	Methodenkurs „Anwendung von Imaging und Patch clamp in den zellulären Neurowissenschaften“	MDC	27.03.2000	MDC / Kettenmann
Verschiedene	Methodenkurs: Cerebrale Ischämieforschung: Modelle und Methoden	Exp.Neurologie	3.-4.4.2000	Dirnagl
H. Stefan Zentrum Epilepsie Universitätsnerven-klinik, Erlangen-Nürnberg	Wie unterscheide ich epileptische und nicht epileptische Anfälle	Hotel Steigenberger	12.4.2000	Epilepsie-Zentrum Berlin
Verschiedene	Meeting der neurowissenschaftlichen Forschungsgruppen am MDC	Hotel Chorin	5.–6.5.2000	MDC / Kettenmann
Wolfgang Brück, Institut für Neuropathologie, Charité, Berlin	Pathologische Heterogenität der Multiplen Sklerose	Neurologie, Charité	8.5.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
N. Rainov, Neurochirurgie Halle	Experimentelle und klinische Genterapie bei malignen Erkrankungen	Klinik für Neurologie	8.5.2000	Ch. Woiciechowsky
W. Fröscher Neurol. Abt. Akad. Krankenhaus „Die Weissenau“	Sinn und Unsinn der Serumkonzentrationsbestimmungen von Antiepileptika	Hotel Steigenberger	10.052000	Epilepsie-Zentrum Berlin
Ole Peter Ottersen, Institute of Anatomy, University of Oslo	Organization of glutamate receptors at the synapse	Neurologie, Charité	15.5.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Chr. Haass (Mannheim)	Biological and pathological function of the presenilin-1	MDC	18.5.2000	FG Kettenmann
Ilya Victorov Brain Res. Institut Moscow, Russia	A new method of organotypic brain cultures: Free floating slices of postnatal hippocampus	Experiment. Neurol., Charité	18.5.2000	SFB 507

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Heinz Reichmann, Institut für Neurologie, Universitätsklinikum Dresden	Mitochondriale Medizin	Neurologie, Charité	22.5.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Heinemann et al. (Berlin)	11. Neuroimmunology Symposium	Forschungshaus Charité Campus Virchow	22.- 23.05.2000	GRK: "Schadensmechanismen im ZNS - Imagingstudien"
Eduardo Soriano, Dept. Animal Cell Biology, Facultat Biologica, Barcelona	Common signals regulate neuronal migration and axonal guidance	Neurologie, Charité	29.5.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Joachim Behr, Inst. f. Physiologie, Campus Charité Mitte	Reorganisation hippocampaler Netzwerke bei Temporallappen-Epilepsie	Campus Charité Mitte	06.6.2000	Kommission f. Forsch. u. wissenschaftl. Nachwuchs, Charité
Karl-Heinz Braunewell, Leibniz Institut f. Neurobiologie, Magdeburg	Intracellular neuronal calcium sensor (NCS) proteins: a role in physiological and pathophysiological signal transduction in the CNS	Institut für Physiologie	9.6.2000	Ins. f. Physiologie, AG Eder / Manahan-Vaughan
Ch. Helmstetter Abt. Epileptologie, Universitätsklinikum Bonn	Neuropsychologische Langzeitprognose bei fokalen Epilepsien	Hotel Steigenberger	14.6.2000	Epilepsie-Zentrum Berlin
	SFB 507 Meeting „Brain Tumors“	MDC	15.– 16.6.2000	SFB 507
Herbert Schwegler Inst. f. Anatomie, Otto-von-Guericke Universität, Magdeburg	Variations in the septohippocampal complex correlate with radial maze learning in mice	Institut für Physiologie	16.6.2000	Inst. f. Physiologie, AG Eder / Manahan-Vaughan
Horst Simon, Institut für Anatomie und Zellbiologie, Universität Heidelberg	The role of the engrailed transcription factors in the development of the midbrain dopaminergic neurons	Neurologie, Charité	19.6.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Matthias Bähr (Tübingen)	Rescueing axotomized retinal ganglion cells from secondary cell death; Inhibition of CPP32-like proteases	MDC	22. 6. 2000	FG Kettenmann / Hoffmann
Hans-Jochen Heinze, Klinik für Neurologie, Universität Magdeburg	Kombiniertes Imaging höherer Hirnfunktionen	Neurologie, Charité	26.6.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Clemens Boucsein MDC, Berlin-Buch	Ramifizierte Mikrogliazellen im akuten Hirnschnitt: ein neues Modell zum Studium des Aktivierungsvorganges	Institut für Physiologie	30.6.2000	Inst. f. Physiologie, AG Eder/ Manahan-Vaughan
Massimo Avoli Montreal Neurol. Inst & Hospital, McGill University, Canada	4-AP induced epileptiform activity in young and adult temporal cortex	Institut für Physiologie	3.7.2000	Inst. f. Physiologie, AG Heinemann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Adriano Fontana, Institut für Innere Medizin, Universitätsspital Zürich	The role of cytokines and MHC class II antigens in experimental autoimmune encephalitis	Neurologie, Charité	3.7.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Tallie Z. Baram University of California at Irvine, USA	Prolonged Febrile seizures: Hippocampal structural and functional consequences in the immature rat model	Institut für Physiologie	5.7.2000	Inst. f. Physiologie, AG Heinemann
Bertil Fredholm (Stockholm)	KATP channel activity promote oscillations in cytoplasmic free Ca ²⁺ ; eceptor-receptor interactions	MDC	6. 7. 2000	FG Kettenmann
Daniel Scott Zahm, Dept. Anatomy and Neurobiology, St. Louis University	Neuronal networks for action planning and emotions	Neurologie, Charité	10.7.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Paola Pedarzani MPI f. experiment. Med., Göttingen	Calcium-activated K-channels: Molecular identification and functional role in central neurons	Institut für Physiologie	12.7.2000	Inst. f. Physiologie, AG Heinemann
F. Zipp, W. Müller, C. Zimmer u. a. NWFZ, Charité Berlin	Überblick über die Forschungsthemen der einzelnen AGs	Inst. f. Anatomie	14.7.2000	1. Workshop d. NWFZ d. Charité
Reinhard Hohlfeld, München	Neuroprotective effects of immune cells: Implications for MS	MDC	20. 7. 2000	FG Kettenmann/ Hanisch
David Bilkey University of Otago Dunedin, New Zealand	Perirhinal cortex, place and motion	Institut für Physiologie	21.7.2000	Inst. f. Physiologie, AG der/ Manahan-Vaughan
Henning Scheich, Magdeburg	Acoustic pattern analysis, discrimination learning and concept formation in animal and human auditory cortex	MDC	24. 8. 2000	FG Kettenmann / Nolte
Verschiedene	Zwischenkolloquium des DFG-Schwerpunktes „Die Rolle von Mikrogliazellen bei Erkrankungen des Nervensystems“	MDC	11.– 3.09.2000	Kettenmann
Eva Sykova, Prag	Volume transmission in CNS and its relevance to neuron-glia interaction	MDC	21. 9. 2000	FGHK/Nolte
Verschiedene	„The Role of non-neuronal cells in neurological disease“	Botanischer Garten Potsdam	22.09.2000	SFB 507, Projektgruppe A
Wickliffe Abraham University of Otago Dunedin, New Zealand	Metaplasticity: activity-dependent regulation of synaptic plasticity	Institut für Physiologie	22.9.2000	Inst. f. Physiologie, AG Eder/ Manahan-Vaughan

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Joseph B. Mandeville, Massachusetts General Hospital NMR Center Instructor in Radiology, Harvard Medical School	The Biomechanical BOLD model (with focus on CBV)	Neurologische Klinik, Charité	26.9.2000	Neurologi- sche Klinik, Charité, AGVillrin- ger/Dirnagl
Cord-Michael Becker, Erlangen	The inhibitory glycine receptor and the molecular biology of hypertonic movement disorders	MDC	05.10.2000	FGHK/ Hanisch
Patric K. Stanton Albert Einstein College of Medicine, New York USA	FM1-43 imaging of long-term depression of presynaptic transmitter release in hippo- campus	Institut für Phy- siologie	06.10.2000	Inst. f. Phy- siologie, AG Eder/ Mana- han-Vaughan
Fabio Montrasio, University Hospital of Zurich, Institute of Neu- ropathology	Impaired prion replication in splens of mice lacking func- tional follicular dendritic cells	Neurologische Klinik, Charité	10.10.2000	Neurologi- sche Klinik, Charité, AG Dirnagl
Jennifer Pocock, London	Microglia-neuron interactions: implications for Alzheimers disease	MDC	13.10.2000	FGHK/ Witting
M.Hennerici Neurologie Mannheim, Uni Heidelberg	Phänomenologie und Verlauf von subkortikalen Ischämien	Neurologische Klinik, Charité	16.10.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Herbert Zimmermann Zool. Inst, J.-W. Goethe- Institut Frankfurt/Main	Plastische Schaltstellen im Gehirn: Zelluläre und moleku- lare Funktionsprinzipien der synaptischen Übertragung	Inst. f. Biologie, FU Berlin	19.10.2000	Johannes- Müller- Vorlesung Inst. f. Bio- logie, FU Berlin
H.Neumann MPI München	Selective cytotoxic attack of neurons by lymphocytes	Neurologische Klinik, Charité	23.10.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
F. Lang Physiol. Inst. Universität Tübingen	Zellvolumen-abhängige Kina- sen in der Regulation von Transportprozessen	Institut für Phy- siologie	25.10.2000	SFB 507
Gottfried Alber, Leipzig	A novel action of the interleu- kin-12 p40 subunit	MDC	26.10.2000	FGHK/Hanisch
E. Düzel IfN, Magdeburg	Störungen des deklarativen Gedächtnisses bei Patienten mit hippocampalen Läsionen	Neurologische Klinik, Charité	26.10.2000	Neurologi- sche Klinik, Charité, AG Dirnagl
W.H.Oertel Neurologie, Uni Marburg	Morbus Parkinson – Grundlagen- forschung, Diagnostik und The- rapie- eine Bestandsaufnahme	Neurologische Klinik, Charité	30.10.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
J.K.Krauss Neurochirurgie Mannheim, Uni Hei- delberg	Chirurgische Behandlung der Dystonien	Neurologische Klinik, Charité	13.11.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Michael J. Gutnick The Hebrew University of Jerusalem, Israel	An NMDA receptor mediated network of excitatory interneu- rons in layer 4 of the barrel cortex	Institut für Phy- siologie	16.11.2000	Inst. f. Phy- siologie, AG Heinemann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Melitta Schachner, Hamburg	Neural recognition molecules and the rejuvenating nervous system	MDC	17.11.2000	FGHK/Nolte
K.Messlinger Physiologie, Uni Erlangen	Trigeminale Nozizeption - Beitrag der Neurophysiologie zum Verständnis der Kopfschmerzentstehung	Neurologische Klinik, Charité	20.11.2000	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Karen Nieber, Leipzig	Neuroprotective mechanisms of adenosine A ₁ and A ₃ receptors	MDC	23.11.2000	FGHK/Hanisch
Verschiedene	7. Tagung "Mechanismen der Zell- und Gewebeschädigung"	Heidelberg / Weinheim	23.- 25.11.1999	A7 (Grune)
C.Kessler Neurologie, Uni Greifswald	Genetische - und Umweltfaktoren bei der Entstehung der Arteriosklerose hirnversorgender Gefäße	Neurologische Klinik, Charité	27.11.2000	Neuwiss. Kolloquium der Charité
Kresimir Krnjevic McGill University Montreal, Canada	2 Deoxyglycose-induced LTP: an unusual form of synaptic potentiation	Institut für Physiologie	28.11.2000	Inst. f. Physiologie, AG Heinemann
Michael Sendtner, München	Molecular mechanisms regulating survival of developing motoneurons	MDC	30. 11. 2000	FGHK/A. Hoffmann
Volkmar Lessmann Mol. Neurobiochem. Ruhr-Universität Bochum	Synaptic release of BDNF and presynaptic enhancement of AMPA synapses in hippocampal neurons	Institut für Physiologie	01.12.2000	Inst. f. Physiologie, AG Draguhn
Oleg Krishtal Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, Ukraine	P2X purinoreceptors: the function in hippocampus	Institut für Physiologie	04.12.2000	Inst. f. Physiologie, AG Heinemann
F. Aloisi Neurophysiology Uni Rom	Antigen presentation in the central nervous system	Neurologische Klinik, Charité	04.12.2000	Neuwiss. Kolloquium der Charité
N. Isaev, Moskau	Cell culture models of brain hypoxia	Neurologische Klinik, Charité	05.12.2000	GRK 238
M. Klein, Institut für Pathologie, Universitätsspital Basel	Die neuroimmunologische Schnittstelle von Prionen-Erkrankungen	Institut für Neuropathologie, Charité	14.12.2000	A. v. Deimling
Sunna Hausschild, Leipzig	Immunomodulating human monocytes. ADP-ribosylation: role in LPS-induced phosphorylation of two cytosolic proteins (p36/38) in monocytes	MDC	15.12.2000	FGHK/Hanisch
Claudia Grothe Hannover	The function of basic fibroblast growth factor during regeneration of the central and peripheral nervous system	FGHK	18.12.2000	A. Hoffmann
Stephan Grissmer Universität Ulm	Strukturaufklärung von Kaliumkanälen und Kaliumkanalmodulatoren zur möglichen Beeinflussung der Zellfunktion	Institut für Physiologie	08.12.2000	SFB 507

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
C.Hock Psychiatrie, Uni Zürich	Biologische Marker der Alzheimer Demenz	Neurologische Klinik, Charité	11.12.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
M.Joels Neurobiology, Uni Amsterdam	Modulation of hippocampal function of stress hormones	Neurologische Klinik, Charité	18.12.2000	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Andreas Reichenbach Leipzig	Proliferation of retinal glial (Müller) cells – the role of ATP receptors	MDC	11. 1. 2001	
Heinemann et al. (Berlin)	Anwendung von Patch-clamp und Imaging in den zellulären Neurowissenschaften.	MDC	26.03.2001	MDC
Verschiedene	Methodenkurs: Cerebrale Ischämieforschung: Modelle und Methoden	Exp.Neurologie	2.-3.4.2001	Dirnagl
Chris Linington MPI München	Milk and Mimicry: Environmental v. genetic modulation of self-tolerance in multiple sclerosis	Neurologische Klinik, Charité	23.04 2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Herrmann Rohrer MPI Frankfurt	Molekulare Kontrolle neuronaler Differenzierung im autonomen Nervensystem	Neurologische Klinik, Charité	7.05 2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Kamil Ugurbil Center for Magnetic Resonance Research, Univ. of Minnesota Medical School, Minneapolis, MN, USA	Imaging Brain Function and Neurochemistry using High Field Magnetic Resonance Kamil Ugurbil	Neurologische Klinik, Charité	14.05.2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Klaus-Armin Nave MPI für Experimentelle Medizin, Göttingen	Transgene Mausmodelle humaner Myelinisierungsstörungen	Neurologische Klinik, Charité	21.05.2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Patrik Brundin Wallenberg Neuroscience Center, Department of Physiological Sciences, Lund University, Sweden	Neural transplantation in Parkinson's Disease: current status and future developments	Neurologische Klinik, Charité	28.05. 2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Sigrid Poser Neurologische Klinik, Universität Göttingen	Epidemiologie und Diagnose von Prionerkrankungen	Neurologische Klinik, Charité	11.06.2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Claudia Sommer Neurologische Universitätsklinik Würzburg	Zytokine bei neuropathischem Schmerz	Neurologische Klinik, Charité	18.06.2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Patrik Vuilleumier Institute of Cognitive Neurosciences, University College London, UK	Two sides of perception in spatial neglect and extinction: Evidence from behaviour, fMRI and ERP studies	Neurologische Klinik, Charité	25.06.2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Valina L. Dawson Department of Neurology, Neuroscience and Physi- ology, Johns Hopkins University School of Medicine USA	Unraveling novel mechanisms of Neuroprotection and Neuro- toxicity	Neurologische Klinik, Charité	2.07.2001	Neurowiss. Kolloquium der Charité
Priller	Chorea Huntington und spino- zerebelläre Ataxien (Seminar)	Berlin	2002 2003 2004	Neurologi- sche Klinik, Charité
Priller	Doktorandenseminar	Berlin	2002-2004	Experimen- telle Neuro- logie, Charité
Priller	Role of glial cells in neurolog- ical disorders (Seminar)	Berlin	2003	International Neuroscience Master Prog- ram
Priller	Alzheimer`s disease (Seminar)	Berlin	2003	International Neuroscience Master Prog- ram
Dirnagl	Methods Course 'Cerebral ischemia: In vivo and in vitro models'	Berlin	2002,2003, 2004	Experimen- telle Neuro- logie, Charité
Dirnagl	Cerebrovascular Disorders	Berlin	2002-2004	International Neuroscience Master Prog- ram
Dirnagl	Doktorandenseminar	Berlin	2002-2004	Experimen- telle Neuro- logie, Charité
Dirnagl	Grant writing	Berlin	2002-2004	International Neuroscience Master Prog- ram
Dirnagl	Oral and poster presentation	Berlin	2002-2004	International Neuroscience Master Prog- ram
Dirnagl	Pathophysiologie des ZNS (Hauptvorlesung und Seminar)	Berlin	2002-2004	Charité
F. Zipp	Pathogenese der MS	Kaiserin- Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
W. Brück (Institut für Neuropatho- logie, Charité)	Heterogenität der MS	Kaiserin- Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
R. Zschenderlein	Abgrenzung der MS zu ande- ren Erkrankungen	Kaiserin- Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
T. Sauter (Urologische Klinik Benjamin-Franklin)	Blasenfunktionsstörungen bei MS	Kaiserin-Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
K.-P. Wandinger	Impfungen und MS	Kaiserin-Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
J. Lünemann	Aussichten für neue Therapien	Kaiserin-Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
N. Kassim	MS-Therapie der progredienten MS	Kaiserin-Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
O. Aktas/J. Bellmann-Strobl	Diagnosestellung/(Früh)therapie der MS: Fallbeispiele	Kaiserin-Friedrich-Haus, CCM, Berlin	WS 2001/2002	MS-Seminar der Charité, Zipp
C. Infante-Duarte O. Aktas F. Zipp K-P. Wandinger F. Zipp	Basics of immunology Practical aspects of EAE Clinical Neuroimmunology Multiple Sclerosis Patient / MRT	NWFZ/ Seminarraum	17.03.03 17.03.03 20.03.03 20.03.03 20.03.03	Med. Neurosci. Zipp
C. Infante-Duarte / F. Zipp	Methods: practical cell culture and adjacent methods	NWFZ/ Labore der AG Zipp	21.03.03	Med. Neurosci., Zipp
Giancarlo Comi (Scientific Institute and University Ospedale San Raffaele, Milan, Italien)	Physiopathology of multiple sclerosis	Charite, Campus Virchow Klinikum, Berlin	Feb. 2003	GRK 238
Bruce Trapp (Department of Neurosciences, Lerner Research Institute, Cleveland, USA)	Pathobiology of neurological disability in multiple sclerosis	Charite, Campus Virchow Klinikum, Berlin	Feb. 2003	GRK 238
Michael Hengartner (Institut für Molekularbiologie, Universität Zürich Schweiz)	Basic apoptosis mechanisms	Charite, Campus Virchow Klinikum, Berlin	Feb. 2003	GRK 238
O. Aktas K-P. Wandinger J. Würfel J. Bellmann-Strobl	Pathogenese und Therapie der MS Infektionsbiologie der MS Neues in der Kernspindidiagnostik der MS Besondere Aspekte in der immunmodulatorischen Therapie der MS	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	14.11.03 14.11.03 14.11.03 14.11.03	Institut f. Neuroimmunologie Zipp
Jack Antel (McGill University, Montreal, Canada)	New pathogenetic aspects in multiple sclerosis	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	15.11.03	Institut f. Neuroimmunologie, Zipp
Alastair Compston (University of Cambridge, UK)	Genetics in multiple sclerosis	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	15.11.03	Institut f. Neuroimmunologie, Zipp
Richard Ransohoff (Cleveland Clinic, USA)	New aspects in chemoattraction of immune cells towards the brain	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	15.11.03	Institut f. Neuroimmunologie, Zipp

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Roland Martin (NIH Bethesda, USA)	New therapeutic concepts and options for clinical trials	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	15.11.03	Institut f. Neuroimmunologie, Zipp
Scott Zamvil (UCSF San Francisco, USA)	Statins in multiple sclerosis – a new therapeutic avenue?	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	15.11.03	Institut f. Neuroimmunologie, Zipp
Henry McFarland (NIH Bethesda, USA)	Outlook in clinical questions – from bench to bedside	Hörsaal der Inneren Medizin, CCM, Berlin	15.11.03	Institut f. Neuroimmunologie, Zipp
Bechmann, Ingo	Basic Neuroimmunology	Centrum Anatomie, Mitte	WS 2001/2002 2002/2003	
Bechmann, Ingo	The immune privileged brain	NWFZ	März/ September 2003	Studiengang Medical Neurosciences
Bechmann, Ingo	Assessment of neuronal Damage	Centrum Anatomie, CCM	März 2004	Studiengang Medical Neurosciences
Albert Becker, Universitätsklinikum Bonn	Stage and subfield associated expression array analysis in temporal lobe epilepsy	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	23.1.2002	Uwe Heine- mann
Kurt Gottmann Ruhr Universität Bochum	Connecting the neocortex: formation and developmental maturation of glutamatergic synapses	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	1.2.2002	Andreas Draguhn
Mohsin Raza University of Karachi	Anticonvulsant activities of delphinium denudatum	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	8.2.2004	Uwe Heine- mann
Jürgen Bolz, Friedrich Schiller Universität Jena	Verschaltungsmoleküle für die Konstruktion kortikaler Verbindungen	Neurologische Klinik, CCM	06.05.2002	Uwe Heine- mann
Dietmar Kuhl, Universität Hamburg	Learning about activity-dependent genes	Neurologische Klinik, CCM	13.05.2002	Uwe Heine- mann
Joachim Lübke Universität Freiburg	Three dimensional reconstruction of a giant glutamatergic synapse between the calyx of Held and a principal neuron in the medial nucleus of the trapezoid body and its functional implications for synaptic transmission	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	17.5.2002	Andreas Draguhn
Gabriel Curio, Benjamin Franklin Klinikum, FU Berlin	Non-invasive MEG/EEG analysis of cerebral population spikes in man	Neurologische Klinik, CCM	27.05.2002	Uwe Heine- mann
Peter Lipp, Universität Zürich	New approaches for analysis of cognitive impairment in genetically modified mice	Neurologische Klinik, CCM	03.06.2002	Uwe Heine- mann
Gabor Tamas, University of Szeged	Information transmission in identified neocortical networks	Institut für Physiologie	7.6.2002	Andreas Draguhn

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Rolf Diehl, Alfred-Krupp- Krankenhaus, Essen	Pathomechanismen und Differentialdiagnose neurogener Synkopen	Neurologische Klinik, CCM	10.06.2002	Uwe Heine- mann
Uwe Drescher, King's College, London	Axon guidance by ephrins and Eph receptors	Neurologische Klinik, CCM	17.06.2002	Uwe Heine- mann
Jens Jordan, Charité Berlin-Buch	Noradrenalin-Transporter und orthostatische Intoleranz	Neurologische Klinik, CCM	24.06.2002	Uwe Heine- mann
Peter Vajkoczy, Universi- tät Heidelberg, Klinikum Mannheim	Mechanisms of glioma vascu- larisation	Neurologische Klinik, CCM	01.07.2002	Uwe Heine- mann
Randolf Menzel, FU Berlin	Neural mechanisms of learning and memory: what a small brain tells us	Neurologische Klinik, CCM	08.07.2002	Uwe Heine- mann
Wickliffe Abraham, University of Otago, New Zealand	Induction and experience- dependent consolidation of stable LTP in the hippocampus	Johannes-Müller- Institut für Phy- siologie	18.7.2002	Karl-Heinz Braunewell
Joachim W. Deitmer, Universität Kaiserslautern	Gliale Calcium Signale im akuten Hirnschnitt	Johannes-Müller- Institut für Phy- siologie	22.7.2002	Uwe Heine- mann, Clau- dia Eder
Scott Adams, Vanderbilt University Nashville	Electrophysiological Investiga- tion of coupling in the human serotonin transporter	Seminarraum, NWFZ, CCM	14.8.2002	Wolfgang Müller
Steven Petrou, University of Melbourne	GABA _A receptor mutations in human epilepsy	Institut für Physiologie	13.9.2002	Uwe Heine- mann
Mike Gutnick, Hebrew University, Re- hovot	Persistent sodium currents in cortical neurons: the mystery of the missing channels	Johannes-Müller- Institut für Phy- siologie	18.9.2002	Uwe Heine- mann
Kobi Fischer, University of Zürich	Hippocampal oscillations, principles of integrative net- work function	Johannes-Müller- Institut für Phy- siologie	27.9.2002	Uwe Heine- mann
Peter Carlen and H. Kho- srovani Universität Toronto	Transition to Seizures; Facts and Fiction The Preictal Period: Search for Anticipation and Control	Neurologische Klinik, CCM	14.10.2002	Uwe Heine- mann
Angelika Richter FU Berlin	Animal Models of Dystonia	Neurologische Klinik, CCM	21.10.2002	Uwe Heine- mann
F. Wörmann, Bielefeld	Functional MR in epilepsy	Institut für Physiologie	31.10.2002	Uwe Heine- mann
N. Moshé, New York	Age-specific consequences of seizures on hippocampal injury	Johannes-Müller- Institut für Phy- siologie	31.10.2002	Uwe Heine- mann
Giuliano Avanzini, Mailand	Na channel implications in the pathogenesis of human epilepsies	Institut für Physiologie	31.10.2002	Uwe Heine- mann
Heinz Beck, Universität Bonn	Mechanisms of pharmacoresis- tance in human temporal lobe epilepsy	Johannes-Müller- Institut für Phy- siologie	31.10.2002	Uwe Heine- mann
J. Mifsud, Malta	Drug therapy in epilepsy, new perspectives, new implications	Institut für Physiologie	31.10.2002	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Albrecht Schwab, Universität Würzburg	Potassium channels on the move	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	1.11.2002	Claudia Eder
Andrew Chan, Universitätsklinik Würzburg	Phagocytosis of apoptotic inflammatory cells by glia	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	1.11.2002	Claudia Eder
John O'Keefe University College London	The role of the hippocampus in spatial and episodic memory	Neurologische Klinik, CCM	4.11.2002	Uwe Heine- mann
Ortrud Steinlein Universitätsklinikum Bonn	Ion Channel Mutations in Idiopathic Epilepsy	Neurologische Klinik, CCM	11.11.2002	Uwe Heine- mann
Gennadij Raivich, University College of London	Mikroglia als Sensor für die Hirnpathologie: Was sind die Signale?	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	13.11.2002	Claudia Eder
Anne McKinney University of Zurich	The influence of synaptic activity on the dynamics of dendritic spines	Neurologische Klinik, CCM	18.11.2002	Uwe Heine- mann
Kumlesh Dev, Novartis Pharma AG, Schweiz	Metabotropic glutamate receptors and their differential interaction with the PDZ domains of PICK1, GRIP and Syntenin	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	22.11.2002	Denise Ma- nahan- Vaughan
Richard Frackowiak University College London	Imaging Structure and Function: Implications for Clinical Neuroscience	Neurologische Klinik, CCM	25.11.2002	Uwe Heine- mann
Heinz Wässle MPI für Hirnforschung	The Retina an Accessible Part of the Brain	Neurologische Klinik, CCM	2.12. 2002	Uwe Heine- mann
Stefan Offermanns Universität Heidelberg	Heterotrimeric G-proteins and plexins in neuronal signalling - are they functionally linked?	Neurologische Klinik, CCM	9.12. 2002	Uwe Heine- mann
Martin Schwab University of Zurich	Repair of the Lesioned Central Nervous System; the Role of Nogo Proteins	Neurologische Klinik, CCM	16.12.2002	Uwe Heine- mann
Dan Lindholm University of Uppsala	Role of Inhibitory Apoptosis Protein (IAPs) in Neurogeneration and Disease	Neurologische Klinik, CCM	13.1.03	Uwe Heine- mann
Maria Torvinen, Karolinska Institute, Stockholm	Adenosine and Dopamine receptor interactions and formation of functional heteromeric complexes	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	17.1.2003	Uwe Heine- mann
Michael Sendtner Universität Würzburg	Signalling Mechanisms for Survival of Developing and Postnatal Motoneurons	Neurologische Klinik, CCM	20.1.03	Uwe Heine- mann
Brigitte Wildemann Universität Heidelberg	Peripheral Immunetolerance and Multiple Sclerosis	Neurologische Klinik, CCM	27.1.03	Uwe Heine- mann
Yves von Cramon MPI of Cognitive Neuro- science, Leipzig	Ungewiss ist gewiss: Wie der frontomediane Cortex damit umgeht	Neurologische Klinik, CCM	3.2.03	Uwe Heine- mann
Raymond Voltz Universität München	Paraneoplastic Neurological Autoimmune Disorders: an Update	Neurologische Klinik, CCM	10.2.03	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Erwan Bezard Laboratoire de Neurophysiologie, Bordeaux	Dynamic approach of Parkinson's disease pathophysiology: specific therapeutics for specific stages	Neurologische Klinik, CCM	17.2.03	Uwe Heine- mann
Symposium des GRK	Development and disease of brain	Lehrgebäude, Campus Virchow Klinikum	24.2.- 25.2.2003	GRK 238, Uwe Heine- mann
Reinhard Jahn, Max Planck Institut f. Biophysikalische Chemie, Göttingen	Molecular mechanisms of exocytosis	Neurologische Klinik, CCM	14.04.03	Uwe Heine- mann
Bob Burgoyne, Physiological Laboratory, University of Liverpool	The role of SNAREs and their regulators in membrane fusion dynamics during regulated exocytosis	Neurologische Klinik, CCM	28.04.03	Uwe Heine- mann
Pawel Kermer, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universitätsklinikum Göttingen	The effects of neuronal BAG1 over-expression in vitro and in vivo.	Neurologische Klinik, CCM	05.05.03	Uwe Heine- mann
Juan Bernal, Inst. de Investig. Biomedicas Alberto Sols, Universidad Autonoma de Madrid	Role of thyroid hormone and its nuclear receptors in brain development and function	Neurologische Klinik, CCM	12.05.03	Uwe Heine- mann
Esther Shohami, Hebrew Univ. Sch. Pharmacy, Dept. Pharmacology, Israel	Oxidative stress and Inflammatory response after traumatic brain injury	Neurologische Klinik, CCM	19.05.03	Uwe Heine- mann
Andre Nieoullon, Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Fonctionnelle, Marseille	Putative contribution of the excitatory amino acids in neurodegenerative diseases	Neurologische Klinik, CCM	26.05.03	Uwe Heine- mann
Pico Caroni, Friedrich Miescher Institute, Basel, Schweiz	Turnover of presynaptic terminals in mature hippocampal networks	Neurologische Klinik, CCM	02.06.03	Uwe Heine- mann
Herbert Schwegler, University of Magdeburg	The effects of postnatal thyroxine treatment on development and function of hippocampus and amygdala	Neurologische Klinik, CCM	16.06.03	Uwe Heine- mann
Louis Ptacek, University of California San Francisco	Channelopathies: From disorders of muscle to epilepsy.	Neurologische Klinik, CCM	23.06.03	Uwe Heine- mann
Thomas Schikorski, Salk Institute, La Jolla, California	Electron-optical imaging of synaptic transmission and plasticity	NWFZ, Seminarraum 3. Ebene, CCM	24.6.2003	Wolfgang Müller
Ruth Empson, Royal Holloway University of London	Applying the brakes to seizures – a key role for adenosine	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	30.6.2003	Uwe Heine- mann
Klaus-Michael Debatin, Universitätskinderklinik Ulm	Apoptosis pathways in cancer therapy and tissue damage.	Neurologische Klinik, CCM	07.07.03	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Klaus Toyka, Neurologische Klinik, Universität Würzburg	Pathogenesis and Treatment of the Guillain-Barré Syndrome: experimental strategies	Neurologische Klinik, CCM	14.07.03	Uwe Heine- mann
Juri Brankack, Czech. Acad. of Science	Entorhinal inputs to dentate gyrus and task learning	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	15.7.2003	Uwe Heine- mann
Valentin Stein, UCSF, California	Cellular and molecular aspects of synaptic plasticity: PSD-95 mimics LTP	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	16.7.2003	Uwe Heine- mann
Rafael Gutierrez, Centro de Investigacion y Estudios Avanzados del I.P.N., México	The GABAergic phenotype of the "glutamatergic" granule cells	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	9.9.2003	Uwe Heine- mann
Daniela Kaufer, Stanford University	Recombinant strategies to remodelling neuronal responses to injury	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	15.9.2003	Uwe Heine- mann
Livia de Hoz, University of Edinburgh	Spatial memories: can the hippocampus let go?	Institut für Physiologie	19.9.2003	Uwe Heine- mann
Pierre Gressens, INSERM, Paris	Excitotoxicity and cytokines in the perinatal period	Neurologische Klinik, CCM	20.10.03	Uwe Heine- mann
Peter Brown, University College London	Pathological synchronisation in the basal ganglia of the parkinsonian human	Neurologische Klinik, CCM	27.10.03	Uwe Heine- mann
Katharina Braun, Universität Magdeburg,	Juvenile emotional experience modulates brain development	Neurologische Klinik, CCM	03.11.03	Uwe Heine- mann
Peter Falkai, Universität Bonn	Schizophrenia: From the genotype to the phenotype of a severe mental disorder	Neurologische Klinik, CCM	10.11.03	Uwe Heine- mann
Christine Klein, Universität Lübeck	What's new in dystonia and parkinson genetics?	Neurologische Klinik, CCM	17.11.03	Uwe Heine- mann
Yury Kovalchuk, Universität München	Real time imaging of calcium signals in dendrites and spines of pyramidal neurons.	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	18.11.2003	Uwe Heine- mann
Dominique Engel, Physiologisches Institut der Uni Freiburg	Functional properties of voltage-gated Na ⁺ channels in a cortical 'en passant' terminal	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	18.11.2003	Uwe Heine- mann
Ulrich Bogdahn, Bezirksklinikum Regensburg	TGF-beta based treatments for malignant glioma	Neurologische Klinik, CCM	24.11.03	Uwe Heine- mann
Angelique Bordey, Yale University	Glial cell functions: from neurogenesis to synaptic transmission	Johannes-Müller-Institut für Physiologie	25.11.2003	Uwe Heine- mann
Shlomo Rotshenker, Hebrew University, Israel	Microglia and macrophage activation and the regulation of complement-receptor-3 (CR3/MAC-1) mediated myelin phagocytosis in injury and disease	Neurologische Klinik, CCM	01.12.03	Uwe Heine- mann
Julien Bogousslavsky, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne	Stroke in the posterior circulation	Neurologische Klinik, CCM	08.12.03	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Göran Nilsson, University of Oslo	Vertebrates with anoxia tolerant brains	Neurologische Klinik, CCM	15.12.03	Uwe Heine- mann
Lucas Pozzo-Miller, University of Alabama	Modulation of hippocampal synapses by BDNF	NWFZ, Seminar- raum 3. Ebene, CCM	17.12.2003	Wolfgang Müller
Andreas Steck, University Hospital, Basel	Immune mechanisms and novel treatment for demyeli- nating neuropathies	Neurologische Klinik, CCM	12.01.04	Uwe Heine- mann
Walter Zieglgänsberger, MPI für Psychiatrie Mün- chen	No gain – no pain	Neurologische Klinik, CCM	19.01.04	Uwe Heine- mann
Marlies Knipper, Hörfor- schungszentrum Tübingen	Hormones and neurotrophic factors without which hearing fades away	Neurologische Klinik, CCM	26.01.04	Uwe Heine- mann
Christian Behl, Universi- tät Mainz,	Estrogen and Corticotropin Releasing Hormone: Two "un- usual" neuroprotective hor- mones".	Neurologische Klinik, CCM	02.02.04	Uwe Heine- mann
Katja Grohmann, Univer- sität Würzburg,	Spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1 (SMARD1): an overview	Neurologische Klinik, CCM	09.02.04	Uwe Heine- mann
Symposium	„Hippocampal function and dysfunction“	Institut für Mik- robiologie, CCM und Schloss Blan- kensee	19.2.- 22.2.2004	H. Beck, A. Draguhn, A. Konnerth, H. Luhmann
Israel Sekler	The role of zinc receptor and transporters in cellular zinc homeostasis	MDC	15.01.2003	Kettenmann
Anne Baron-van Evercoo- ren	Neural progenitors and CNS myelin repair	MDC	13.03.2003	Kettenmann
Erwin Neher	Dissecting Short Term Synap- tic Plasticity at the Calyx of Held'	MDC	16.05.2003	Kettenmann
Peter Seeburg	Genetic manipulation of syn- aptic function in the mouse: Probing synaptic plasticity and spatial learning	MDC	20.06.2003	Kettenmann
Monica di Luca	Structural organization of the excitatory synapse: role of MAGUK in the Postsynaptic Density	MDC	09.07.2003	Kettenmann
Mami Noda	The Expression and Function of Bradykinin Receptor in Rat Cultured Microglia.	MDC	18.09.2003	Kettenmann
Joachim Luebke	Morphological and functional aspects of excitatory synaptic transmission in the barrel cortex.	MDC	27.11.2003	Kettenmann
Alison K. Hall	Sensory neurons in develop- ment and injury: the role of Activin	MDC	15.12.2003	Kettenmann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Mitsuhiko Morita	Dual regulation of calcium oscillation in astrocytes by growth factors and pro-inflammatory cytokines via the mitogen-activated protein kinase cascade	MDC	07.01.2004	Kettenmann
Wolf Singer	The role of neuronal synchrony in signal processing and learning	MDC	23.01.2004	Kettenmann
Frauke Zipp	Immune cell mediated damage mechanisms in brain autoimmunity - implications for the therapy of multiple sclerosis	MDC	23.02.2004	Kettenmann
M. Richardson Hammersmith Hospital, London, Epilepsy Research Group	fMRI as a clinical tool: studies of memory in epilepsy	Neurologische Klinik, CCM	18.04.2005	Uwe Heine- mann
Hartmut Wekerle Max-Planck-Institut für Neurobiologie, Martinsried	Multiple Sklerosis: immunological Self-Hatred and its Neurological Consequences	Neurologische Klinik, CCM	25.04.2005	Uwe Heine- mann
Michel Lazdunski Institut de Pharmacologie Moleculaire et Cellulaire	Sensing with ion channels	Neurologische Klinik, CCM	02.05.2005	Uwe Heine- mann
Johannes Schwarz Neurologie Universität Leipzig	Knock-In Mäuse mit hypersensitiven alpha4 nicotineren Rezeptoren	Neurologische Klinik, CCM	09.05.2005	Uwe Heine- mann
Pablo Castillo Albert Einstein Medical School, Dept. of Neuroscience	Endocannabinoids and synaptic plasticity	Neurologische Klinik, CCM	23.05.2005	Uwe Heine- mann
Eberhard Fuchs German Primate Center, Göttingen, Clinical Neurobiology Laboratory	Behavioral stress and its impact on brain plasticity	Neurologische Klinik, CCM	30.05.2005	Uwe Heine- mann
Dimitri Kullmann University College London, Inst. of Neurology		Neurologische Klinik, CCM	06.06.2005	Uwe Heine- mann
Hartwig Wolburg Universität Tübingen	Managing the blood-brain barrier: interplay between astroglia, the extracellular matrix and the endothelial cells	Neurologische Klinik, CCM	13.06.2005	Uwe Heine- mann
Birgit Liss Universität Marburg	Differential vulnerability of dopaminergic neurons in Parkinson's disease- mouse models and mechanisms	Neurologische Klinik, CCM	20.06.2005	Uwe Heine- mann
Thomas Boraud CNRS Bordeaux	Evolution of synchronous oscillations and Parkinson symptoms in monkey and rat models of PD	Neurologische Klinik, CCM	04.07.2005	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Burkhard Becher Dept. Neurology/ Neuroimmunology Universität Zürich	Induction of autoimmunity in the absence of secondary lymphoid organs: What is required to drive Neuro-Inflammation?	Institut für Anatomie, CCM	18.10.2005	Frauke Zipp
Marco Prinz Institut für Neuropathologie, Georg-August-Universität Göttingen	Brain-specific reactions during autoimmune CNS diseases	Institut für Anatomie, CCM	01.11.2005	Josef Priller
Christo Goridis ENS, Paris	The Phox2 transcription factors in brainstem development and evolution	Neurologische Klinik, CCM	08.11.2005	Uwe Heine- mann
Robert Malinow Cold Spring Harbor Laboratories, New York	Mechanisms of Synaptic Plasticity	Neurologische Klinik, CCM	22.11.2005	Uwe Hei- mann
Hagai Bergmann Hadassah Medical School The Hebrew University Jerusalem	Multiple neurons studies of information processing in the basal ganglia: from dopamine reinforcement learning to synchronized activity in the MPTP primate model of Parkinsonism	Neurologische Klinik, CCM	29.11.2005	Uwe Heni- mann
Thomas Klockgether Direktor der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Bonn	Neurobiology of spinocerebellar ataxias	Institut für Anatomie, CCM	06.12.2005	Frauke Zipp
Ralf Dringen Biology/Chemistry, University Bremen	Oxidative stress and antioxidative defence of brain cells	Institut für Anatomie, CCM	13.12.2005	Uwe Heine- mann
Philipp Winn School of Psychology, St. Andrews University, UK	Putting the brain into brainstem: higher psychological functions in lower brain systems	Institut für Anatomie, CCM	10.01.2006	Uwe Heine- mann
Stefan Offermanns Inst. für Pharmakologie Universität Heidelberg	GPCRs and plexins in neural development and function	Institut für Anatomie, CCM	24.01.2006	Uwe Heine- mann
Trevor Owens Neuroimmunology Medical Biotechnology Centre, University of Southern Denmark	Glial and immune responses to experimental brain injury	Institut für Anatomie CCM	31.01.2006	Frauke Zipp
Monica J. Carson Division of Biomedical Sciences, University of California	Microglial activation	Institut für Anatomie, CCM	07.02.2006	Ingo Bech- mann
Jörg Geiger MPI für Hirnforschung Frankfurt/ Main	Synaptic transmission and plasticity into GABAergic interneurons un the hippocampus and neocortex	Institut für Anatomie, CCM	18.04.2006	Uwe Heine- mann
Andreas Draguhn Physiologie und Pathophysiologie, Heidelberg	High-frequency network oscillations in the mammalian hippocampus	Institut für Anatomie, CCM	25.04.2006	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Wolfgang Wurst Entwicklungsgenetik Neuhardenberg	Dissection of the genetic network controlling midbrain dopaminergic neuron development	Institut für Anatomie, CCM	02.05.2006	Uwe Heine- mann
Michael Hasselmo Psych. Center Memory and Brain, University Boston	Acetylcholine and cortical memory function	Institut für Anatomie, CCM	09.05.2006	Uwe Heine- mann
Klaus Peter Hoffmann Allg. Zoologie und Neuro- biologie, Universität Bochum	Changes in the visual system of albinotic mammals : From behaviour to molecules	Institut für Anatomie, CCM	16.05.2006	Uwe Heine- mann
Richard Ransohoff Neurosciences, Cleveland, Ohio	Chemokines and chemokine receptors in the nervous system: Inflammation, immunity and much more	Institut für Anatomie CCM	24.05.2006	Ingo Bech- mann
Zoltan Molnar Human Anatomy and Genetics, Oxford	Development of thalamocortical projections: Lessons from Mouse mutants	Institut für Anatomie, CCM	30.05.2006	Robert Nitsch
Magdalena Götz GSF- Forschungszentrum/ Umwelt und Gesundheit	Glial cells generate neurons: new approaches to neuronal replacement	Institut für Anatomie, CCM	06.06.2006	Uwe Heine- mann
Nenad Sestan Neurobiology, Yale School of Medicine	The molecular control of py- ramidal neuron identity and connectivity	Institut für Anatomie CCM	13.06.2006	Uwe Heine- mann
Avid Brindley Signal Transduction Laboratories Edmonton	Regulation of cell migration by lipid phosphatases: implica- tions for wound healing, atherosclerosis and cancer	Institut für Anatomie, CCM	20.06.2006	Uwe Heine- mann
Serge Rivest Lab Molec Endocrinol, Universität Laval, Quebec	The role of innate immunity and bone marrow stem cells in brain diseases and repair	Institut für Anatomie CCM	27.06.2006	Josef Priller
Phillip Popovich Dept. of Molecular Virol- ogy, Immunology and Medical Genetics, Columbus, USA	Central and peripheral conse- quences of activating the im- mune system after spinal cord injury	Institut für Anatomie, CCM	24.10.2006	Sven Hendrix
Ole Petter Ottersen Molecular Biology and Neuroscience, Oslo Norway	Physiological and pathophysio- logical roles of aquaporin water channels in brain	Institut für Anatomie, CCM	31.10.2006	Ingolf Blasig
Jan Born Institute of Neuroendocri- nology, Lübeck	Memory consolidation during sleep- psychological and neu- rophysiological mechanisms	Institut für Anatomie, CCM	07.11.2006	Uwe Heine- mann
David Attwell Dept. of Physiology, Uni- versity College London	Neurotransmitter signalling in the life and death of oligoden- drocytes	Institut für Anatomie, CCM	14.11.2006	Ulrich Dir- nagl
Winfried Denk Dept. of Biomedical Op- tics, MPI, Heidelberg	Watching the brain compute and tracing its wires: new methods to solve old riddles	Institut für Anatomie, CCM	21.11.2006	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Eva-Maria Mandelkow MPI for Structural Molecular Biology, Hamburg	Tau protein- cellular roles and relationship with Alzheimer neurodegeneration	Institut für Anatomie, CCM	28.11.2006	Uwe Heine- mann
Johan Storm Dept.of Physiology, IMB, and Centre for Molecular Biology and Neuroscience Oslo, Norway	Threshold currents controlling neuronal firing patterns and animal behaviors: a combined experimental and computational approach	Institut für Anatomie CCM	05.12.2006	Uwe Heine- mann
Zsusa Fabry Dept. of Pathology and Laboratory Medicine, Wisconsin, USA	Breaking immune tolerance in the CNS: The role of dendritic cells, infections and trauma in the initiation of CNS autoimmunity	Institut für Anatomie, CCM	12.12.2006	Ingo Bech- mann
Hans Lassmann Centre for Brain Research Vienna, Austria	Multiple Sclerosis beyond autoimmunity	Institut für Anatomie CCM	09.01.2007	Josef Priller
Kai Kaila Dept. of Biological and Environmental Sciences Helsinki	Role of GABAergic transmission in the generation of network evants (GDPs) in the developing hippocampus	Institut für Anatomie, CCM	16.01.2007	Uwe Heine- mann
Fritjof Helmchen Dept. of Neurophysiology Brain Research Institute University of Zürich	Two-photon imaging of neuronal and glial network activity	Institut für Anatomie CCM	23.01.2007	Uwe Heine- mann
Ivan Soltesz Dept. of Anatomy and Neurobiology, California, USA	Activity-Dependent plasticity of endocannabinoid signalling	Institut für Anatomie, CCM	30.01.2007	Uwe Heine- mann
Ole Paulsen Dept. of Physiology, Oxford University, UK	Mechanisms underlying gamma oscillations in entorhino-hippocampal circuits	Institut für Anatomie CCM	06.02.2007	Uwe Heine- mann
Rustem Khazipov Istitut de Neurobiologie de la Mediterranee Marseille, France	Developmental changes in GABA signalling and cortical network activities	Institut für Anatomie, CCM	17.04.2007	Uwe Heine- mann
Wieland Huttner MPI for Molecular Cell Biologi and Genetic, Dresden	The cell biology of neural stem and progenitor cells	Institut für Anatomie CCM	24.04.2007	Uwe Heine- mann
Georg Haase Institut de Neurobiologie de la Mediterranee Marseille, France	Motor neuron diseases: a Problem in intracellular trafficking?	Institut für Anatomie CCM	08.05.2007	Uwe Heine- mann
Hannah Monyer Dept. of Clinical Neuro- biology, University of Heidelberg	Molecular approaches to study the function of GABAergic interneurons in vitro and in vivo	Institut für Anatomie, CCM	15.05.2007	Uwe Heine- mann
Andrea Volterra Dept. of Cell Biology and Morphology Lausanne, Switzerland	Glutamate exocytosis from astrocytes: Role in synaptic functions and alterations in brain pathologies	Institut für Anatomie CCM	22.05.2007	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
David Kornack Center for Aging and Developmental Biology University of Rochester, USA	A lifetime of neurogenesis in the primate brain	Institut für Anatomie CCM	29.05.2007	Uwe Heine- mann
Ernd Fakler Dept. of Physiology II University of Freiburg	Signaling through Cav channels in the brain- a view by functional proteomics	Institut für Anatomie, CCM	05.06.2007	Uwe Heine- mann
Winfried Denk Dept. of Biomedical Optics, MPI Heidelberg	Watching the brain compute and tracing its wires: new methods to solve old riddles	Institut für Anatomie CCM	12.06.2007	Uwe Heine- mann
Michael T. Heneka Dept. of Neurology, Molecular Neurology Unit, University of Münster	Nuclear hormone receptor regulation of neuroinflammation and neurodegeneration	Institut für Anatomie CCM	19.06.2007	Uwe Heine- mann
Axel Methner Clinic of Neurology Heinrich-Heine- University Düsseldorf	Bax inhibitor-1 is implicated in ischemic preconditioning and protects from cell death by reducing the ER calcium	Institut für Anatomie, CCM	26.07.2007	Uwe Heine- mann
Thoms R. Zoellner Biol. Dept. of the Morrill Science Center, University of Massachusetts Amherst, USA	Thyroid hormone and brain development: mechanisms of action and of endocrine disruption	Institut für Anatomie CCM	03.07.2007	Uwe Heine- mann
Juan Lerma Instituto de Neurociencias, CSIC, Miguel Hernandez University, Alicante, Spain	Canonical and non-canonical signalling by kainite receptors	Institut für Anatomie CCM	10.07.2007	Uwe Heine- mann
Hugo Besedovsky Institute of Physiology University of Marburg	Il-1 re-sets glucose homeostasis at brain levels	Institut für Anatomie, CCM	23.10.2007	Uwe Heine- mann
André Fisahn Dept. of Neuroscience Karolinska Institute Stockholm Schweden	Modulation of hippocampal network oscillations in schizophrenia	Institut für Anatomie CCM	29.10.2007	Uwe Heine- mann
Yuri Persidsky Dept. of Pathology, University of Nebraska, USA	Blood brain barrier injury in neuroinflammation: Molecular mechanisms and therapeutic interventions	Institut für Anatomie, CCM	13.11.2007	Uwe Heine- mann
Andreas Draguhn Institute of Physiology and Pathophysiology University of Heidelberg	Plasticity of GABAergic inhibition- the role of presynaptic transmitter concentration	Institut für Anatomie CCM	20.11.2007	Uwe Heine- mann
Jeremy Henley MRC Centre for Synaptic Plasticity, University of Bristol, UK	SUMOylation regulates kainite receptor endocytosis and synaptic transmission	Institut für Anatomie CCM	27.11.2007	Uwe Heine- mann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Christian Lüscher Dept. Of Basic Neurosciences & Clinic of Neurology, University of Geneva, Switzerland	Cocaine-evoked synaptic plasticity in the ventral tegmental area and its reversal by mGluRs	Institut für Anatomie, CCM	04.12.2007	Uwe Heine- mann
Yehezkel Ben-Ari Institut de Neurobiologie de la Mediterranee Marseille, France	GABA: a pioneer signaling that controls the development of brain networks and coherent patterns	Institut für Anatomie CCM	11.12.2007	Uwe Heine- mann
Matthias Riepe Klinik für Psychiatrie Charité, Berlin	Alzheimer disease: early markers in mouse and man	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	08.06.2006	Helmut Kettenmann
Ines Ibanez-Tallon Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine (MDC), Berlin	Optimizing tethered toxins for cell-Autonomous inactivation of ion channels	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	08.06.2006	Helmut Kettenmann
Thomas Jentsch Zentrum für Molekulare Neurobiologie, Universität Hamburg	Overview of research activities: CLC, KCNQ and KCC proteins	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	08.06.2006	Helmut Kettenmann
Ferdinand Le Noble Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine (MDC), Berlin	Common molecular mechanisms involved in guidance of blood and nerves	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	08.06.2006	Helmut Kettenmann
Rainer Göbel Department of Cognitive Neuroscience, Maastricht University	Gaining conscious control of local brain activity using real-time fMRI neurofeedback	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	08.06.2006	Helmut Kettenmann
Michael Brecht University Medical Center Rotterdam	Head-anchored whole-cell recordings in freely moving animals	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	08.06.2006	Helmut Kettenmann
Michael Häusser Wolfson Institute for Biomedical Research, University College London	A dendritic switch for synaptic plasticity in neocortical pyramidal cells	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Anja Bräuer Center for Anatomy, Charité	Phospholipids and PRG-1 control synapse stabilization and axon growth	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Sven Hendrix Center for Anatomy Charité	T helper cells induce axonal outgrowth in vitro and in vivo by neurotrophin receptor upregulation	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Tim Hucho Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin	Estrogen controls PKC-Epsilon-dependent mechanical hyperalgesia through direct action on nociceptive neurons	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
René Jüttner Developmental Neurobiology Max-Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin	Function of Caleb in regulating synaptic connectivity	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Martin Lauritzen Glostrup Hospital and University of Copenhagen, Glostrup, Denmark	Coupling brain function to blood flow and oxygen consumption: control mechanisms related to signalling in cerebral grey matter	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Juliane Klehmet Experimental Neurology Charité	Autoreactive phenomena induced by ischemic brain injury	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Volker Kunzmann Neurology, Campus Benjamin Franklin Charité	The Berlin Brain Computer Interface (BBCI) Single-trial classifications of phantom movements of arm amputees	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Alexander Luborzewski Clinic for Psychiatry, Campus Benjamin Franklin, Charité	Metabolic alterations in the dorsolateral prefrontal cortex after treatment with high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with unipolar major depression	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Sebastian Major Experimental Neurology Charité	Combined inhibition of Na, K-ATPase and NO synthase cause cortical spreading ischemia in the rat cortex	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
Stephan Sigrist European Neuroscience Institute Göttingen	In vivo formation of synapse structure and function	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	09.06.2006	Helmut Kettenmann
John Parnavelas Department of Neoaatomy, University College London	Cell and molecular mechanisms involved in the migration of cortical interneurons	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	10.06.2006	Helmut Kettenmann
Roland Schaette Institute for Theoretical Biology, Humboldt University, Berlin	Predicting Tinnitus pitch with a computational model for the development of neuronal hyperactivity after hearing loss	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	10.06.2006	Helmut Kettenmann
Ruth Schubert Department of Neurology Charité	How you feel it- now you don't : ERP correlates of somatosensory awareness	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	10.06.2006	Helmut Kettenmann
Stefan Schumacher Institute of Cell Biology and Neurobiology, Center for Anatomy, Charité	Functional Analysis of CALEB/NGC in mouse brain development by in utero electroporation	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	10.06.2006	Helmut Kettenmann
Stefan Britsch Max-Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC) Berlin	The zinc finger transcription-factor Bcl11a controls dendrite formation and layer-specific connectivity in the dorsal spinal cord	Berlin Neurosciences Forum (BNF 2006)	10.06.2006	Helmut Kettenmann

Veranstungsverzeichnis

Vortragender	Thema	Ort	Zeitpunkt	Veranstalter
Ad Aertsen Institute for Biology University of Freiburg	Cortical network dynamics- precision in a noisy environ- ment?	Berlin Neurosci- ences Forum (BNF 2006)	10.06.2006	Helmut Kettenmann
Christine Stadelmann Institut für Neuropatholo- gie, Universität Göttingen	The brain as a target for in- flammatory processes	Tagung des Euro- pean Science Fo- rums in Potsdam	07.- 9.09.2006	Helmut Kettenmann
Sandhya Rani Nueoinflammation Re- search Center, Cleveland	Biomarkers of Interferon- response in Multiple Sclerosis- an update	Institut für Ana- tomie, CCM	01.09.2006	Carmen In- fante-Duarte
Mikio Furuse Dept. of Cell Biology Kobe University Japan	Identification of novel protein components of the junctional complex by the fluorescence localization-based expression cloning (FL-REX) method	10. Symposium “Signal transduc- tion in the Blood- Brain Barriers” Potsdam	13.- 16.9.2007	Reiner Haseloff Ingolf Blasig

6. Aufenthalte von Gastwissenschaftlern im SFB

Name	Herkunft	Zeitraum	Projekt
Victorov, Ilya	Rußland, Moskau	95/96/97/98 (je 3 Monate)	A1
Schumann, Pascale	Caen, Frankreich	seit 01/98	A1
Liao, Weijing	Wuhan, China	6/96-12/97	A1
Khorasani Mahdi	Semnan/ Iran	05-09/2006	A1
Iurato, Linda	Palermo, Italien	seit 8/97	A1/2
Ilya Victorov	Moskau/Rußland	1998/99 je 3 Monate	A1/A5/A6
Nuran Akgören	Kopenhagen/Dänemark	1998 (1 Mo)	A1/A5/A6
Nikolaj Isaev	Moskau/Rußland	1998/99/2000 je 3 Monate	A1/A5/A6
Tatjana Zenina	Moskau/Rußland	2000 (2 Mo)	A1/A5/A6
Pierre Clamme	Frankreich	1999 (1 Mo)	A1/A5/A6
Francisco Fernandez Klett	Spanien	1999 (2 Mo)	A1/A5/A6
Bille, Margarete	Kopenhagen, Dänemark	seit 08/97	A3
Fernandez-Alfonso	Spanien, Maria Soledad	11.12.95	A4
Peter, Markus	England, Cambridge	08.12.96	A4
Gasc, Jean-Marie	Frankreich, Paris	03.04.97	A4
Goni, Guillermo	Spanien, Bilbao	06.12.97	A4
Prof.Dr. Ilya Victorov	Moskau/ Rußland	04-05/2002 03-05/2003	A5
Dr. Prinz	Zürich/Schweiz	11/2002	A5
Dr. Robert Ostrowski	Warschau/ Polen	12/2002	A5
Dr. Andreas Ragoschke-Schrumm	Heidelberg	12/2002	A5
Jason Potas	Sydney/ Australien	04-06/2003	A5
Baeva Nevana	Sofia/ Bulgarien	10-12/2005	A5
Fernandez Klett Francisco	Madrid/ Spanien	02-07/2006 10-11/2006	A5
Blazey Katja	Wien/ Österreich	07/2007	A5
T. Reinheckel	Magdeburg	1998 (1.5 Mo)	A7
Reshma Shringarpure	Los Angeles, USA	1999 (3 Mo)/2000 (3 Mo)	A7
Yuri Vladimirov	Moskau, Rußland	1999 (1 Wo)	A7
W. Siems	Bad Harzburg	1999 (1 Wo)	A7
Dr. Reshma Shringarpure	Boston/ USA	08/2002	A7
Hübner Denise	Marburg	10-11/2006	A9
Lee Sabrina	Kuala Lumpur/Malaysia	07-12/2007	A9
Monk Raymond	Cleveland/ USA	12/2007	A9
Tatjana Pivneva	Kiew, Rußland	2000 (3 Mo)	B1
Elena Kolotushkina	Kiew, Rußland	2001 (3 Mo)	B1
Gal Keren-Paz	Israel	1999 (2 Mo)	B1
Arie Moran	Israel	1999/2000 je 1 Monat	B1

Gäste des SFB 507

Name	Herkunft	Zeitraum	Projekt
Israel Sekler	Israel	1999/2000 je 1 Monat	B1
Judith Makara	Budapest, Ungarn	2001 (1 Mo)	B1
Knut Biber	Groningen	1999 (1 Mo)	B1
Collins, James	USA		B3
Rodríguez-Tébar, A.	Spanien, Madrid, Instituto Neurobiologia Cajal	15.08.-15.09.95	B4
Margrethe Bastholm-Bille	Kopenhagen, Dänemark	1998 (2 Mo)	B6
Roland Nau	Göttingen	18.2.1999	B6
Johann Braun	Memphis, USA	1999 (2 Mo)	B6
Elaine Tuomanen	Memphis, USA	22./23.3.99	B6
Dr. Ute Sehmsdorf	München	02/2002	B6
Dr. Axel Ring	Heidelberg	04/2002 10/2002 01/2003	B6
Dr. Ute Sehmsdorf	München	04/2002	B6
Dr. Christian Alexander	Borstel	09/2002	B6
Dr. Michiel van der Flier	Utrecht/ Niederlande	12/2002	B6
Prof.Dr. Elaine Tuomanen	Memphis/ USA	05/2003	B6
Prof. Patrick McGeer	Vancouver/ Kanada	10/2003	B9
Prof.Dr. David Brindley	Edmonton/ Kanada	11/2003	B11
Thompson Alyssa	USA	05-07/2005	B11
Demina Tatiana	Moskau/ Russland	11-12/2005	B11
Dr. Stefan Brocke	Jerusalem/ Israel	03/2002 08/2002 10/2002 10/2003 11/2003	B11/B14
Ullrich Oliver	Magdeburg		B14
Zimmermann Anja	Jena	07-10/2005	B16
Sarilova Irina	Cheboksary/ Russland	10-12/2006	B16
Macklis Jeffrey	Boston/ USA	11/2007	B16
Szeress, L.	Ungarn, Pécs	10-12/95; 05-06/96	C1
Jasmin Fisher	Israel	2000 (1 Mo)	C1
Tamas Horvarth	Yale, USA	1998 (2 Wo)	C1
Horvath, T.	USA, New Haven		C2
Hubert Scharnagl	Freiburg		C2
Manfred Hüttinger	Wien		C2
Gutiérrez, Rafael	Mexiko	01.06.96	C3
Armand, Vincent	Frankreich, Paris	07.12.97	C3
DeCoursey, Thomas E.	USA, Chicago	05.-11.04.97	C3
Hetka, Robert	Tschechien, Prag	01.09.-30.11.97	C3
Wittner, M.	Tschechien, Prag	08/96-05/97	C3
Bilkey, D.	Neuseeland	05.12.96	C3
Rafael Gutierrez	Mexiko	1998 (1.5 Mo)	C3
Emilio R. Garrido Sanabria	Sao Paulo, Brasilien	1999 (3 Wo)	C3

Name	Herkunft	Zeitraum	Projekt
David K. Bilkey	Dunedin, New Zealand	2000 (5 Mo)	C3
Gregor Rogge	Göttingen	2000 (1 Wo)	C3
Dr. Sergey Kolbaev	Moskau/ Rußland	12/2003-01/2004	C3
Pasricha Natascha	Bonn	12/2007	C3
Gebhardt Christine	Köln	06-07/2006	C3/C12
Prof. Besedovsky	Marburg	19.11.1998	C5
N. Rainov, Neurochirurgie	Halle	08.05.2000	C5
Dr. Anke Witting	Washington/ USA	12/2002	C6
Prof. Ghazally Ismail	Kuala Lumpur/ Malaysia	06/2002	C6
Dr. Jochim Deitmer	Kaiserslautern	02/2002	C7
Dr. Andrew Chan	Würzburg	11/2002	C7
Prof. Dr.Albrecht Schwab	Würzburg	11/02002	C7
Prof. Dr.Hubert Kerschbaum	Salzburg	12/2002	C7
Dr.Katharina Heupel	Bochum	09/2003	C7
Dr. Angelique Bordey	New Haven/ USA	11/2003	C7
Dr. Tamara Kruskic	Yugoslavia	12/2001-2/2002	C8
Dr. Elzbieta Luchowska	Polen	11-12/2003	C8
Dr.Darko Markovic	Yugoslavia	2002	C8
Dr.Tatyana Pivneva	Ukraine	10-12/2002 10/12/2003	C8
Prof. Wolf Müller	Boston/ USA	10/2003	C9
Pivneva Tatjana	Kiew/ Ukraine	10-12/2005 10-12/2006 10-12/2007	C10
Skibo Galina	Kiew/ Ukraine	12/2007	C10
Prof.Heinz Wässle	Frankfurt	12/2002	Z
Prof.Dr. Richard Frackowiak	London/ GB	11/2002	Z
Stefan Offermanns	Heidelberg	12/2002	Z
Dr. Alan Fanning	Chapel Hill/ USA	2002 2003	Z
Prof.Dr. Gennadij Rajwich	London/ GB	11/2002	Z
Prof. Dr.Ulrich Bogdahn	Regensburg	01/2004	Z
Prof.Giorgio Carmignoto	Padova/ Italien	09/2003	Z
Prof. Pierre Gressens	Paris/ Frankreich	10/2003	Z

7. Vom SFB finanzierte Auslandsaufenthalte

Teilnehmer/ Name	Kongress/Ort	Zeitraum	Ausgabe durch SFB in €	Pro- jekt
Jens Dreier	Neuroscience Meeting New Orleans	24.10. - 31.10.97	1.255,22	A1
Jens Dreier	Brain Research Institute Moskau	19.08.-16.08.98	699,48	A1
Jens Dreier	Neuroscience Meeting Los Angeles	06.11. - 13.11.98	893,23	A1
Konstantin Prass	Neuroscience Meeting Los Angeles	06.11. - 13.11.98	518,45	A1
Jens Dreier	Brain '99, Kopenhagen	12.06. - 18.06.99	1.118,20	A1
Juri Katchanov	Neuroscience Meeting, Miami	24.10. - 28.10.99	626,84	A1
Jens Dreier	Brain 03, Calgary International Vasospasm Meeting, Chicago	27.06. - 13.07.03	1.760,00	A1
Jens Dreier	Spreading Depression Meeting, Kopenhagen	22.11. - 25.11.03	633,87	A1
Christoph Drenckhahn	Spreading Depression Meeting, Kopenhagen	22.11. - 25.11.03	628,87	A1
Jens Dreier	Brain 07, Osaka	18.05. - 25.05.07	1.503,76	A1
Dorette Freyer	Neuroscience Meeting New Orleans	24.10. - 01.11.97	1.000,09	A3
Jörg Weber	Meeting, Projektplanung, Vorträge Toronto/Montreal	27.09. - 01.10.97	1.277,72	A3
Klemens Angstwurm	Neuroscience Meeting New Orleans	24.10. - 30.10.97	1.096,72	A3
Martin Paul	Scientific Congress of the American Heart Associa- tion	1 Woche in 11/95	1.278,23	A4
Yu	Scientific Congress of the American Heart Associa- tion	1 Woche in 11/96	409,00	A4
Schmitt-Ott	5 th International Conferen- ce on Endothelin	12.09. - 17.09.97	1.278,23	A4
Josef Priller	Neuroscience Meeting Los Angeles	07.11. - 13.11.98	1.005,20	A5
Marion Lau- tenschlager	Neuroscience Meeting Los Angeles	07.11. - 13.11.98	777,67	A5
Josef Priller	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 28.10.99	750,06	A5
Karen Gertz	Neuroscience Meeting New Orleans	04.11. - 09.11.00	357,90	A5
Josef Priller	3 Rd Molecular Biology & Immunology, Zürich	22.02. - 26.02.02	224,90	A5
Ulrich Dirnagl	Kongress Uni Szeged, Szeged	19.09. - 22.09.02	537,46	A5

Kongressbesuche

Teilnehmer/ Name	Kongress/Ort	Zeitraum	Ausgabe durch SFB in €	Pro- jekt
Ulrich Dirnagl	Eftermiddagssymposium, Kopenhagen	09.10.– 30.10.02	46,00	A5
Ulrich Dirnagl	Preparatory Meeting, Ko- penhagen	12.01. - 13.01.03	792,13	A5
Ulrich Dirnagl	European Winterbrain Meeting, Les Arc	08.03. - 15.03.03	1.687,73	A5
Josef Priller	Neuroscience 2007 San Diego	05.11. - 07.11.07	3.702,86	A5
Ute Lindauer	Brain '99, Kopenhagen	12.06.-.180.6.99	1.531,32	A6
Konstantin Prass	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 28.10.99	701,49	A6
Sigrid Schuh-Hofer	Neuroscience Meeting, New Orleans	03.11. - 11.11.00	1.482,75	A6
Ute Lindauer	SFN 32 nd Annual Meeting , Orlando	03.11.– 07.11.02	1.500,41	A6
Ute Lindauer	Internationales Sympo- sium Neuroimaging Helsinki	10.04.– 12.04.03	511,60	A6
Ute Lindauer	Brain 03, Calgary	29.06. - 03.07.03	1.499,78	A6
Heike Sellien	Neuroscience Meeting 2003, New Orleans	07.11- 12.11.03	210,13	A6
Tilman Grune	IXBiennal Meeting of the Int. Soc. For Free Radical Research, Sao Paolo	06.09. - 16.09.98	1.570,18	A7
Tilman Grune	Int. Conf. On Emerging Potentials of Antioxidant Therapy, Goa	08.01. - 12.01.99	1.311,46	A7
Tilman Grune	Kongress/Workshop. Mic- ronutrients and Health: Molecular biological me- chanism, Lanka- wi/Malaysia	27.07.-.30.07.00	305,24	A7
Tilman Grune	SFRR Europe Winter Meeting „Bio-Flavenoids & Polyphenols in Health & Disease“, Dinard	02.05. - 05.12.99	606,90	A7
Tilman Grune	XI th Biennial Meeting of Society for free Radical Research International, Paris, First International Meeting of the HNE- Club Salzburg	16.07. - 20.07.02	444,88	A7
Tilman Grune	EUROFEDA, Antioxi- dants: Benefits and Risks, Cambridge	25.09. - 28.09.02	1.338,53	A7
Tilman Grune	Vortrag bei Prof. Leeu- wenburgh, Gainesville	28.01. - 02.02.03	1.499,54	A7

Kongressbesuche

Teilnehmer/ Name	Kongress/Ort	Zeitraum	Ausgabe durch SFB in €	Pro- jekt
Tilman Grune	Frontiers in Neurodegenerativ Disorders and Ageing Antalya	27.05. - 29.05.03	697,12	A7
Matthias Endres	Consortium Stroke-Repair Copenhagen	05.02.2007	106,00	A9
Matthias Endres	ESC 2007, Glasgow	30.05. - 31.05.07	344,50	A9
Rosemarie Grantyn	Neuroscience Meeting, New Orleans	24.10 - 31.10.97	1.996,59	B4
Jörg Weber	ICAAC, San Diego	22.09. - 26.09.98	1.021,56	B6
Olaf Hoffmann	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 28.10.99	701,49	B6
Dorette Freyer	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 29.10.99	744,44	B6
Annett Halle	Neuroscience Meeting, New Orleans	04.11. - 09.11.00	460,16	B6
Anja Reiß	Conference of European Society for Paediatric Research, Utrecht	04.11. - 07.09.02	527,05	B6
Olaf Hoffmann	SFN 32 nd Annual Meeting, Orlando	03.11. - 07.11.02	1.092,81	B6
Christian Schwarzbach	SFN 32 nd Annual Meeting, Orlando	03.11. - 07.11.02	883,50	B6
Joerg Weber	Meeting Nobel Symposium, Stockholm	14.05. - 19.05.03	312,73	B6
Olaf Hoffmann	Neuroscience Meeting 2003, New Orleans	07.11. - 12.11.03	1.127,40	B6
Uwe Hanisch	3 rd Forum of European Neuroscience, Paris	13.07. - 17.07.02	843,50	B9
Anna Klötting	SFN 32 nd Annual Meeting, Orlando	01.11. - 08.11.02	1.251,87	B11
Robert Nitsch	Gordon Research Conference ,Ventura	22.02. - 27.02.03	101,20	B11
Elena Pohl	Focus on Microscopy 2003, Genua	13.04. - 16.04.03	1.390,20	B11
Robert Nitsch	FASEB- Konferenz, Snowmass Village	28.06. - 04.07.03	1.358,93	B11
Robert Nitsch	Meeting University Malta	26.11. - 02.11.03	422,6	B11
Elena Pohl	Biophysical Society Annual Meeting Laborbesuch T. Rapoport Baltimore + Boston	02.03. - 12.03.07	1.938,50	B11
Elena Pohl	Prof. Skulachev, Dr. Melik-Nubarov Moskau	06.02. - 12.02.07	99,00	B11
Sven Hendrix	Neuroscience 2007 San Diego	03.11. - 07.11.07	661,14	B11
Carmen Infante Duarte	Focis Annual Meeting Paris	14.05. - 19.05.03	866,77	B14

Kongressbesuche

Teilnehmer/ Name	Kongress/Ort	Zeitraum	Ausgabe durch SFB in €	Pro- jekt
Carmen Infante-Duarte	Vorbereitung Marie Curie Initial Training Network Belfast	17.04. - 18.04.07	403,52	B14
Christian Woiciechowsky	XXIV Brazilian Congress of Neurosurgery, Fortaleza	29.08. - 07.09.02	1.885,00	B15
Christian Woiciechowsky	11 th Asia- Australia- Congress of. Neurol. Surgery, Singapore	21.11. - 27.11.03	2.031,41	B15
Melanie Dyllick-Brenzinger	Educational Symposium on Parkinsons + Kollaborationsgespräche New York + Toronto	15.10. - 22.10.07	1154,93	B18
Olaf Ninnemann	Neuroscience Meeting, New Orleans	20.10. - 30.10.97	863,06	C1
Skutella	Neuroscience Meeting, New Orleans	20.10. - 31.10.97	173,84	C1
Robert Nitsch	Neuroscience Meeting New Orleans	24.10 - 30.10.97	1.125,86	C1
Robert Nitsch	Int.Conf.of Int. Soc. Of Neuroimmunity, Montreal	22.08. - 28.08.98	1.188,75	C1
Oliver Ullrich	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 28.10.99	874,31	C1
Oliver Ullrich	Anatomie-Congress 2000, Cambridge	24.10. - 26.07.00	749,04	C1
Thomas-Georg Ohm	Alzheimer-Congress, Amsterdam	17.07. - 22.07.98	1.324,25	C2
Thomas-Georg Ohm	6 th European Congr. Of Neuropathology Barcelona	05.05. - 09.05.99	1.319,13	C2
Roland Distl	Neuroscience Meeting New Orleans	03.11. - 09.11.00	920,32	C2
Thomas-Georg Ohm	Alzheimer-Congress, Amsterdam	17.07. - 22.07.98	1.324,25	C2
Thomas-Georg Ohm	6 th European Congr. Of Neuropathology Barcelona	05.05. - 09.05.99	1.319,13	C2
Uwe Heinemann	Neuroscience Meeting New Orleans	25.10. - 09.11.97	1.533,88	C3
Claudia Eder	Neuroscience Meeting, Los Angeles	06.11. - 13.11.98	669,79	C3
Claudia Eder	Biophysical Soc. Meeting, Baltimore/USA	13.02. - 17.02.99	326,20	C3
Claudia Eder	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 28.10.99	1.042,01	C3
Claudia Eder	Neuroscience Meeting New Orleans	04.11. - 09.11.00	1.022,58	C3
Oliver Kann	Epilepsy- Congress Lissabon	11.10. - 16.10.03	633,00	C3

Kongressbesuche

Teilnehmer/ Name	Kongress/Ort	Zeitraum	Ausgabe durch SFB in €	Pro- jekt
Wolfgang Müller	Neuroscience Meeting New Orleans	23.10. - 31.10.97	1.226,59	C4
Wolfgang Müller	Neuroscience Meeting, Miami	23.10. - 28.10.99	669,79	C4
Wolfgang Müller	IBRO-Congress, Jerusalem	12.07. - 15.07.99	444,82	C4
Britta Schöning	4.Int.Kongress für Neu- roimmunomodulation, Lugano	30.09. - 02.10.99	787,39	C5
Christian Woiciechowsky	11. Europ. Neurochirurgie- Kongress, Kopenhagen	19.09. - 24.09.99	871,24	C5
Susi Keck	8 th International Confer- ence on Alzheimer`s Dis- ease, Stockholm	20.07. - 25.07.02	1.592,35	C6
	3 Rd ~Pharmaconomical Conference on Alz- heimer`s Disease, Stockholm	19.07. - 20.07.02		
Oliver Ulrich	PARP 2003, Lissabon	29.04. - 04.05.03	1.450,21	C6
Claudia Eder	Biophysical Meeting, San Francisco	22.02. - 28.02.02	929,28	C7
Tom Schilling	Biophysical Meeting, San Francisco	22.02. - 28.02.02	532,78	C7
Claudia Eder	Prof. Dr. Atwell, London	29.08. - 01.09.07	731,08	C7
Claudia Eder	EMDS Conference Innsbruck	13.09. - 16.09.07	864,60	C7
Tom Schilling	EMDS Conference Innsbruck	13.09. - 16.09.07	787,60	C7
Susanna Kuhn	EUROGLIA, Rom	21.05. - 25.05.02	1.691,73	C8
Andreas v. Deimling	Internationale Gesellschaft für Neuropathologie, Turin	18.09. - 19.09.03	568,36	C9
Oren Tomkins	7 th Cerebral Vascular Bi- ology Conference, Ottawa	22.06. - 13.07.07	1.168,99	C12

Notizen

Notizen

Berlin 2008

Redaktion: U. Dirnagl, J. Dreier, S. Major

Drucklegung am 13.05.2008

Gedruckt und gebunden bei

DBusiness GmbH

Berlin – Prenzlauer Berg