

**Vorbereitungstreffen**

**für den neuzugründenden Sonderforschungsbereich**

**"Der Beitrag nicht-neuronaler Zellen in der  
Pathogenese zerebraler Erkrankungen"**

**Berlin - Leipzig**

**am**

**1. und 2. Oktober 1993**

**in**

**Berlin-Buch**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin**

**Robert-Rössle-Str. 10**

**D-13122 Berlin-Buch**

**Tel.: 030/9406 3325 oder 9406 2490**

**Fax: 030/9406 3801**



## How to reach the Max-Delbrück-Center (MDC)

---

### ➔ From Tegel Airport (exit 8 and 9):

Take bus line 128 (blue bus, airport shuttle) to terminus **Wilhelmsruh**, change to S-Bahn line 1 direction **Wannsee**, get off at **Bornholmer Straße**, cross the bridge, go to the second platform and take S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**, get off at station **Buch**.

### ➔ From Schönefeld Airport:

Take S-Bahn line 10 direction **Birkenwerder/Oranienburg**, change at station **Blankenburg** to S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**. Get off at station **Buch**.

### ➔ From Tempelhof Airport:

Take U-Bahn line 6 direction **Tegel**, change at station **Friedrichstraße** to S-Bahn line 1 direction **Frohnau**, get off at station **Bornholmer Straße**, cross the bridge, go to second platform and take S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**, get off at station **Buch**.

### ➔ From Train Station Zoologischer Garten:

Take S-Bahn line 3 direction **Erkner**. Alternatively, take S-Bahn line 5 direction **Strausberg Nord**, or S-Bahn line 6 direction **Königs-Wusterhausen**, or S-Bahn line 9 direction **Schönefeld**. Change at station **Friedrichstraße** to S-Bahn line 1 direction **Frohnau**, get off at station **Bornholmer Straße**, cross the bridge, go to second platform and take S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**, get off at station **Buch**.

### ➔ From Main Station:

Take S-Bahn line 75 direction **Wartenberg**. Alternatively, take S-Bahn line 3 direction **Erkner**, or S-Bahn line 5 direction **Strausberg Nord**. Change at station **Ostkreuz** to S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**, get off at station **Buch**.

### ➔ From Train Station Lichtenberg:

Take S-Bahn line 5 direction **Wannsee** or S-Bahn line 75 direction **Alexanderplatz**, change at station **Ostkreuz** to S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**, get off at station **Buch**.

### ➔ From Train Station Friedrichstraße:

Take S-Bahn line 1 direction **Frohnau**, get off at station **Bornholmer Straße**, cross the bridge, go to second platform and take S-Bahn line 8 direction **Bernau** or **Buch**, get off at station **Buch**.

➔ We recommend to avoid getting off the train at the Main Station in Berlin, since finding out connections there is rather complicated.

➔ From the S-Bahn station **Buch** take bus line 151 to the terminus (back entrance of the Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine (MDC)) or hire a taxi.

---



## Zeitplan

### Freitag, den 1. Oktober 1993

**19.00 Uhr**

#### **Kaltes Buffet**

Lohmann-Raum des  
Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin (MDC)  
Robert-Rösslestr. 10  
13122 Berlin-Buch

### Samstag, den 2. Oktober 1993

**9.00 - 09.45 Uhr**

#### **Begrüßung durch den Vorstand des MDC**

**Vorstellung der Schwerpunktsinitiative durch  
V. Bigl, K. M. Einhäupl und H. Kettenmann**

**09.45 - 10.45 Uhr**

#### **1. Sitzung**

**Chairmen: R. Klinke und R. Dermietzel**

##### **Andreas Reichenbach**

**Carl-Ludwig-Institut für Physiologie der Universität Leipzig**  
Homoestaseprobleme einer gestörten Glia-Neuron-Interaktion  
(Epilepsie/SD): Plastizität der Gliazellmembran

##### **Uwe Heinemann**

**Institut für Physiologie, Berlin**  
Mikro- und Astroglia bei chronischen experimentellen  
Temporallappenepilepsien

##### **Gert Brückner und Volker Bigl**

**Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung Universität Leipzig**  
Extrazelluläre Matrix und Glia und ihre mögliche Rolle in der  
Pathogenese der Epilepsie



**Ulrich Dirnagl und Tobias Back**

**Neurologische Klinik, Charité, Humboldt Universität, Berlin**  
Spreading Depression (SD): Interaktion nicht-neuronaler und neuronaler Zellen bei molekularen, metabolische und vaskulären Mechanismen

**10.45 - 11.15 Uhr**

**Kaffeepause**

**11.15 - 12.30 Uhr**

**2. Sitzung**

**Chairmen: R. Haberl und K. Beyreuther**

**Helmut Kettenmann**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-Buch**

Physiologische Eigenschaften glialer Tumore

**Regina Reszka**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-Buch**

Veränderungen von Zell-Zell-Wechselwirkungen glialer Tumorzellen in vitro und in vivo nach retrovirale, und liposomalem Zytokingentransfer

**H. E. Vitzthum, W. Reichelt und W. Gründer**

**Universität Leipzig**

Elektrische Membraneigenschaften und metabolische Charakterisierung gliöser Hirntumore in vitro: Zusammenhang dieser Parameter mit dem proliferativen Verhalten der Tumoren.

**Uwe-Karsen Hanisch**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-Buch**

Cytokine als Modulatoren glialer Ionenströme

**Kurt Brauer**

**Institut für Hirnforschung der Universität Leipzig**

Mikrogliale and astrozytäre Reaktivität in primär und transneuronal beeinflussten Regionen des visuellen Systems nach Kortex- und Colliculus-Läsionen sowie nach ENUktion

**12.30 - 13.45 Uhr**

**Mittagessen**



**13.45 - 15.30 Uhr**

**3. Sitzung**

**Chairmen: W. Zieglgänsberger und E. Habermann**

**Robert Nitsch**

**Zentrum der Morphologie der Uniklinik Frankfurt**

Die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen  
Veränderungen nach entorhinaler Läsion

**Reinhard Schliebs und Volker Bigl**

**Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung Universität Leipzig**

Die Rolle der Glia bei der Erfahrungs-abhängigen Reifung des  
visuellen Kortex

**Fritz G. Rathjen**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-**

**Buch**

Beteiligung von Zelloberflächenproteinen der  
Immunglobulinsuperfamilie bei der axonalen Regeneration nach  
Verletzung

**Ingolf E. Blasig**

**Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie, Berlin**

Radikale und Hypoxie an Zellen der Blut-Hirn-Schranke (BHS)

**Wilfried W. Naumann**

**Fachbereich Biowissenschaften, Universität Leipzig**

Gliasekretorische Prozesse und Neuromorphologie

**Andrea Lippoldt**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-**

**Buch**

Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems für degenerative  
Prozesse im Gehirn: Focus auf gliale-neuronale Interaktionen

**Martin Paul**

**Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin-**

**Buch**

Mechanismen der Endothelinregulation im Gehirn

**15.30 - 16.00 Uhr**

**Kaffeepause**

**16.00 - 18.00 Uhr**

**Abschließende Diskussion**

**18.00 Uhr**

**Ende der Veranstaltung**



## Adressenliste

T. Back  
Universitätsklinikum Charité  
Neurologische Klinik  
Schumannstr. 20/21  
10098 Berlin

✓ M. Bader  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

✓ K. Beyreuther  
ZMBH  
Universität Heidelberg  
Im Neuenheimer Feld 345  
69120 Heidelberg

✓ V. Bigl  
Paul-Flechsig Institut für Hirnforschung  
Universität Leipzig  
Jahnallee 59  
04109 Leipzig

✓ E. Blasig  
Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie  
Alfred Kowalke Str. 4  
10315 Berlin

✓ K. Brauer  
Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung  
Universität Leipzig  
Jahnallee 59  
04109 Leipzig

✓ G. Brückner  
Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung  
Universität Leipzig  
Jahnallee 59  
04109 Leipzig

✓ R. Dermietzel  
Medizinische Fakultät  
Universität Regensburg  
Universitätsstr. 31  
93053 Regensburg

✓ U. Dirnagl  
Universitätsklinikum Charité  
Neurologische Klinik  
Schumannstr. 20/21  
10098 Berlin

✓ Eder  
Institut für Neurophysiologie  
Universität Köln  
Robert-Koch-Str. 39  
50931 Köln 41

✓ K. M. Einhäupl  
Universitätsklinikum Charité  
Neurologische Klinik  
Schumannstr. 20/21  
10098 Berlin

✓ W. Eysel  
Institut für Physiologie  
Universität Bochum  
Universitätsstr. 1  
44801 Bochum

✓ D. Ganten  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

✓ Helga Giese  
Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie  
Alfred Kowalke Str. 4  
10315 Berlin

✓ U. Hanisch  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

✓ E. Habermann  
Universität Gießen  
35390 Gießen

✓ R. Haberl  
Neurologische Klinik  
Marchioninstr. 15  
81377 München

R. Haseloff  
Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie  
Alfred Kowalke Str. 4  
10315 Berlin

U. Heinemann  
Institut für Neurophysiologie  
Universität Köln  
Robert-Koch-Str. 39  
50931 Köln 41



✓ H. Kettenmann  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

✓ H. Kischkel  
DFG  
53170 Bonn

✓ R. Klinke  
Klinikum der Goethe-Universität  
Zentrum für Physiologie  
Theodor Stern Kai 7  
60590 Frankfurt/M.

A. Lippoldt  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

✓ Katharina Metsch  
Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie  
Alfred Kowalke Str. 4  
10315 Berlin

W. W. Naumann  
Fachbereich Biowissenschaften  
Universität Leipzig  
Talstr. 33  
04109 Leipzig

✓ R. Nitsch  
Zentrum der Morphologie der  
Uniklinik Frankfurt  
Theodor Stern Kai 7  
60590 Frankfurt/M.

M. Paul  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

M. Pissarek  
Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie  
Alfred Kowalke Str. 4  
10315 Berlin

✓ F. Rathjen  
ZMNH  
Universität Hamburg  
Martinistr. 52  
20246 Hamburg

✓ A. Reichenbach  
Carl-Ludwig-Institut für Physiologie  
Universität Leipzig  
Liebigstr. 27  
04109 Leipzig

✓ W. Reichelt  
Carl-Ludwig-Institut für Physiologie  
Universität Leipzig  
Liebigstr. 27  
04103 Leipzig

✓ R. Reszka  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

✓ Reinhard Schliebs  
Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung  
Universität Leipzig  
Jahnallee 59  
04109 Leipzig

✓ F. Weber  
Neurochirurgische Klinik  
Universitätsklinikum Steglitz  
Freie Universität Berlin  
Hindenburgdamm 30  
12203 Berlin

H. E. Vitzthum  
Klinik für Neurochirurgie  
Universität Leipzig  
Joahnnisallee 34  
04109 Leipzig

✓ W. Zieglängsberger  
MPI für Psychiatrie  
Kräpelinstr. 2  
80804 München



**Name des Antragstellers:** Ingolf E. Blasig

**Adresse:** Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie  
Alfred-Kowalke-Str. 4  
10315 Berlin

**Telefon:** 030 5163 290

**Fax:** 030 51 28014

**Thema:** Radikale und Hypoxie an Zellen der Blut-Hirn-Schranke (BHS)

### *Einführung in das Thema*

Zerebrale Durchblutungsstörungen, die vor allem zum Sauerstoffmangel führen, sind durch eine sehr hohe Mortalität und Morbidität gekennzeichnet. Der genaue Pathomechanismus der zugrunde liegenden Ursachen ist unklar und die bisherige Therapie unzureichend. Bei den therapeutischen Bemühungen stand bisher die Beeinflussung der Nervenzellen im Vordergrund. Die Zellen der BHS, bes. Endothelzellen (EZ) und Astrogliazellen (AZ), sind dabei vernachlässigt worden, obwohl sie bei einer systemischen Behandlung zuerst erreicht werden.

Neueste Erkenntnisse weisen darauf hin, daß an der Schädigung des Gehirns durch einen ischämischen Insult eine verstärkte Freisetzung von Radikalen beteiligt sein kann. Unsere Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß freie Radikale bei Perfusionsstörungen vor allem im Umfeld der Endothelzellen gebildet werden. Gegenwärtig ist unklar, welche Radikalspezies von Relevanz sind und welche Alterationen verursacht werden. Diese Fragestellung soll an Kulturen bzw. Kokulturen von Endothelzellen und Astrozyten bearbeitet werden, um Vorläuferkenntnisse für eine Verbesserung der Diagnostik sowie der pharmakologischen Beeinflußbarkeit zerebraler Durchblutungsstörungen zu erhalten.

### *Forschungsplan*

Das Projekt soll einen Beitrag zum Nachweis der Bildung und zur Aufklärung der Wirkung freier Radikale bei hypoxischen Zuständen an den wesentlichen Zelltypen der BHS leisten. Folgende Untersuchungen sind vorgesehen: 1. An EC, AZ bzw. deren Kokultur sollen bei Hypoxie und Reoxygenierung mittels Elektronspinresonanz(ESR)-Spektroskopie freie Radikale nachgewiesen, identifiziert und ihr Bildungsort genauer lokalisiert werden. Um die Radikalfreisetzung abzuschätzen, wird die endogene Radikalabwehr erfaßt, u.a. Thiolreste, Superoxiddismutase (SOD). Zur Vermeidung von Fehlinterpretationen bzw. zum Erhalt zusätzlicher Informationen finden weitere Methoden Verwendung, z.B. Messung der Lipidperoxidation (TBA-RS), Chemilumineszenz. Zum intrazellulären Radikalnachweis werden neue Spintrapverbindungen verwendet und Modellversuche an Liposomen durchgeführt. 2. Durch quantitativen und zeitlichen Vergleich der Radikalbildung mit auftretenden Störungen (u.a. morphologisch und biochemisch erfaßbare Membranalterationen; Bildung von Stressproteinen, z.B. SOD; Permeationsschäden; Störungen im Energiestoffwechsel) soll zur Klärung der pathologischen Bedeutung freier Radikale für hypoxische Zustände beigetragen werden. Da umfangreiche Erfahrungen zu hypoxischen Störungen an EZ vorliegen, sollen die Untersuchungen an Gehirnendothelzellkulturen (Suspension, Monolayer, Mikroträger) begonnen werden. Für AZ



ist weitgehend ungeklärt, in welcher Weise sie an der Radikalbildung als Folge von Durchblutungsstörungen beteiligt sind bzw. in welchem Umfang sie dabei durch Radikale geschädigt werden, die durch EZ gebildet werden. Um die Rolle der AZ, und besonders die Wechselwirkung zwischen AZ und EZ aufzuklären, ist es notwendig, ein in vitro-Modell zur Hypoxie/Reoxygenierung mit AZ-Kulturen zu etablieren und zu charakterisieren (LDH, Lactat, Nukleotide, TBA-RS, Stressproteine; Morphologie; Zeitablauf der Veränderungen). Zur Aufklärung der Schädigungsvorgänge der BHS während Hypoxie/Reoxygenierung ist anschließend ein BHS-Modell aus kokultivierten EZ und AZ einer Hypoxie mit anschließender Reoxygenierung auszusetzen und zu charakterisieren. Ein Vergleich zu Modellen der Solokultivierung (EZ-, AZ-Kultur) bietet möglicherweise Aufschluß über protektive Effekte oder verstärkte Schädigung beider Zelltypen durch interzelluläre Wechselwirkungen. 3. Durch pharmakologische Interventionen (verschiedene Radikalfänger, Protektiva mit anderem Wirkungsmechanismus) von gegebenenfalls aufgefundenen Korrelationen sollen weitere Aufschlüsse zur Relevanz freier Radikale an Hypoxie-geschädigten Zellen der BHS ermöglichen.

#### *Methodenspektrum*

Radikalnachweis und -identifizierung werden vorzugsweise mit der Elektronenspinresonanz(ESR)-Spektroskopie (insbesondere Spintrap-Verfahren) vorgenommen, mit der langjährige Erfahrungen bei der Anwendung auf Pharmaka, Modellsysteme, Organellen, Zellen und Organe vorliegen. Methoden zur Isolierung, Kultivierung/Kokultivierung und Charakterisierung (biochemisch, immunzytochemisch, ultrastrukturell) von EZ und AZ sind etabliert, desgleichen Vitalitätstests, Erfassung von Zellzahl und -volumen. Ein in vitro-Modell zur Hypoxie/Reoxygenierung für EZ steht zur Verfügung und ist umfassend charakterisiert. Änderungen von BHS-Funktionen werden über elektrische Widerstandsmessung und Permeabilitätsuntersuchungen erfaßt. Die Analytik metabolischer Grundparameter mittels Photometrie bzw. HPLC steht routinemäßig zur Verfügung.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit Dr. Dirnagl, HUB gibt es eine Zusammenarbeit zu Fragen der Zellzucht und zum Radikalnachweis. Mit Dr. Rezka, MDC arbeiten wir bei der Bestimmung der Superoxiddismutaseaktivität als Bestandteil der endogenen Radikalabwehr bzw. als ein Stressprotein zusammen.

#### *Vorgesehene Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Der Radikalnachweis mittels Chemilumineszenz ist gemeinsam mit Dr. Dirnagl, HUB geplant. In Kooperation mit Dr. Rezka, MDC ist die Verwendung von Liposomen als Modell für eine intrazelluläre Radikalbildung vorgesehen. Zur weiteren Charakterisierung der Eigenschaften des Zellkulturmodells der BHS wird ebenfalls von Dr. Rezka die Permeation von Adhäsionsmolekülen bestimmt (z.B. CD 44, 54, 56).

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	2 Wissenschaftliche Assistentenstellen, 1 Doktorandenstelle,
Beantragte Investitionen:	DM 50.000,--
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):	DM 50.000,--



*Originalarbeiten der Arbeitsgruppe 1992/1993*

- Tosaki A., R.F. Haseloff, A. Hellegouarch, K. Schönheit, V.V. Martin, D.K. Das, I.E. Blasig. Does the antiarrhythmic effect of DMPO originate from its oxygen radical trapping property or the structure of the molecule itself? *Basic Res. Cardiol.* 87 (1992) 536-547
- Blasig I.E., K. Schönheit. Improvement of heart function by the spin trap alpha-phenyl-t-butyl nitron possibly caused by its nitroxyl radical adduct. In: K.J.A. Davies (ed.), *Oxidative damage and repair: Chemical, biological and medical aspects*. Pergamon Press 1992
- Krause, E., M. Beyermann, R. Winter, R. Haseloff, I.E. Blasig, M. Bienert. Studies on thioether modifications: S-oxidation, S-oxide reduction and regeneration of methionine peptides from their S-benzyl-sulfonium derivatives. In: Smith, J.A., Rivier, I.E. (Eds.), *Peptides: Chemistry and Biology*, 478-479, ESCOM, Leiden 1992
- Haseloff, R.F., S. Gruner, G.G. Wischniewski. Reactions of copper complexes with oxygen radicals generated by human neutrophils. *J. Biolumin. Chemilumin.* 7 (1992) 171-176.
- Härtel, H., R.F. Haseloff, B. Ebert, B. Rank. Free radical formation in chloroplasts. Methyl viologen action. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* 12 (1992) 375-382.
- Härtel, H., R.F. Haseloff, G. Walter, B. Rank. Photoinduced damage in leaf segments of wheat (*Triticum aestivum* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.) treated with d-aminolevulinic acid. II. Photodynamic damage measured by delayed chlorophyll fluorescence and P700 photooxidation. *J. Plant. Physiol.* 142 (1993) 237-243.
- Blasig I.E., S. Shuter, P. Garlick, T.V. Slater. Relative time profiles for free radical trapping, coronary flow, enzyme leakage, arrhythmias and function during myocardial reperfusion. *Free Radical Biol. Med.* 1993, in Druck
- Blasig I.E., L.B. Volodarski, A. Tosaki. Nitron spin trap compounds - Mode of cardioprotective action. *Pharmaceut. Pharmacol. Letters* 1993, in Druck
- Grune T., K. Schönheit, I.E. Blasig, W.G. Siems. Reduced 4-hydroxynonenal degradation in hearts of spontaneously hypertensive rats during normoxia and postischemic reperfusion. *Mol. Cell. Biol.* 1993, in Druck
- Grune T., W.G. Siems, K. Schönheit, I.E. Blasig. Release of 4-hydroxynonenal - an aldehydic mediator of inflammation during postischemic reperfusion of the myocardium. *Tissue Reactions*, in Druck
- Blasig I.E., T. Grune, K. Schönheit, W.G. Siems. Formation of 4-hydroxynonenal by the reperfusion-injured rat heart. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, in Druck
- Klauschenz, E., R.F. Haseloff, L.B. Volodarski, I.E. Blasig. Spin trapping using 2,2-dimethyl-2H-imidazole-1-oxides. *Free Radical Res. Commun.*, in Druck



**Name des Antragstellers:** Kurt Brauer

**Adresse:** Universität Leipzig, Paul-Flechsig-Institut für  
Hirnforschung, Abteilung Neuroanatomie, Jahnallee 59,  
Haus 2, 04109 Leipzig

**Telefon:** 0341 7974 621

**Fax:** 0341 2114492

**Thema:** Mikrogliale und astrozytäre Reaktivität in primär und  
transneuronal beeinflussten Regionen des visuellen  
Systems nach Kortex- und Colliculus-Läsionen sowie nach  
Enukleation.

#### *Einführung in das Thema*

In Kenntnis der dramatischen Folgen, die Gehirn- und Rückenmarksverletzungen nach sich ziehen, erlangen Untersuchungen über den Ablauf degenerativer Prozesse im ZNS besonderen Stellenwert. Degeneration im ZNS ist bekanntlich von morphologisch faßbaren reaktiven Gliaalterationen begleitet, die zur Phagozytose geschädigter und abgestorbener Neuronen oder neuronaler Kompartimente und letztlich auch zur Abgrenzung betroffener Zonen sowie zum räumlichen Ausgleich von Gewebsverlusten durch Vernarbung führen. Obwohl vor allem die Rolle der Mikroglia und Makrophagen, jedoch weniger die der Astroglia an diesen Degenerations- und Restitutionsprozessen in wesentlichen Punkten geklärt erscheint, bestehen noch offene Fragen, z. B. zur möglichen Beteiligung der Astroglia an der Phagozytose als auch zur zeitlichen Abfolge ihrer Aktivierungsphasen. Zudem erweisen sich noch andere Probleme als nur unzureichend geklärt: 1. Welche regionale Spezifität zeigen Gliareaktionen auf neuronale Schädigungen? 2. Welche Gesetzmäßigkeiten bestehen hinsichtlich der Altersabhängigkeit für die Spezifik und Intensität einer Gliareaktion? 3. Bestehen Unterschiede in der Gliareaktion zwischen anterograder und retrograder neuronaler Degeneration? 4. Wie verhält sich die Glia in transneuronal (anterograd und retrograd) beeinflussten Gebieten nach Läsionen? 5. Wie verhalten sich die glialen perineuronalen Netze des visuellen Kortex nach Ausschaltung der



Zielregionen von Projektionsneuronen (Pyramidenzellen), mit denen die netztragenden Nichtpyramidenzellen (inhibitorische Interneuronen) assoziiert sind?

### *Forschungsplan*

Für die Klärung der skizzierten Fragestellung bietet sich das visuelle System als geeignetes Modell an. Es umfaßt neben der Retina sowohl kortikale (primäre und Assoziationszentren) als auch subkortikale (u. a. Thalamus, basales Vorderhirn) spezifisch und unspezifisch assoziierte Regionen sowie ein wesentliches Integrationszentrum (Colliculus superior) im Mesencephalon. Die Läsionen sollen im Kortex, im Colliculus und durch Enucleation erfolgen. Enucleation eignet sich vor allem für die Untersuchung der Glia-Reaktionen auf anterograde Degeneration (Corpus geniculatum laterale, Colliculus superior), aber auch ihrer Reaktion auf transneuronalen Beeinflussung (geniculäre und colliculäre Ziel-Neuronen, visueller Kortex).

Loci mit primären, nebeneinander ablaufenden anterograden und retrograden Degenerationserscheinungen sind sowohl kortikal (assoziative und callosale Verbindungen) als auch thalamisch (Corpus geniculatum laterale, Nucleus lateralis posterior-Pulvinar-Komplex) nach Kortex-Läsionen zu erwarten. Außerdem sind Zelluntergänge oder -atrophien auch in anderen subkortikalen Regionen abzusehen (Ursprünge einer "unspezifischen" Projektion im Diagonalen Band, aminergen Kerngebieten etc.). Zerstörungen des Colliculus superior führen dagegen zu massiven retrograden Zelluntergängen in der Retina und zu einer anterograden Beeinflussung vor allem des Nucleus lateralis posterior-Pulvinar-Komplexes (Zwischenstation der colliculo-corticalen Bahn), der jedoch wegen seiner hohen funktionellen Komplexität zunächst nicht in die vorgesehenen Untersuchungen einbezogen werden soll. Sekundär von kortikalen und colliculären Läsionen betroffene Regionen fänden sich sowohl im Kortex als auch in diversen subkortikalen Gebieten sowie in der Retina (in dieser nur nach Kortex-Läsion).

Das vorgestellte Schädigungsmodell bietet auch den Vorteil, daß eine höchst effektive Nutzung der Experimentaltiere und Chemikalien garantiert ist. Mit einem Versuch können bei optimaler Verwertung der anfallenden Schnitte mehrere Fragestellungen gleichzeitig untersucht bzw. beantwortet werden.

### *Methodenspektrum*

Es ist beabsichtigt, die Untersuchungen an Laborratten durchzuführen, da langjährige



Erfahrungen am visuellen System dieser Species im PFI vorliegen. Läsionen werden vor allem durch Elektrokoagulation gesetzt bzw. durch Enucleation erzeugt. Eine große Rolle wird der kombinierte Einsatz diverser Glia-Marker spielen (Licht- u. Elektronenmikroskopie). Die vorgesehene Anwendung fluoreszierender Tracer (auch in Doppelmarkierungsexperimenten) ist äußerst zeitaufwendig und nur mit den zusätzlich geplanten Mitarbeitern durchführbar.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Im Rahmen einer Förderung durch die DFG besteht eine intensive Zusammenarbeit mit Prof. Dr. V. Bigl, Dr. G. Brückner und Dr. W. Härtig (Paul-Flechsig-Institut).

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Eine enge Zusammenarbeit ist mit Prof. Dr. V. Bigl, Dr. G. Brückner und Dr. W. Härtig vorgesehen. Beziehungen zur Gruppe von Dr. Reichenbach und Dr. Reichelt (Carl-Ludwig-Institut werden angestrebt). Außerhalb des geplanten SFB's sollen Kooperationsbeziehungen zur Arbeitsgruppe von Dr. Seeger (Leipzig) aufgebaut werden.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen: 1 Wissenschaftliche Assistentenstelle

1 Technische Assistentenstelle

Beantragte Investitionen: DM 50.000,--

Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr): DM 30.000,--

#### *Originalarbeiten 1992/1993*

Brauer, K., W. Härtig, V. Bigl and G. Brückner (accepted) Distribution of parvalbumin-containing neurons and lectin-binding perineuronal nets in the rat basal forebrain, Brain Res.

Brauer, K., W. Härtig, A. Schober, K. Welt, J. R. Wolff, J. Seeger and G. Brückner (submitted) A certain type of GABAergic and calbindin-positive neurons in rat and rabbit intermediate lateral septal nucleus: dense arrangement of parvalbumin-positive axonal varicosities around its somata and dendrites produces "Golgi-like" cell contours, J. Neurocytol.



Brückner, G., K. Brauer, W. Härtig, J. R. Wolff, M. J. Rickmann, A. Derouiche, B. Delpech, N. Girard, W. H. Oertel and A. Reichenbach (1993) Perineuronal nets provide a polyanionic, glia-associated form of microenvironment around certain neurons in many parts of the rat brain, *Glia* 8: 183-200.

Derouiche, A., W. Härtig, K. Brauer and G. Brückner (submitted) Astrocytes immunoreactive for glutamine synthetase are continuous with lectin-stained perineuronal nets surrounding parvalbumin-immunoreactive neurones, *Neuroscience*.

Härtig, W., K. Brauer and G. Brückner (1992) *Wisteria floribunda* agglutinin-labelled nets surround parvalbumin-containing neurons, *NeuroReport* 3: 869-872.

Härtig, W., K. Brauer and G. Brückner (in press) Preparation of biotinylated primary antibodies and their application for immunocytochemical dual-label experiments using antibodies from the same animal species, *Neurosci. Prot.*

Härtig, W., K. Brauer, V. Bigl and G. Brückner (accepted) Chondroitin sulphate proteoglycan-immunoreactivity of lectin-labelled perineuronal nets ensheathing parvalbumin-containing neurons in the rat cortex, *Brain Res.*

Seeger, G., K. Brauer, W. Härtig and G. Brückner (accepted) Mapping of perineuronal nets in the rat brain stained by the colloidal iron hydroxide histochemistry and lectin cytochemistry, *Neuroscience*.

Smith, Th., K. Brauer and A. Reichenbach (1993) Quantitative phylogenetic constancy of cerebellar Purkinje cell morphological complexity, *J. Comp. Neurol.* 331: 402-406.



**Namen der Antragsteller:** Gert Brückner und Volker Bigl

**Adresse:** Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung der Universität Leipzig  
Jahnallee 59  
04109 Leipzig

**Telefon:** 0341 7974-603/600

**Fax:** 0341 2114492

**Thema:** Extrazelluläre Matrix und Glia und ihre mögliche Rolle in der Pathogenese der Epilepsie

#### *Einführung in das Thema*

Extrazelluläre Matrix und Glia sind für die strukturellen, biochemischen und physiologischen Eigenschaften des neuronalen Mikromilieus von entscheidender Bedeutung. Eine spezielle, jedoch im Gehirn weit verbreitete Form dieses Mikromilieus bilden die perineuronalen Netze, in denen stark anionische Proteoglykane konzentriert sind. Ähnlich dem Mikromilieu der Ranvier'schen Knoten könnten diese Proteoglykane gemeinsam mit den benachbarten Gliafortsätzen eine besondere Puffer- oder Barrierefunktion für Ionen und Transmitter bei neuronalen Erregungs- oder Hemmungsprozessen ausüben. Im Neocortex und Hippocampus sind Subpopulationen vor allem GABAerger Interneurone mit einem polyanionischen Mikromilieu ausgestattet. Es ist unsere Arbeitshypothese, daß Abweichungen von der physiologisch normalen funktionellen Aktivität dieser Neurone sich in Veränderungen des perineuronalen Mikromilieus widerspiegeln und andererseits auch von diesen verursacht werden können. Pathophysiologische Konsequenzen einer regionalen Destabilisierung der Ionenhomöostase könnten sich in epileptoformen Funktionsstörungen oder weitreichenderen neurodegenerativen Prozessen widerspiegeln.

#### *Forschungsplan*

Es ist das Anliegen des Projektes, die Zusammenhänge von Glia-Matrix-Systemen und neuronaler Aktivität zu untersuchen und mögliche kausale Faktoren für die Pathogenese von Epilepsien zu erkennen. Die experimentelle Grundlage sollen einerseits die Beeinflussung der neuronalen Aktivität von Versuchstieren und andererseits die biochemische Veränderung des neuronalen Mikromilieus in vitro bilden.

#### *Methodenspektrum*

Die Arbeiten am Tiermodell mit Ratten umfassen zwei Ansätze:

- 1) Kindling-Modell mit chronischer Aktivierung hippocampaler Systeme.



2) Monokuläre visuelle Deprivation in der postnatalen Entwicklung durch einseitigen Lidverschluß.

Anschließend werden mögliche qualitative oder quantitative Veränderungen der Glia-Matrix-Systeme durch etablierte immun- und lektinhistochemische Methoden untersucht.

Die Arbeiten zum Einfluß perineuronaler Proteoglykane auf die physiologischen Eigenschaften von Neuronen beinhalten:

1) Untersuchung des Aufbaus der beteiligten perineuronalen Proteoglykane in Gewebeschnitten durch partielle Verdauung der Glykankomponenten und/oder des Core-Proteins.

2) Beeinflussung der physiologischen Eigenschaften von Neuronen im Gewebeschnitt oder an Zellkulturen nach biochemischer Veränderung der extrazellulären Matrix.

Längerfristig sollen die Voraussetzungen für entsprechende Untersuchungen an Biopsiematerial chirurgisch behandelter Epilepsiepatienten geschaffen werden.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Dr. Brauer aus der Abteilung Neuroanatomie des Paul-Flechsig-Instituts ist Mitarbeiter in einem DFG-Projekt zum Thema der perineuronalen Netze. Dr. Reichenbach, Carl-Ludwig-Institut für Physiologie der Universität Leipzig.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Die visuelle Deprivation von Ratten wird in Zusammenarbeit mit Dr. Schliebs durchgeführt.

Die physiologischen Eigenschaften von Neuronen in nativen Hirnschnitten und Zellkulturen nach Veränderungen des extrazellulären Milieus sollen in Zusammenarbeit mit Dr. Reichenbach und Dr. Reichelt (Leipzig) untersucht werden.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen: 1 Wissenschaftliche Assistentenstelle

1 Doktorandenstelle

1 technische Assistentenstelle

Beantragte Investitionen: DM 40.000,--

Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr): DM 30.000,--



*Originalarbeiten 1992/1993*

Girard, N., Courel, M., Delpech, A., Brückner, G., Delpech, B. (1992) Staining of hyaluronan in rat cerebellum with a hyaluronectin-antihyaluronectin immune complex. *Histochem. J.* 24: 21-24.

Schwab, C., Brückner, G., Rothe, T., Castellano, C., Oliverio, A., Biesold, D. (1992) Autoradiographic detection of muscarinic cholinergic receptors in the brain of C57/BL6 and DBA/2 mice. *Neurochem. Re.* 17: 1057-1062.

Härtig, W., Paulke, B.R., Brückner, G. (1992) Fluorescent latex microspheres for retrograde tracing of neurons in mouse basal forebrain combined with immunocytochemistry: a methodical approach. *Acta histochem. Suppl.* 42: 261-265.

Schwab, C., Brückner, G., Härtig, W. (1992) Parvalbumin and calbindin immunoreactivity in the rat brain: a double-immunolabelling method. *Acta histochem. Suppl.* 42, 277-281.

Brückner, G., Schober, W., Härtig, W., Ostermann-Latif, C., Webster, H.H., Dykes, R.W., Biesold, D. (1992) The basal forebrain cholinergic system in the raccoon. *J. Chem. Neuroanat.* 5: 441-452.

Paulke, B.-P., Härtig, W., Brückner, G. (1992) Synthesis of nanoparticles for brain cell labelling in vivo. *Acta Polymer.* 43: 288-291.

Härtig, W., Brauer, K., Brückner, G. (1992) Wisteria floribunda agglutinin-labelled nets surround parvalbumin-containing neurons. *NeuroReport* 3: 869-872.

Brückner, M., Bendix, U., Hube, M., Arendt, T., Bigl, V. (1992) Alzheimer's disease: A monoclonal antibody against paired helical filaments. *Acta histochem. Suppl.* XLI: 143-152.

Arendt, T., Brückner, M.K., Lange, M., Bigl, V. (1992) Changes in acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase resemble embryonic development - a study of molecular forms. *Neurochem. Int.* 21: 381-396.

Brückner, G., Brauer, K., Härtig, W., Wolff, J.R., Rickmann, M.J., Derouiche, A., Delpech, B., Girard, N., Oertel, W.H., Reichenbach, A. (1993) Perineuronal nets provide a polyanionic, glia-associated form of microenvironment around certain neurons in many parts of the rat brain. *Glia* 8: 183-200.



Härtig, W., Brauer, K., Brückner, G. (1993) Preparation of biotinylated primary antibodies and their application for immunocytochemical dual-label experiments using antibodies from the same species. *Neurosci. Protocols*, im Druck.

Brückner, G. (1993) Glia-derived perineuronal nets as a specialized glia-neuron interface. *Acta Biol. Exp.*, im Druck.

Seeger, G., Brauer, K., Härtig, W., Brückner, G. (1993) Mapping of perineuronal nets in the rat brain stained by the colloidal iron hydroxide histochemistry and lectin cytochemistry. *Neuroscience*, im Druck.

Brauer, K., Härtig, W., Bigl, V., Brückner, G. (1993) Distribution of parvalbumin-containing neurons and lectin-binding perineuronal nets in the rat basal forebrain. *Brain Res.*, im Druck.

Härtig, W., Brauer, K., Bigl, V., Brückner, G. (1993) Chondroitin sulphate proteoglycan immunoreactivity of lectin-labelled perineuronal nets in the rat cerebral cortex. *Brain Res.*, im Druck.

Schliebs, R., Roßner, S., Kumar, A., Bigl, V. (1993) Muscarinic cholinergic receptor subtypes in rat visual cortex - a comparative study using quantitative receptor autoradiography and in situ hybridization. *Ind. J. Exp. Biol.*, im Druck.

Roßner, S., Perez-Polo, J.R., Wiley, R.G., Schliebs, R., Bigl, V. (1993) Differential expression of immediate early genes in cerebral cortex after cholinergic immunolesion. *J. Neurosci. Res.*, submitted.

Kumar, A., Schliebs, R., Bigl, V. (1993) Postnatal development of NMDA, AMPA, and kainate receptors in individual layers of rat visual cortex and the effect of visual deprivation. *Int. J. Dev. Neurosci.* (accepted).



**Name der Antragsteller:** Ulrich Dirnagl und Tobias Back  
Neurologische Klinik, Charité, Humboldt Universität  
10098 Berlin

**Telefon:** 030 2802 3228

**Fax:** 030 2802 5047

**Thema:** Spreading Depression (SD): Interaktion nicht-neuronaler und neuronaler Zellen bei molekularen, metabolischen und vaskulären Mechanismen

#### *Einführung in das Thema*

Die SD ist ein langsam über den Cortex propagierendes Sistieren der elektrischen Aktivität, das von einem großem negativen DC-Potential im Extrazellulärraum begleitet wird. Die SD kann experimentell durch eine Reihe von chemischen, elektrischen oder mechanischen Stimuli ausgelöst werden. Es wird vermutet, daß neben neuronalen auch wesentlich gliale, mikrogliale sowie endotheliale Zellen an der Entstehung und Ausbreitung dieses Phänomens beteiligt sind. Es ist unklar, ob die SD eine Bedeutung in der Entstehung von ZNS-Erkrankungen hat, sie gilt jedoch als elektrophysiologisches Korrelat der Migräne. Es wird zudem vermutet, daß die SD im Gefolge der zerebralen Ischämie auftritt und hierbei am Gewebsschaden beteiligt ist.

#### *Forschungsplan:*

Die geplanten Untersuchungen gliedern sich in drei Abschnitte:

#### *I: Glia, Mikroglia, Endothel und Neuron: differentieller Beitrag der Zellpopulationen zu Entstehung und Ausbreitung der SD*

In diesem Untersuchungsabschnitt wird mit Hilfe der funktionellen Ausschaltung von einzelnen Zellpopulationen in vivo sowie durch isolierte Betrachtung von Zelltypen in vitro der Einfluß dieser Zelltypen auf die Auslösbarkeit, die Propagation und den potentiellen neuronalen Schaden durch die SD untersucht:

- a) Differentielle Ausschaltung von Astrozyten (Fluoroacetat), Neuronen (Ibutensäure), Endothel (Light & Dye), Leukozyten (Leukozytendepletion oder antileukozytäre Ak)
- b) Aufbau eines in vitro Modells der SD
- c) Untersuchungen zur Störung der Blut-Hirnschranke nach SD

#### *II Mechanismen der zerebralen Blutflußveränderungen während und nach SD*

Die elektrophysiologischen Phänomene der SD sind von stereotypen zerebralen Blutflußveränderungen begleitet, es ist jedoch unklar, ob es sich hier um ein Epiphänomen oder um funktionell bedeutsame Veränderungen handelt. Folgende Untersuchungen sind geplant:



- a) Messung von extrazellulärer  $K^+$ -Konzentration, DC-Potential, Laser-Dopplerblutfluß, freier Radikal-Entstehung (Chemolumineszenz in vivo) und Gewebe- $pO_2$  während und in Folge von SD im Zeitverlauf.
- b) Dissoziation der elektrophysiologischen von den Blutflußphänomenen durch Blockade der Nitric Oxide Synthetase: Auswirkungen auf die cfos-Induktion im Nucleus trigemini, den neuronalen Schaden sowie die Aktivierung von Leukozyten und Mikroglia
- c) Induktion von SD bei verschiedenem Schweregrad von zerebraler Ischämie: Blutfußschwellenwert zur Auslösung eines neuronalen Schadens?
- d) Endotheliale Faktoren bei der Hypoperfusion nach SD: Histologischer Nachweis von endothelialen Mikrovilli, in situ Hybridisierung zum Endothelin-Nachweis.

### *III Pathophysiologische Relevanz der SD für Migräne und zerebrale Ischämie beim Menschen*

Neue Methoden (Nahinfrarotspektroskopie, Magnetenzephalographie, funktionelles NMR und MR-Spektroskopie) ermöglichen erstmals den Nachweis der SD beim Menschen. Folgende Untersuchungen sind geplant:

- a) Nahinfrarotspektroskopie bei Migränapatienten und Patienten mit akutem Schlaganfall
- b) Funktionelles NMR bei Migränapatienten und Patienten mit akutem Schlaganfall

#### *Methodenspektrum:*

Konfokale Mikroskopie, In vivo Chemolumineszenz, Sievers NO-Analyzer, Laser Doppler-Blutflußmessung, Elektrophysiologie (DC,  $K^+$  etc.), Gewebe-  $pO_2^*$ , Nahinfrarotspektroskopie, Funktionelles NMR\* (\*: geplant); Tierexperimentelle Modelle (SD, fokale und globale Ischämie), Brain Slices, Zellkultur (neuronal, glial, endothelial)

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit I.Blasig Messungen freier Radikale (Vergleich ESR-Chemolumineszenz). Mit U.Heinemann Aufbau eines Meßplatzes zur Messung von extrazellulärem  $[K^+]$  (J.Dreier).

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

M.Paul: molekularbiologische Techniken (z.B. Endothelin in situ-Hybridisierung); H.Kettenmann: Immunhistochemische Charakterisierung von Zellen; K.Brauer: Histomorphologie (EM)

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	1 BAT IIa Stelle, 1 BAT V (MTA) Stelle
Beantragte Investitionen:	DM 50.000 .-
Beantragte Sach- und Reisemittel	DM 45.000 .-



*Ausgewählte Publikationen 1992/1993:*

- Dirnagl U, Villringer A, Einhüpl KM (1992)** In-vivo confocal laser scanning microscopy of the cerebral microcirculation. *J Microscopy* 165:147-158.
- Chance B, Villringer A, **Dirnagl U, Einhüpl KM (1992)** Optical imaging of brain function and metabolism. *J Neurol* 239:359-360.
- Pfister HW, Borasio GD, **Dirnagl U, Bauer M, Einhüpl KM (1992)** Cerebrovascular complications of bacterial meningitis in adults. *Neurology* 42:1497-1504
- Pulsinelli, W.A., **Dirnagl, U.**, Jacewicz, M., and Buchan, A. (1992). Antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters: a comparison of their effects on global versus focal ischemia. In: *Drug research related to neuroactive amino acids, Alfred Benzon Symposium 32*, A. Schousboe, N.H. Diemer, and H. Kofod, eds. (Kopenhagen: Munksgaard), pp. 225-238.
- Villringer A, **Dirnagl U, Piepgras A, Schmiedek P, Einhüpl KM (1992)** Erythrocyte flow in cerebral capillaries under resting and stimulated conditions. in: *Cerebral blood flow under stimulated conditions*, Eds.: Schmiedek P, Einhüpl KM, Kirsch CM, Springer Verlag Heidelberg, New York; pp 61-65.
- Haberl RL, Boerschel M, **Dirnagl U, Piepgras A, Schmiedek P, Einhüpl KM (1992)** Continuous measurement of acetazolamide-stimulated cerebral blood flow by laser Doppler flowmetry. in: *Stimulated Cerebral Blood Flow*, Eds. Schmiedek P, Einhüpl KM, Kirsch CM; Springer Verlag Heidelberg New York, pp 66-70.
- Villringer A, **Dirnagl U, Einhüpl KM (1992)** Microscopical visualization of the brain in vivo. in: *New dimensions of visualization in biomedical microscopies*, Ed: Kriete A, VCH Weinheim, pp. 161-181
- von Kummer R, **Back T (1992)** CO<sub>2</sub>- and O<sub>2</sub>-reactivity of cerebral circulation. In: Schmiedek P, Einhüpl K, Kirsch CM (Hrsg): *Stimulated cerebral blood flow*. Springer Heidelberg, S. 150-157.
- von Kummer R, **Back T, Scharf J (1992)** Der Einfluß der Hämodilution auf den arteriellen Sauerstoffgehalt, die Hirndurchblutung und die zerebrale Sauerstoffversorgung bei normaler und erschöpfter Perfusionsreserve. In: Landgraf H, Ehrly AM (Hrsg): *Hämodilution bei akuter zerebraler Ischämie*. Blackwell Wissenschaft, Berlin, S. 53-64.
- Siebels M, Andrassy K, Vescei P, Seelig HP, **Back T, Nawroth P, Weber E (1992)** Dose dependent suppression of mineralocorticoid metabolism by different heparin fractions. *Thrombosis Research* 66: 467-473.
- Dirnagl, U. (1993)** Calcium and ischemic brain damage. *Therap Res* 14:57-64
- Pfister HW, Ködel U, **Dirnagl U, Haberl RL, Ruckdeschel G, Einhüpl KM (1992)** Effect of catalase on the early phase of experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis*



- Dirnagl U, Jacewicz M, Pulsinelli WA (1993)** The effect of MK-801 on cerebral blood flow in spontaneously hypertensive rats subjected to focal cerebral ischemia *J Cereb Blood Flow Metab* (im Druck)
- Villringer A, Dirnagl U, Them A, Sixt G, Einhüpl KM (1993)** Towards imaging of intracellular ion concentrations and capillary perfusion in the intact brain. *Adv Exp Med Biol* 333:193-293.
- Dirnagl U, Thorén P, Villringer A, Sixt G, Them A, Einhüpl K (1993)** Global forebrain ischemia in the rat: controlled reduction of cerebral blood flow by hypobaric hypotension and two-vessel occlusion. *Neurol Res* 15:128-130
- Dirnagl U, Koedel U, Pfister HW, Villringer A, Einhüpl KM (1993)** Detection of brain free oxygen radical generated photons in vivo. *Adv Exp Med Biol* 333:203-213.
- Dirnagl U (1993)** Cerebral ischemia: The microcirculation as trigger and target. *Prog Brain Res* 96:49-65
- Villringer A, Plank J, Stodieck S, Bötzel K, Schleinkofer L, Dirnagl U (1993)** Noninvasive assessment of cerebral hemodynamics and tissue oxygenation during activation of brain cell function in human adults using near infrared spectroscopy. *Adv Exp Med Biol* (im Druck).
- Dirnagl U, Lindauer U, Villringer A (1993)** Role of nitric oxide in the coupling of cerebral blood flow to neuronal activation in rats. *Neurosci Lett* 149: 43-46
- Villringer, A., Planck, J., Hock, C., Schleinkofer, L. & Dirnagl, U. (1993)** Near infrared spectroscopy (NIRS): A new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neurosci Lett* 154:101-104
- Dirnagl, U., Lindauer, U., Villringer, A. (1993)** Nitric oxide-synthase blockade enhances vasomotion in the cerebral microcirculation of anesthetized rats. *Microvasc Res* 45:318-323.
- Abels, C., Röhrich, F., Uhl, E., Corvin, S., Villringer, A., Dirnagl, U., Baethmann, A., and Schürer, L. (1993).** Current evidence on a pathophysiological function of leukocyte/endothelial interactions in cerebral ischemia. In *Cerebral ischemia and basic mechanisms*, A. Hartmann, F. Yatsu, and W. Kuschinsky, eds. (Heidelberg: Springer) (im Druck)
- Lindauer, U., Villringer, A. & Dirnagl, U. (1993)** Characterisation of the cerebral blood flow response to somatosensory stimulation: model and influence of anesthesia. *Am J Physiol* 264:H1223-H1228.
- Niwa, K., Lindauer, U., Villringer, A., Dirnagl, U. (1993)** Blockade of nitric oxide synthesis in rats strongly attenuates the CBF-response to extracellular acidosis. *J Cereb Blood Flow*



- Dirnagl, U., Niwa, K. Sixt, G., Villringer, A. (1993)** Cortical hypoperfusion after global forebrain ischemia in the rat is not caused by microvascular leukocyte plugging. Stroke (in press)
- Dirnagl, U., Pfister, H.W., Einhäupl, K.M., Villringer, A. (1993)** Subsurface microscopical visualization of the brain in vivo: problems and prospects. Micron (in press)
- Lorenzl, S. Koedel, U., Dirnagl, U., Ruckdeschel, G., Pfister, H.W. (1993)** Imaging of leukocyte-endothelium interaction using in vivo confocal laser scanning microscopy during the early phase of experimental pneumococcal meningitis. J Infect Dis (in press)
- von Kummer R, Haag P, Back T (1993)** Blood viscosity and cerebral blood flow (letter). Stroke 24: 760-761.
- Wießner C, Back T, Bonnekoh P, Kohno K, Gehrmann J, Hossmann KA (1993)** Sulfated glycoprotein-2 mRNA in the rat brain following transient forebrain ischemia. Molecular Brain Research, im Druck.
- Norris DG, Hoehn-Berlage M, Wittlich F, Back T, Hossmann KA, Leibfritz D (1993)** Dynamic imaging with T2\* contrast using U-FLARE. Magnetic Resonance Imaging, im Druck.
- Back T, Kohno K, Hossmann KA (1993)** Cortical negative DC deflections following middle cerebral artery occlusion and KCl-induced spreading depression: Effect on blood flow, tissue oxygenation and electroencephalogram. J Cereb Blood Flow Metab, im Druck.



**Name des Antragstellers:** Uwe-Karsten Hanisch

**Adresse:** Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Zelluläre Neurobiologie  
Robert-Rössle-Straße 10  
13122 Berlin-Buch

**Telefon:** 030 9406 3325

**FAX:** 030 9406 3819

**Thema:** Cytokine als Modulatoren glialer Ionenströme

### **Einführung in das Thema**

Cytokine sind hormonähnliche Peptide mit regulatorischen Aktivitäten während viraler Infektionen, Entzündungen, Immunantworten und der Hämoopoese. Für einige Cytokine wurden auch Existenz, Synthese und Effekte im ZNS nachgewiesen (z.B. IL-1, IL-2, TNF). Cytokine scheinen an der ontogenetischen Steuerung neuraler Differenzierungen teilzunehmen, ähnlich den Rollen die sie als Wachstumsfaktoren in der Peripherie innehaben. Als Modulatoren neuraler und neuroendokriner Aktivität steuern sie auch im adulten Hirngewebe z.B. die Freisetzung von Transmittern und releasing-Faktoren. Gliazellen, als den massenmäßig bedeutsamsten Produzenten und gleichzeitig zellulären Wirkorten, könnte somit auch über den lokalen Cytokinhaushalt eine Regulation neuronaler Funktionen zukommen. Die während neuropathologischer Veränderungen (z.B. Multiple Sklerose, Alzheimersche Krankheit, AIDS) oder als Folge und im Bereich traumatischer Ereignisse beobachteten Anstiege in Gewebekonzentrationen von Cytokinen und ihrer Bindungsstellen stehen vermutlich direkt mit der Aktivierung von Glia im Zusammenhang, die zur Ausbildung von Narben, zur erhöhten Phagozytoseleistung und Produktion regenerationsfördernder Wirkstoffe, aber ebenso zur Auslösung neurotoxischer Kaskaden führen kann. Letztere sind von klinischem Interesse auch deshalb, da die immuntherapeutische Anwendung von Cytokinen durch dramatische, teilweise zentral vermittelte Nebeneffekte behindert wird. Allerdings sind die denkbar vielfältigen Cytokineffekte auf verschiedene Zelltypen bzw. Reifungsstadien kaum untersucht, die entsprechenden Rezeptoren und Postrezeptormechanismen nicht identifiziert. Obwohl erste Arbeiten inzwischen Effekte von Cytokinen auf die elektrochemischen Eigenschaften von Neuronen und Muskelzellen darstellen konnten, steht der Nachweis entsprechender Modulationen in Gliazellen aus.

### **Forschungsplan**

Ziel des Projektes ist die Erfassung von Cytokineffekten auf funktionelle Eigenschaften glialer Zellen mit dem Schwerpunkt, mögliche Veränderungen ihrer Ionenleitfähigkeiten bzw. Ionenverteilung als Antwort auf Cytokinkontakte zu untersuchen. Während der Proliferation und Differenzierung glialer Vorläuferzellen zu entweder Astrocyten oder Oligodendroglia kommt es zu einer charakteristischen und massiven Veränderung des Musters exprimierter Ionenkanäle, die die Reifung dieser Zellen begleitet und vermutlich ihrer Funktion nach Erreichen des ausdifferenzierten Zustandes z.B. innerhalb der Regulation des Ionenhaushalts (z.B. extrazelluläres  $K^+$ ) zugrundeliegt. Eine funktionelle Verknüpfung der parallel zu beobachtenden Veränderungen im Leitfähigkeitsmuster der Glia und dem Auftreten von Cytokinen als auto- und paracrine Regulatoren der Gliareifung und -aktivität liegt nahe. Am Modell der in Kultur darstellbaren Reifungssequenz von Gliazellen wäre die Regulation von Ionenkanälen zu prüfen, die in Beziehung zur veränderten Teilungsfähigkeit und Differenzierung stehen könnte. Möglicherweise bestehen für Cytokine Funktionen, die an der Festlegung von Differenzierungszeitpunkt und -potential beteiligt sind. Cytokine, die in der natürlichen Umgebung der reifenden Zellen gebildet werden, hätten dann



einen auch kurzzeitig modulierenden Effekt. Über die Messung von intrazellulärem  $Ca^{2+}$  soll die Aktivierung dieses Signals nach Cytokinkontakt untersucht werden. Die beobachtete Motilitäts- und Phagozytoseabhängigkeit von extrazellulärem  $K^+$  bei Microglia soll ebenfalls als Modell für Cytokineffekte genutzt werden. Zum einen wäre ein direkter Einfluß auf die Beweglichkeit und Phagozytoseleistung denkbar, der während der Reifung oder nach Schädigung des Gewebes Microglia im Bereich sterbender Zellen aktiviert bzw. diese Bereiche markiert. Andererseits könnten Cytokine die Ansprechbarkeit der Glia gegenüber den Ionenschwankungen modulieren, was zur Unterscheidung des normalen Gewebezustandes gegenüber einem geschädigten Bereich beitragen könnte. Neben den Experimenten an tierischen Geweben ist die Einbeziehung von Tumorzellen vorgesehen.

### ***Methodenspektrum***

Zur Charakterisierung akuter und langfristiger Cytokineffekte auf physiologische Eigenschaften von Glia werden Zellkulturen und Gewebeschnitte eingesetzt, wobei neben dem Zusatz auch der selektive Entzug (Blockierung durch Antikörper) dieser Faktoren untersucht werden soll. Ionenleitfähigkeits- und Ionenkonzentrationsänderungen können durch Anwendung von Patch-clamp-Verfahren sowie der konfokalen Mikroskopie erfaßt werden. Neben direkten Effekten auf die Membranströme sollte eine Modulation transmitterinduzierter Leitfähigkeitsänderungen durch Cytokine berücksichtigt werden. Der Nachweis von entsprechenden Rezeptoren, Cytokinpeptiden und zellspezifischen Antigenen auf und in Gliazellen soll über autoradiographische, Western-blot- und immunocytochemische Techniken erfolgen.

### ***Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's***

Innerhalb der Arbeitsgruppe "Zelluläre Neurobiologie" am MDC bzw. in den ebenfalls von Dr. Helmut Kettenmann geleiteten Labors der Neurobiologie an der Universität Heidelberg bestehen seit Aufnahme der Arbeiten im August 1993 erste Kooperationen mit Herrn Thomas Möller, bei der Untersuchung cytokininduzierter Veränderungen von  $[Ca^{2+}]$  in Gliakulturen, und mit Herrn Johannes Brockhaus, im Rahmen der Untersuchung microglialer Membraneigenschaften und Motilität unter Cytokineinflüssen.

### ***Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's***

Thematisch und methodisch sind Zusammenarbeiten mit den Gruppen von Dr. Kettenmann am MDC bzw. der Universität Heidelberg geplant, insbesondere bei der Anwendung von Zellkulturmodellen (Microglia, Astrocyten, Oligodendrocyten aus Mausgehirnpräparationen und Kaninchenretina), kinetischen Untersuchungen zur Zellmotilität und Phagozytoseleistung, der Messung von  $[Ca^{2+}]$ -Änderungen und Patch-clamp-Studien. Die Einbeziehung von Tumormaterial in das geplante Projekt kann ebenfalls am MDC, mit Herrn Dr. Stephan Patt, realisiert werden. In Bezug auf die Charakterisierung von Cytokinen als neuromodulatorische Faktoren wird eine Kooperation mit Frau Dr. Regina Reszka (MDC) angestrebt.

### ***Finanzrahmen***

Beantragte Stellen:	1 Doktorandenstelle (BAT 2a/2 Ost)
Beantragte Investitionen:	DM 30.000.--
Beantragte Sachmittel:	DM 15.000.--/Jahr
Beantragte Reisemittel:	DM 3.000.--/Jahr



### **Projektrelevante Publikationen 1993**

Hanisch U-K, Seto D, Quirion R (1993) Modulation of hippocampal acetylcholine release: a potent central action of interleukin-2. *J Neurosci* 13: 3368-3374.

Seto D, Hanisch U-K, Villemain F, Beaudet A (1993) Anatomical and functional approaches to the study of interleukin-2 and its receptors in brain. In: DeSouza EB (ed) *Neurobiology of cytokines, Part A, Methods in Neuroscience, Vol 16, Academic Press, New York.*



*Name des Antragstellers:*

Uwe Heinemann

*Adresse:*

Inst. f. Physiologie

Hessische Str. 2-4

Berlin

*Telefon:*

*Fax:*

*Thema:*

Mikro- und Astroglia bei chronischen experimentellen  
Temporallappenepilepsien

### *Einführung in das Thema*

Humane Temporallappenepilepsien (HTLE) machen ca. 40% aller epileptischen Erkrankungen aus. Sie werden sehr häufig pharmakoresistent, d.h. sie sprechen auf die gegenwärtig zur Verfügung stehenden Pharmaka nicht mehr an. Morphologisch sind HTLE mit Zellverlust zwischen 20 und 80% sowie einer Astrozytose verbunden. Daneben kommt es zu Sprossungsphänomenen und anderen Formen neuronaler Reorganisation. Einen Teil bzw. alle diese Veränderungen lassen sich auch in tierexperimentellen Modellen der HTLE nachweisen. Dies gilt besonders für alle Status epilepticus induzierten Modelle (Kainsäure, Pilocarpin, lange intensive elektrische Reize). Diese Tiere zeigen nach einem Intervall von ca. 4 Wochen nach Ende des Status epilepticus erste klinische limbische Anfälle. Bei der Kindlingepilepsie hängt das Auftreten der oben genannten Veränderungen offenbar von der Intensität der Reize ab. Beim Kainsäuremodell wurde kürzlich gezeigt, daß die reaktiven Astrozyten auf Marker für Astrozyten Typ II positiv reagieren. Daneben scheint es zu einer monatelangen Aktivierung von Mikrogliazellen zu kommen. Die funktionellen Konsequenzen dieser Veränderungen sollen in dem vorliegenden Projekt untersucht werden.

### *Forschungsplan*

Zunächst soll der Frage nachgegangen werden, ob die mit TLE verbundene Astrozytose generell auf einer Bildung von Astrozyten Typ II beruht. Der Zeitgang der Aktivierung von Mikrogliazellen und Astrozyten-Typ II Zellen soll ermittelt werden und mit anderen morphologischen Veränderungen im Hippokampus und entorhinalen Kortex der Maus korreliert werden. Mit Hilfe der Kindlingepilepsie soll bestimmt werden, ob diese Veränderungen obligat mit neuronalen Sprossungsphänomenen und neuronalem Zellverlust verbunden sind. Mit elektrophysiologischen Methoden sollen anhand von Zellkulturen weiter die funktionellen



Eigenschaften von aktivierten Mikrogliazellen untersucht werden und insbesondere geklärt werden, wie diese Zellen auf Neurotransmitter und Neuromodulatoren reagieren. Anhand von in situ Hirnschnittuntersuchungen mit Hilfe der Dünnschnittmethode sollen die physiologischen Eigenschaften reaktiver Astrozyten und aktivierter Mikroglia untersucht werden. Dabei interessieren uns die Eigenschaften der Membranleitfähigkeiten der Neurotransmitterrezeptoren und Transportprozesse. Die Auswirkungen der Astrozytose auf Ausbreitungsprozesse epileptischer Aktivität soll weiter untersucht werden. Besonders interessiert uns hier der Beitrag von Gliapufferungsmechanismen und veränderter Transportprozesse für Glutamat und GABA.

#### *Methodenspektrum*

Die Untersuchungen sollen an Mäusen durchgeführt werden. Geplant sind immunhistochemische Untersuchungen der Eigenschaften der aktivierten Gliazellen. Mit Hilfe der Dünnschnittmethode sollen unter Sicht die Eigenschaften aktivierter Gliazellen ermittelt werden. Mit Hilfe der Vibrodissoziationen sollen Gliazellen aus den Hirnschnittpräparaten freigesetzt werden und in Bezug auf ihre funktionellen Eigenschaften untersucht werden.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit Herrn Reichelt aus Leipzig beschäftigen wir uns mit den Permeabilitätseigenschaften und Transportprozessen an Müllerzellen sowie mit neuronalen und glialen Interaktionen im Hippokampus. Mit Herrn Nitsch besteht eine Kooperation zur Analyse von Läsionsfolgen im entorhinalen Kortex. Mit dem Labor von Herrn Kettenmann haben wir in der Vergangenheit bereits verschiedentlich interagiert.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit der Gruppe um Herrn Einhäupl sollen Veränderungen des Ionenmilieus während der von dieser Gruppe mit bildgebenden Verfahren untersuchten Vorgänge zur Spreading depression verglichen werden. Die bereits begonnenen Kooperationen sollen weitergeführt werden.

#### **Finanzrahmen**

Beantragte Stellen: eine BAT IIA, eine BAT IIA/2 und eine TA

Beantragte Investitionen: DM 70.000.--

Beantragte Sach- und Reisemittel pro Jahr: DM 38.000.--



- BOULTON C.L., v. HAEBERLER, D., HEINEMANN, U.* Tracing of axonal connections by rhodamine-dextran-amine in the rat hippocampal-entorhinal cortex slice preparation. *Hippocampus* 2:99-106, 1992.
- FICKER, E., HEINEMANN, U.* Slow and fast transient potassium currents in cultured hippocampal cells. *J. Physiol.(London)* 445:431-455, 1992.
- FRIEDMANN, A., ARENS, J., HEINEMANN, U., GUTNICK, M.* Slow depolarizing afterpotentials in neocortical neurons are sodium and calcium dependent. *Neurosci. Lett.* 135:13-17, 1992.
- LUHMANN, H.J., HEINEMANN, U.* Hypoxia-induced functional alterations in adult rat neocortex. *J. Neurophysiol.* 67:798-811, 1992.
- SOKOLOVA, S., ZHANG, C.L. KHODOROV, B., HEINEMANN, U.* Effects of ethylisoprpylamiloride (EIPA) on different patterns of epileptiform activity in temporal cortex slices of rats. *Neuroscience Res. Comm.* 10:171-176, 1992
- STABEL J., FICKER, E., HEINEMANN, U.* Young CA1 pyramidal cells of rats, but not dentate gyrus granule cells, express a delayed inward rectifying current with properties of I<sub>q</sub>. *Neuroscience Lett.* 135:231-234, 1992.
- ZHANG, C.L., CHATTERJEE, S.S., STEIN, U., HEINEMANN, U.* Effects of losigamone and its isomers on maximal electroshock induced convulsions in mice and on three different forms of low Mg<sup>2+</sup> induced epileptiform activity in rat temporal cortex slices. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacology* 345:85-92, 1992.
- CLUSSMANN, H., STABEL, J., STEPHENS, D.N., HEINEMANN, U.* Alterations in medial perforant path and mossy fiber induced fp's in amygdala and FG 7142 kindled rats. *Neuroscience Lett.* 146: 65-68, 1992.
- ARENS, J., STABEL, J., HEINEMANN, U.* Pharmacological properties of excitatory amino acid induced changes in extracellular calcium concentration in rat hippocampal slices. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* im Druck.
- BECK, H., FICKER, E., HEINEMANN, U.* Properties of two potassium currents in acutely isolated juvenile rat dentate gyrus cells. *J. Neurophysiol.* im Druck.
- LAMBERT, J.D.C., HEINEMANN, U.* Ionic movements associated with the action of excitatory amino acids on pyramidal neurons in area CA1 of rat hippocampal slices. *Neuroscience*, im Druck.
- ZHANG, C.L., HEINEMANN, U.* Effects of the triazole derivative loreclezole (R72063) on stimulus induced ionic and field potential responses and on different patterns of epileptiform activity



- induced by low magnesium in rat temporal cortex slices. Naunyn Schhmiiedeberg's Arch. Pharmacol., im Druck
- ZHANG, C.L., HEINEMANN, U. Effects of the calcium antagonists nimodipine, nifedipine and flunarizine on epileptiform activity and stimulus induced changes in extracellular calcium concentration in rat temporal cortex slices. Epilepsy Res., im Druck.
- HEINEMANN, U., ZHANG, C.L., DREIER, J., STABEL, J., LUHMANN, H. Acute and focal epileptogenesis. J. Pathology and Pathophysiology, im Druck.
- LUHMANN, H.J., HEINEMANN, U. Influence of hypoxia on GABAergic inhibition in mature and developing rat neocortex. Brain Res. In press.
- KRAL, T., LUHMANN, H.J., MITTMANN, T., HEINEMANN, U. Role of NMDA receptors and voltage-activated calcium channels in an in vitro model of cerebral ischemia. in press.
- v. HAEBLER, D., STABEL, J., DRAGUHN, A., HEINEMANN, U. Morphological and electrophysiological properties of horizontal cells transiently appearing near the rat hippocampal fissure during ontogenesis. Exp. Brain Res., im Druck.
- HEINEMANN, U., ZHANG, C.L., EDER, C. Entorhinal cortex - hippocampal interactions in normal and epileptic temporal lobe. Hippocampus, in press.
- LESCHINGER, A., STABEL, J., IGELMUND, P., HEINEMANN, U. Pharmacological and electrographic properties of epileptiform activity induced by elevated  $K^+$  and lowered  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  concentration in rat hippocampal slices. Exp. Brain Res. In press.
- MITTMANN, T, LUHMANN, H.J., SCHMIDT-KASTNER, R., EYSEL, U.T., HEINEMANN, U. Lesion-induced transient suppression of inhibitory function in rat neocortex in vitro.
- ZHANG, C.L., DREIER, J.P., HEINEMANN, U. Low  $Mg^{2+}$  induced epileptiform activity in rat temporal cortex slices: a model for petit mal epilepsy in hippocampus and for partial epilepsy and pharmacoresistent status epilepticus in entorhinal cortex?



ist weitgehend ungeklärt, in welcher Weise sie an der Radikalbildung als Folge von Durchblutungsstörungen beteiligt sind bzw. in welchem Umfang sie dabei durch Radikale geschädigt werden, die durch EZ gebildet werden. Um die Rolle der AZ, und besonders die Wechselwirkung zwischen AZ und EZ aufzuklären, ist es notwendig, ein in vitro-Modell zur Hypoxie/Reoxygenierung mit AZ-Kulturen zu etablieren und zu charakterisieren (LDH, Lactat, Nukleotide, TBA-RS, Stressproteine; Morphologie; Zeitablauf der Veränderungen). Zur Aufklärung der Schädigungsvorgänge der BHS während Hypoxie/Reoxygenierung ist anschließend ein BHS-Modell aus kokultivierten EZ und AZ einer Hypoxie mit anschließender Reoxygenierung auszusetzen und zu charakterisieren. Ein Vergleich zu Modellen der Solokultivierung (EZ-, AZ-Kultur) bietet möglicherweise Aufschluß über protektive Effekte oder verstärkte Schädigung beider Zelltypen durch interzelluläre Wechselwirkungen. 3. Durch pharmakologische Interventionen (verschiedene Radikalfänger, Protektiva mit anderem Wirkungsmechanismus) von gegebenenfalls aufgefundenen Korrelationen sollen weitere Aufschlüsse zur Relevanz freier Radikale an Hypoxie-geschädigten Zellen der BHS ermöglichen.

#### *Methodenspektrum*

Radikalnachweis und -identifizierung werden vorzugsweise mit der Elektronenspinresonanz(ESR)-Spektroskopie (insbesondere Spintrap-Verfahren) vorgenommen, mit der langjährige Erfahrungen bei der Anwendung auf Pharmaka, Modellsysteme, Organellen, Zellen und Organe vorliegen. Methoden zur Isolierung, Kultivierung/Kokultivierung und Charakterisierung (biochemisch, immunzytochemisch, ultrastrukturell) von EZ und AZ sind etabliert, desgleichen Vitalitätstests, Erfassung von Zellzahl und -volumen. Ein in vitro-Modell zur Hypoxie/Reoxygenierung für EZ steht zur Verfügung und ist umfassend charakterisiert. Änderungen von BHS-Funktionen werden über elektrische Widerstandsmessung und Permeabilitätsuntersuchungen erfaßt. Die Analytik metabolischer Grundparameter mittels Photometrie bzw. HPLC steht routinemäßig zur Verfügung.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit Dr. Dirnagl, HUB gibt es eine Zusammenarbeit zu Fragen der Zellzucht und zum Radikalnachweis. Mit Dr. Rezka, MDC arbeiten wir bei der Bestimmung der Superoxiddismutaseaktivität als Bestandteil der endogenen Radikalabwehr bzw. als ein Stressprotein zusammen.

#### *Vorgesehene Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Der Radikalnachweis mittels Chemilumineszenz ist gemeinsam mit Dr. Dirnagl, HUB geplant. In Kooperation mit Dr. Rezka, MDC ist die Verwendung von Liposomen als Modell für eine intrazelluläre Radikalbildung vorgesehen. Zur weiteren Charakterisierung der Eigenschaften des Zellkulturmodells der BHS wird ebenfalls von Dr. Rezka die Permeation von Adhäsionsmolekülen bestimmt (z.B. CD 44, 54, 56).

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	2 Wissenschaftliche Assistentenstellen, 1 Doktorandenstelle,
Beantragte Investitionen:	DM 50.000,--
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):	DM 50.000,--



**Name des Antragsteller:** Helmut Kettenmann

**Adresse:** Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle Str. 10  
13122 Berlin-Buch

**Telefon:** 030 9406 3325

**Fax:** 030 9406 3819

**Thema:** Physiologische Eigenschaften glialer Tumore

### *Einführung in das Thema*

Unter den Tumoren des zentralen Nervensystems sind ungefähr 15 bis 20% Gliatumore, zu denen man die Form der Astrozytome und Oligodendrogliome rechnet. Glioblastome sind die bösartigsten Gliatumorvarianten und sind mit über 50% aller Gliome die häufigsten Gliatumore. Die postoperative 5-Jahresüberlebensrate liegt bei Patienten mit Glioblastomen unter 5%, und verschiedenste moderne Therapiekonzepte haben bisher noch keine Verbesserung erkennen lassen.

Die physiologischen Eigenschaften glialer Tumore sind weitgehend unbekannt. Unsere Untersuchungen an Gliazellen aus normalem Gewebe der letzten Jahre haben gezeigt, daß Gliazellen eine Vielzahl von Ionenkanälen und Rezeptoren für Neurotransmitter und Hormone exprimieren. Dieses Repertoire an Rezeptoren und Kanälen konnte auch erfolgreich herangezogen werden, um Gliazellen besser zu klassifizieren. Wir wissen z. B., daß die Entwicklung der Oligodendrozyten aus ihren Vorläufern von einer massiven Änderung im Ionenkanalmuster begleitet wird. Die Aktivierung von Rezeptoren bzw. Blockade von Kanälen verändert nicht nur die Membraneigenschaften der Gliazellen, sondern kann auch zentral zellbiologische Eigenschaften wie die Proliferationsrate steuern. Eine Blockade der Proliferation wurde zum Beispiel nach Aktivierung von Glutamaterezeptoren bei Astrozyten beobachtet. Wir hoffen nun, über eine Beeinflussung der Membraneigenschaften die Malignität der Tumorzellen zu verändern.

### *Forschungsplan*

In diesem Forschungsprojekt verfolgen wir zwei thematische Ansätze:

1. Wir wollen durch eine physiologische Charakterisierung verschiedener Hirntumore diese besser klassifizieren. Diese Klassifizierung soll mit der Malignität des Tumors korreliert werden. Wir könnten uns z. B. vorstellen, daß eine hohe Malignität mit der Expression eines definierten Musters an Kanälen und Rezeptoren korreliert. Dies ist nicht unwahrscheinlich, denn die Membraneigenschaften haben einen großen Einfluss auf grundlegende zelluläre Eigenschaften.
2. Wir hoffen, Membranstrukturen zu finden (Rezeptoren, Kanäle) deren Aktivierung bzw. Blockade die Eigenschaften der Gliomzellen verändert.

Die Gliomzellen sollen sowohl in akuten Hirnschnitten als auch in Zellkulturen untersucht werden. In Zusammenarbeit mit Neurochirurgen in Berlin-Buch und an der Freien Universität arbeiten wir mit Zellen aus operativ entferntem Hirngewebe. Das Gewebe wird direkt nach der Entfernung in



120-150 um dicke Schnitte geteilt oder zum Anlegen von Gewebekulturen dissoziiert. Die Hirnschnitte werden so schnell wie möglich im MDC physiologisch charakterisiert. Mit der Patch-Clamp Technik können wir die Spannungs- und Liganden-gesteuerten Ionenkanäle charakterisieren. Zytosolische  $Ca^{++}$ -Änderungen, ausgelöst durch Liganden, dienen uns dazu, metabotrope Rezeptoren nachzuweisen und zu charakterisieren. Die gewonnenen Daten können an den kultivierten Zellen verifiziert werden. Wir können nun überprüfen, ob sich die Eigenschaften der Zellen unter den definierten Kulturbedingungen ändern. In der Kultur können wir zudem die Proliferations- und Migrationsrate der Zellen bestimmen und analysieren, ob sich diese für die Malignität wichtigen Eigenschaften beeinflussen läßt.

Diese Befunde sollen uns helfen, Ansätze zu entwickeln, die die Eigenschaften dieser Gliazellen durch Aktivierung der Rezeptoren verändern. Perspektivisch können wir uns vorstellen, daß wir dadurch die Eigenschaften von Gliomzellen modellieren können und damit unter Umständen langfristig therapeutische Ansätze entwickeln könnten.

#### *Methodenspektrum*

Als Methoden zur Charakterisierung der Gliatumore planen wir in einem ersten Schritt physiologische Methoden einzusetzen. Dies umfasst die Messung von Membranströmen mit der Patch-Clamp Technik und die Charakterisierung von Ionenströmen mit bildgebenden Verfahren, inklusive Messungen mit dem konfokalen Mikroskop. Die Zellen werden nach physiologische Charakterisierung mit immunzytochemischen und ultrastrukturellen Methoden charakterisiert. Alle Methoden sind etabliert.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Im Rahmen einer derzeit auslaufenden Förderung durch die Volkswagenstiftung haben wir mit Dr. A. Reichenbach und Dr. W. Reichelt die physiologischen Eigenschaften von Müllerzellen aus einem Frischpräparat der Retina untersucht. Die erste Publikation aus dieser Kollaboration ist im Druck. In Zusammenarbeit mit R. Reszka charakterisieren wir Gliom-Zelllinien mit immunzytochemischen Methoden.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

In Diskussionen mit den Antragstellern aus der Neurologie erhoffen wir uns Hilfestellungen zu klinisch relevanten Aspekten, die sich aus der Untersuchung mit den Gliomzellen ergeben. In Zusammenarbeit mit Martin Paul planen wir molekularbiologische Techniken einzusetzen.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:

1 Wissenschaftliche Assistentenstelle,

1 Doktorandenstelle,

1 technische Assistentenstelle

Beantragte Investitionen:

DM 40.000.--

Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):

DM 35.000.--



*Originalarbeiten 1992/1993*

Berger, T., W. Walz, J. Schnitzer and H. Kettenmann (1992) GABA and glutamate activate currents in glial cells of the corpus callosum slice, *J. Neurosci. Res.*, 31:21-27.

Blankenfeld, G., A. N. Verkhratsky, and H. Kettenmann (1992) Calcium channels in the oligodendrocyte lineage, *Eur. J. Neurosci.*, 4:1035-1048.

Bocchini, V., R. Mazzolla, R. Barluzzi, E. Blasi P. Sick and H. Kettenmann (1992) An immortalized cell line expresses properties of activated microglial cells, *J. Neurosci. Res.*, 31:616-621.

Gimpl, G., W. Walz, C. Ohlemeyer and H. Kettenmann (1992) Bradykinin receptors in cultured astrocytes from neonatal rat brain are linked to physiological responses, *Neurosci. Lett.*, 144:139-142.

Kirchhoff, F. and H. Kettenmann, (1992) GABA triggers a  $[Ca^{2+}]_i$  increase in murine precursor cells of the oligodendrocyte lineage, *Eur. J. Neurosci.*, 4:1049-1058.

Kirchhoff, F., C. Ohlemeyer and H. Kettenmann (1992) Fast perfusion system for single cell physiology optimized for microscopes with water immersion objectives, *Pflügers Arch.*, 420:573-577.

Müller, T., T. Möller, T. Berger, J. Schnitzer, H. Kettenmann (1992) Calcium entry through kainate receptors and resulting potassium-channel blockade in Bergmann glial cells, *Science*, 256:1563-1566.

Steinhäuser, C., T. Berger, M. Frotscher and H. Kettenmann (1992) Heterogeneity in the membrane current pattern of identified glial cells in the hippocampal slice, *Eur. J. Neurosci.*, 4:472-484.

Blankenfeld, G. von, B. R. Ransom and H. Kettenmann (1993) Development of cell-cell coupling among cells of the oligodendrocyte lineage, *Glia*, 7:322-328.

Gimpl, G., F. Kirchhoff, R. E. Lang and H. Kettenmann (1993) Identification of neuropeptide Y receptors in cultured astrocytes from neonatal rat brain, *J. Neurosci. Res.*, 34:198-205.

Kettenmann, H., R. Banati and W. Walz (1993) Electrophysiological behavior of microglia, *Glia*, 7:93-101

Kleingoor, C., H. Wieland, E. R. Korpi, P. H. Seeburg and H. Kettenmann (1993) Current potentiation by diazepam but not GABA sensitivity is determined by a single histidine residue, *Neuroreport*, 4:187-190.



Korpi, E. R., C. Kleingoor, H. Kettenmann and P. H. Seeburg (1993) Benzodiazepine-induced motor impairment linked to point mutation in cerebellar GABA<sub>A</sub> receptor, *Nature* 361:356-359.

Brockhaus, J., S. Ilschner, R. Banati and H. Kettenmann (1993) Membrane properties of amoeboid microglial cells in the mouse cortical slice, *J. Neurosci.*, im Druck.

Hoppe, D. and H. Kettenmann (1993) Divalent cations affect the activation parameters and quench the pH-sensitivity of K<sup>+</sup> currents in cultured mouse Schwann cells, *Brain Res.*, im Druck.

Müller, T., Fritschy, J. M., Grosche, J., Möhler, H., H. Kettenmann, (1993) Developmental changes in the membrane current pattern and the expression of GABA<sub>A</sub> receptors on Bergmann glial cells in cerebellar slices, *J. Neurosci.*, im Druck.

Müller, T. J. Grosche, C. Ohlemeyer and H. Kettenmann (1993) NMDA activated currents in Bergmann glial cells from the mouse cerebellar slice hint to a distinct NMDA receptor, *Neuroreport*, im Druck.

Reichelt, W., T. Müller, A. Pastor, T. Pannicke, P. M. Orkand, H. Kettenmann and Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig, *Neuroscience*, im Druck.

Steinhäuser, C., R. Jabs and H. Kettenmann (1993) L- Glutamate induced inward currents are covered by a simultaneous block of voltage dependent potassium currents in identified hippocampal glial cells of mice, *Hippocampus*, im Druck.

Walz, W., S. Ilschner, C. Ohlemeyer, R. Banati and H. Kettenmann (1993) Extracellular ATP activates a cation conductance in cultured microglial cells, *J. Neurosci.*, im Druck.



**Name der Antragsteller:** Andrea Lippoldt  
Detlev Ganten

**Adresse:** Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

**Telefon:** 030 9406 2513 / 030 9406 3278

**Fax:** 030 949 4161 / 030 949 7008

**Thema:** Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems für  
degenerative und regenerative Prozesse im Gehirn:  
Focus auf gliale-neuronale Interaktionen

#### *Einführung in das Thema*

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre untermauern die Existenz eines lokalen Renin-Angiotensin-Systems (RAS) im Gehirn. Es konnte gezeigt werden, daß das Angiotensinogen Gen nicht nur in Hirnregionen exprimiert wird, die verantwortlich sind für die kardiovaskuläre Kontrolle. Dies führte zu der Schlußfolgerung, daß Angiotensinogen und/oder Angiotensin II zentralnervöse Funktionen haben könnten. Es wurde nachgewiesen, daß Angiotensin II die Ausschüttung verschiedener Neurotransmitter und Peptide wie Vasopressin und Dopamin im Gehirn stimulieren kann und daß Angiotensin II selbst Neurotransmitterfunktionen hat. Von besonderem Interesse sind Studien, die zeigten, daß Angiotensin II trophische Wirkungen im Zentralnervensystem ausüben kann. So wurde beschrieben, daß Angiotensin II in der Lage war, die Expression und Sekretion von "nerve growth factor" (NGF) in Gefäßmuskelzellen, die mit sympathischen Neuronen kokultiviert wurden, zu induzieren. Desweiteren war Angiotensin II in der Lage in kultivierten Neuronen des Rückenmarkes das Auswachsen der Nephriten zu stimulieren. In der Peripherie ist Angiotensin II eindeutig charakterisiert als ein Modulator des Wachstums von Muskelzellen und Fibrozyten des Gefäßsystems.

Das zentral sezernierte Angiotensin II könnte also verantwortlich sein für die Induktion von neuronalem Wachstum. Aus histochemischen Untersuchungen ist weiterhin bekannt, daß nach bestimmten Verletzungsreizen im Gehirn vermehrt



Astrozyten auftreten. Da diese Zellen in der Lage sind Angiotensinogen zu exprimieren, ist es möglich, daß Angiotensinogen und/oder Angiotensin II bei diesen regenerativen Prozessen mitwirken. Erste von uns durchgeführte Untersuchungen haben gezeigt, daß Angiotensin II wie auch Angiotensin (1-7) in Veränderungen der Plastizität im Gehirn beteiligt sein könnte. Nach mechanischen Läsionen der Cerebellaren Cortex wurde ein starker Anstieg in der Angiotensinogen Gen Expression wie auch der Angiotensin II und Angiotensin (1-7) Immunreaktivität in Gliazellpopulationen beobachtet. Angiotensinogen-Immunreaktivität wurde desweiteren in Purkinje Zellen nahe dem Ort der Läsion wie auch in der molekularen Schicht in vermutlich degenerierenden Purkinjezellendriten, die ebenfalls Angiotensin II immunoreaktiv wurden, beobachtet.

#### *Forschungsplan*

Der Antrag hat das Ziel, die Rolle von Angiotensin II im Gehirn bei regenerativen Prozessen nach spezifischen Noxen zu untersuchen. Die Untersuchungen werden in Regionen durchgeführt, die Heterogenität bzgl. der Expression der Komponenten des Renin-Angiotensin-Systems zeigen (Thalamus) sowie in Regionen, in denen alle Komponenten gleichzeitig auftreten (Hypothalamus, Cerebellum). Zu diesem Zweck werden ischämische, zytotoxische und mechanische Reize in den genannten Regionen gesetzt.

Im speziellen werden dann folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Einfluß von Angiotensin II auf die Expression von Wachstumsfaktoren
2. Einfluß von Angiotensin II auf die Modulation von regenerativen Prozessen der Neurone und Glia-Zellen nach bestimmten Noxen.

3. Pharmakologische Untersuchungen bzgl. der Antwort nach Angiotensin II Rezeptor-Blockade und Blockade des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE).

Damit werden folgende thematische Ansätze bearbeitet:

- a) Wir wollen untersuchen, wie die verschiedenen Angiotensin-Rezeptoren die mRNA und Proteine verschiedener Wachstumsfaktoren wie bFGF (basic fibroblast growth factor), NGF und PDGF (platelet derived growth factor) modulieren können.
- b) Wir wollen in den von uns untersuchten Modellen Angiotensin II, Angiotensin III und andere Angiotensinfragmente sowie Angiotensinogen infundieren und die Auswirkungen dieser Interventionen auf die Expression der Wachstumsfaktoren untersuchen.



Diese Experimente sollen auch in Gegenwart der spezifischen Blocker für die Angiotensin-Rezeptoren sowie von ACE-Hemmern durchgeführt werden. Die erhaltenen Ergebnisse werden mit dem Energiemetabolismus und dem lokalen Blutfluß im Gehirn korreliert.

Wir hoffen, auf diese Weise neue Einblicke in die Rolle von Angiotensin-Peptiden und ihrer Rezeptoren bei Regenerationsprozessen im Gehirn zu erhalten. Wir erwarten Erkenntnisse hinsichtlich möglicher Funktionen des Gehirn-RAS bei trophischen Vorgängen im Sinne von Neuroplastizitäten.

#### *Methodenspektrum*

Methodisch stehen Techniken zur Untersuchung der Genexpression und des Proteinnachweises zur Verfügung. Dies umfaßt insbesondere den Nachweis von mRNA in Gewebeschnitten mit Hilfe radioaktiver in situ-Hybridisierung sowie deren Lokalisierung in den entsprechenden Zelltypen unter Anwendung nicht-radioaktiver in situ-Hybridisierungstechniken. Desweiteren werden Methoden zum immunhistochemischen Nachweis der entsprechenden Proteine angewendet. Die Techniken zur Messung des lokalen Blutflusses im Gehirn sowie zur Bestimmung des Energiemetabolismus sind im Labor von Prof. Kjell Fuxe (Karolinska Institute, Dept. of Neuroscience, Div. of Cellular and Molecular Neurochemistry, Stockholm, Schweden) etabliert und werden dort durchgeführt..

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Im Rahmen der derzeit laufenden Projekte besteht eine Kooperation mit Dr. Martin Paul zur Charakterisierung des Gehirn RAS mit molekularbiologischen Methoden.

#### *Geplante Kooperation mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Wir planen eine weitere Zusammenarbeit mit Dr. Martin Paul bezüglich der Korrelation der Erkenntnisse aus deren Untersuchungen über die Expression des Endothelins im Gehirn mit den von uns gewonnenen Erkenntnissen. Es soll damit ein Einblick in das komplexe Zusammenwirken dieser Faktoren in der Blutdruckregulation und in ischämischen Prozessen erreicht werden. Mit Dr. Helmut Kettenmann werden in vitro Glia-Untersuchungen bezüglich der Angiotensin-Rezeptoren geplant.



Alle Untersuchungen werden in enger Zusammenarbeit mit Prof. Kjell Fuxe (Karolinska Institute) und Prof. Detlev Ganten (MDC) auf der Basis einer bereits langjährigen Kooperation auf dem Gebiet des Gehirn-RAS durchgeführt.

**Finanzrahmen**

Beantragte Stellen:

1 Doktorandenstelle (BAT IIa/2)

1 technische Assistentenstelle (BAT V)

Beantragte Investitionen:

DM 30 000,-

Beantragte Sach- und Reisemittel (proJahr):

DM 50 000,-

dependent and global increase in expression of basic fibroblast growth factor mRNA  
Exp. Brain Res., in press

B. Müller, A. Lippold, B. Bunemann, T. Dragani, D. Ganten, K. Fuxe (1993)  
Cellular expression of angiotensin type-1 (AT<sub>1</sub>) receptor mRNA in the kidney.  
Kidney International, in press

C. Harpel, A. Lippold, I. Sotomberg, M. Bydenas, J. Wagner, U. Hilgenfeldt, D. Ganten, L. Olson, Human angiotensinogen is highly expressed in human corneal grafts. OHS, submitted.

C. Harpel, A. Lippold, G. Chadi, D. Ganten, L. Olson, K. Fuxe (1993) Fast and widespread increase of basic fibroblast growth factor (bFGF) messenger RNA and protein after kainic acid-induced seizures. Neuroscience, in press.

A. Lippold, B. Bunemann, A. Ueki, L. Rosen, A. Chira, H. Hasselrot, R. Metzger, G. Hilgenfeldt, B. Bromberg, D. Ganten, K. Fuxe, On the plasticity of the renin-angiotensin-system: Localization of components and effects of ischemic and mechanical perturbations. Exp. Brain Res., submitted.

C. Harpel, G. Chadi, A. Lippold, D. Ganten, K. Fuxe, L. Olson (1993) Increase of basic fibroblast growth factor (bFGF, PCP-2) messenger RNA and protein following implantation of a microdialysis probe into rat hippocampus. Exp. Brain Res., accepted.



- A. Lippoldt, B. Bunnemann, N. Iwai, R. Metzger, T. Inagami, K. Fuxe, D. Ganten (1993) Cellular localization of angiotensin type 1 receptor and angiotensinogen mRNA in the subfornical organ of the rat brain, *Neurosci. Lett.* 150, 153-158.
- B. Bunnemann, A. Lippoldt, J. A. Aguirre, A. Cintra, R. Metzger (1993) Glucocorticoid regulation of angiotensinogen gene expression in discrete areas of the male rat brain, *Neuroendocrinology* 57, 856-862.
- A. Lippoldt, B. Andbjør, L. Rosen, E. Richter, D. Ganten, Y. Cao, R.F. Petterson, K. Fuxe (1993) Photochemically induced focal cerebral ischemia in the rat: Time dependent and global increase in expression of basic fibroblast growth factor mRNA, *Exp. Brain Res.*, in press.
- B. Meister, A. Lippoldt, B. Bunnemann, T. Inagami, D. Ganten, K. Fuxe (1993) Cellular expression of angiotensin type-1 (AT1) receptor mRNA in the kidney, *Kidney International*, in press.
- C. Humpel, A. Lippoldt, I. Strömberg, M. Bygdeman, J. Wagner, U. Hilgenfeldt, D. Ganten, L. Olson, Human angiotensinogen is highly expressed in human cortical grafts, *Glia*, submitted.
- C. Humpel, A. Lippoldt, G. Chadi, D. Ganten, L. Olson, K. Fuxe (1993) Fast and widespread increase of basic fibroblast growth factor (bFGF) messenger RNA and protein after kainic acid-induced seizures, *Neuroscience*, in press.
- A. Lippoldt, B. Bunnemann, A. Ueki, L. Rosen, A. Cintra, U. Hasselrot, R. Metzger, U. Hilgenfeldt, B. Brosnihan, D. Ganten, K. Fuxe, On the plasticity of the cerebellar Renin-Angiotensin-System: Localization of components and effects of ischemic and mechanical perturbation, *Exp. Brain Res.*, submitted.
- C. Humpel, G. Chadi, A. Lippoldt, D. Ganten, K. Fuxe, L. Olson (1993) Increase of basic fibroblast growth factor (bFGF, FGF-2) messenger RNA and protein following implantation of a microdialysis probe into rat hippocampus, *Exp. Brain Res.*, accepted.



*Name des Antragstellers:* Wilfried W. Naumann

*Adresse:* Fachbereich Biowissenschaften  
der Universität Leipzig, Zoologie I  
Talstraße 33  
04103 Leipzig

*Telefon:* (0341) 7165 355

*FAX:* (0341) 29 59 39

*Thema:* Gliasekretorische Prozesse und Neuromorphogenese

### *Einführung in das Thema*

Nervensysteme bestehen aus Neuronen und Gliazellen. Vorstellungen zum phylogenetischen und ontogenetischen Ursprung der Gliazellen von Chordaten werden u.a. im Zusammenhang mit radial orientierten Stützzellen bzw. radialen Gliazellen diskutiert.

Es konnte von uns in den letzten Jahren dokumentiert werden, daß in der frühen Ontogenese des Nervensystems von Vertebraten eine radial orientierte, sekretorisch aktive Gliazellpopulation auftritt. Sie produziert ein komplexes Glycoprotein mit bislang unbekannter Molekularstruktur. Dieses Glycoprotein wird in das extrazelluläre Spaltraumsystem des Nervensystems freigesetzt und hier zum Bestandteil der extrazellulären Matrix (ECM). Mit Hilfe eines ELISA-Systems konnte die Löslichkeit im Liquor cerebrospinalis nachgewiesen werden. Immunhistochemische Untersuchungen mit Hilfe von Antikörpern gegen das gliäre Glycoprotein zeigen:

- daß sich einheitlich bei allen Vertebraten radial orientierte Gliazellen in Korrelation mit dem Differenzierungsgeschehen des Nervensystems nachweisen lassen,
- daß in ursprünglichen, epithelial organisierten Nervensystemen der Echinodermaten die radialen Stützzellen sekretorisch aktive Gliazellen darstellen,
- daß auch im komplexen Nervensystem von Insekten während der embryonalen Differenzierung sekretorisch aktive Gliazellen immunocytochemisch markiert werden können.

Der immunocytochemische Nachweis eines Glycoproteins in Gliazellen des ektoneuralen Nervensystems der Echinodermaten und in Gliazellen der Vertebraten weist diese Zellen als einen ursprünglichen Gliatyp mit einem gemeinsamen phylogenetischen Ursprung aus, unabhängig von ihrer morphogenetischen Ausprägung. Während der Embryogenese des Nervensystems korreliert das Auftreten dieses offensichtlich phylogenetisch alten Musters bei Vertebraten und Invertebraten mit Differenzierungsvorgängen. Im ausdifferenzierten Gehirn der Vertebraten



bilden diese Zellen einen organartigen, sekretorisch aktiven Gliakomplex.

Das hohe phylogenetische Alter und das streng konservative Verhalten dieser Gliazellen innerhalb der Chordaten, einschließlich des Menschen, weisen auf eine grundsätzliche Bedeutung hin. Da die ECM im Nervensystem eine hochkomplexe Umwelt für Neuronen und Gliazellen darstellt und eine bedeutende Rolle bei Entwicklungs- und Differenzierungsprozessen, bei der Regulation der Genexpression sowie bei der Aufrechterhaltung der funktionell-morphologischen Homöostase spielt, könnte die Abgabe des gliären Glycoproteins in die ECM in einem solchen Zusammenhang gesehen werden.

Nach Ausfall dieses Gliasystems während der Entwicklungsphase konnten bei verschiedenen Vertebraten Störungen in der Ausbildung der Achsenorgane bzw. ein Hydrocephalus internus nachgewiesen werden. Bei experimenteller Ausschaltung während der frühen Embryonalentwicklung entsteht beim Hühnchen aus potenten Zellen kompensatorisch ein neuer sekretorischer Gliakomplex caudal im Mesencephalon. Parallel hierzu wird eine zeitliche Verschiebung des Differenzierungsgeschehens im Cerebellum beobachtet.

### *Forschungsplan*

Es soll langfristig geklärt werden, über welche zellulären Mechanismen das gliäre Glycoprotein morphogenetische Prozesse des Nervensystems beeinflusst. Hierbei sollen folgende Komplexe bearbeitet werden:

1. Histologische, cytochemische, immuncytochemische, molekularbiologische (in situ Hybridisierung) und elektrophysiologische Charakterisierung der sekretorischen Gliazellpopulation und deren Verteilung und Aktivität in embryonalen und ausdifferenzierten Nervensystemen.
2. Molekulare Charakterisierung des Glycoproteins (monoklonale Antikörper, Lectinbindung, Trennverfahren, cDNA, Sequenzanalyse).
3. In vitro-Untersuchungen über den Einfluß des Glycoproteins auf Neuronen- und Gliazellpopulationen, Analyse der Bindungseigenschaften, in vivo-Entwicklungsmodelle.

Die Ergebnisse sollen einen Beitrag zum funktionellen Verständnis einer phylogenetisch ursprünglichen, sekretorisch aktiven Glia leisten. An dieses konservative Gliasystem scheinen sich basale Funktionen der Differenzierung komplexer Nervensysteme zu knüpfen. Zur Interpretation dieses Systems erscheint uns neben einer Charakterisierung der Gliazellen eine Aufklärung der molekularen Eigenschaften des Glycoproteins sowie die Etablierung von in vivo- und in vitro- Modellen für experimentelle Studien notwendig.



### *Methodenspektrum*

Zur morphologischen Charakterisierung der Gliazellen sind alle histologischen Verfahren einschließlich diverser polyklonaler und monoklonaler Antikörper etabliert.

Die molekulare Charakterisierung soll ELISA-Techniken, Lectinbindungsstudien, Trennverfahren mit Elektrophorese und HPLC sowie cDNA und Sequenzanalyse umfassen. Es liegen basale Erfahrungen über den Umgang mit den außergewöhnlichen Eigenschaften dieses Glioglycoproteins vor.

Auch für in vitro-Untersuchungen an embryonalen Hirnzellen unter dem Einfluß des Glycoproteins sowie für in vivo-Experimente am Hühnchen liegen Erfahrungen und erste Untersuchungsergebnisse vor.

Für alle Methoden ist eine Aufstockung der technischen Ausstattung erforderlich. Aufwendige analytische Verfahren sollen mit Hilfe von Kooperationspartnern gelöst werden.

### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFBs*

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFBs*

Dr.G.Brückner, Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung der Universität Leipzig

Doz.Dr.A.Reichenbach, Carl-Ludwig-Institut für Physiologie der Universität Leipzig

### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	1 Doktorandenstelle 1 technische Assistentenstelle
Beantragte Investitionen:	195.000,00 DM
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr)	25.000,00 DM

### *Originalarbeiten 1993*

Naumann, W., W. Lehmann and P. Debbage (1993) The subcommissural organ and ontogenetic development of the brain. In: The Subcommissural Organ, An Ependymal Brain Gland, Eds.: A. Oksche, E.M. Rodriguez, P. Fernández-Lebrez, Springer Verlag 1993, p.61-69.

Lehmann, W. and G. Sterba (1993) The Subcommissural Organ In Vitro. In: The Subcommissural Organ, An Ependymal Brain Gland, Eds.: A. Oksche, E.M. Rodriguez, P. Fernández-Lebrez, Springer Verlag 1993, p. 133-140.

Lehmann, W., W. Naumann and U. Wagner (1993) Tissue culture of the bovine subcommissural organ. Anat. Embryol. 187: 505-514.



Debbage, P., W. Lehmann, U. K. Hanisch and W. Naumann (1993) Immunological cross-reactivities between proteins secreted by the subcommissural organ and plant lectins. *Acta histochem.* 94: 132-140.

Viehweg, J. and W. Naumann (1993) Postnatal development of subcommissural cells in the rat mesencephalic aqueduct. *Anat. Embryol.*, eingereicht.

## Thema

## Die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen Veränderungen nach entorhinaler Läsion

### Einführung in das Thema

Der entorhinale Cortex ist die zentrale "Relaisstation" für die Signalweiterleitung kortikaler Information in die für Gedächtnisleistungen wichtige Hippocampusformation. Pathologische Prozesse im entorhinalen Cortex, wie sie im Verlauf neurodegenerativer Erkrankungen wie der M. Alzheimer und die Parkinson-Demenz auftreten, führen deshalb zu einer partiellen Deafferenzierung des Hippocampus. Nach experimenteller entorhinaler Läsion kommt es zu einer tiefgreifenden Reorganisation des Dendritenbaumes hippocampaler Neurone in der dorsalen Zone. Elektrophysiologische Untersuchungen weisen auf eine gravierende Veränderung in der hippocampalen Signalweiterleitung hin. Eine Aktivierung hippocampaler Gliazellen nach entorhinaler Läsion ist wiederholt beschrieben worden. Unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen legen die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen Veränderungen nahe. Immunzytochemische Untersuchungen und *in situ*-Hybridisierungsstudien haben Hinweise dafür ergeben, daß "early genes" nicht nur in hippocampalen Neuronen sondern auch in Gliazellen postläsional aktiviert werden. Dabei scheinen transneuronale Veränderungen sowie die Aktivierung von "early genes" sowohl in Neuronen als auch in Gliazellen transmitterabhängig vermittelt zu sein, da sie sich durch NMDA-Rezeptorantagonisten wie MK-801 blockieren lassen.

Die geplanten Untersuchungen sollen (I.) im Läsionsexperiment und (II.) am *in vitro* System des entorhinalen-hippocampalen Komplexschnittkultur adult-männlicher Ratten die Beteiligung von Gliazellen an den molekularen und zellulären Vorgängen analysieren, die im entorhinalen Hippocampus stattfinden. Dabei hoffen wir, perspektivisch Strategien entwickeln zu können, die es ermöglichen, in diese Prozesse einzugreifen.

### Forschungsplan

(I.) Läsionsexperimente: Die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen Veränderungen nach experimenteller entorhinaler Läsion soll zunächst in kombinierten I.A.S./EM-Studien unter Einsatz von Doppelmarkierungen untersucht werden. Hierbei sollen gliazellenspezifische Marker und immunzytochemische sowie intrazelluläre Färbungen hippocampaler Neurone eingesetzt werden. Daran anschließend soll der Einfluß von z.B. Rezeptorantagonisten auf die Beteiligung von Gliazellen an solchen Veränderungen analysiert werden. (II.) Komplexschnittkultur: In der ersten Phase des Projektes soll das Komplexschnittpräparat genauer charakterisiert werden. Im Gegensatz zu den



**Name des Antragstellers:** Robert Nitsch  
**Adresse:** z. Zt.: Zentrum der Morphologie der Uniklinik Frankfurt  
Theodor-Stern-Kai 7  
60590 Frankfurt am Main  
**Telefon:** 069 6301 6916  
**Fax:** 069 6301 6425  
**Thema:** Die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen  
Veränderungen nach entorhinaler Läsion

#### *Einführung in das Thema*

Der entorhinale Cortex ist die zentrale "Relaisstation" für die Signalweiterleitung isocortikaler Information in die für Gedächtnisleistungen wichtige Hippocampusformation. Pathologische Prozesse im entorhinalen Cortex, wie sie im Verlauf neurodegenerativer Erkrankungen wie der M. Alzheimer und die Parkinson-Demenz auftreten, führen deshalb zu einer partiellen Deafferenzierung des Hippocampus. Nach experimenteller entorhinaler Läsion kommt es zu einer bleibenden Rarifizierung des Dendritenbaumes hippocampaler Neurone in der denervierten Zone. Elektrophysiologische Untersuchungen weisen auf eine gravierende Veränderung in der hippocampalen Signalweiterleitung hin. Eine Aktivierung hippocampaler Gliazellen nach entorhinaler Läsion ist wiederholt beschrieben worden. Unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen legen die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen Veränderungen nahe. Immunzytochemische Untersuchungen und in situ-Hybridisierungsstudien haben Hinweise dafür ergeben, daß "early genes" nicht nur in hippocampalen Neuronen sondern auch in Gliazellen postläsional aktiviert werden. Dabei scheinen transneuronalen Veränderungen sowie die Aktivierung von "early genes" sowohl in Neuronen als auch in Gliazellen transmitterabhängig vermittelt zu sein, da sie sich durch NMDA-Rezeptorantagonisten wie MK-801 blocken lassen.

Die geplanten Untersuchungen sollen (I.) im Läsionsexperiment und (II.) am *in-vitro* System der entorhinalen-hippocampalen Komplexschnittkultur adoleszenter Ratten die Beteiligung von Gliazellen an den molekularen und zellulären Vorgänge analysieren, die im deafferenzierten Hippocampus stattfinden. Dabei hoffen wir, perspektivisch Strategien entwickeln zu können, die es ermöglichen, in diese Prozesse einzugreifen.

#### *Forschungsplan*

(I.) Läsionsexperimente: Die Beteiligung von Gliazellen an transneuronalen Veränderungen nach experimenteller entorhinaler Läsion soll zunächst in kombinierten LM/EM-Studien unter Einsatz von Doppelmarkierungen untersucht werden. Hierbei sollen gliaspezifische Marker und immunzytochemische sowie intrazelluläre Färbungen hippocampaler Neurone eingesetzt werden. Daran anschließend soll der Einfluß von z.B. Rezeptorantagonisten auf die Beteiligung von Gliazellen an solchen Veränderungen analysiert werden. (II.) Komplexschnittkultur. In der ersten Phase des Projektes soll das Komplexschnittpräparat genauer charakterisiert werden. Im Gegensatz zu den



üblicherweise angelegten Schnittkulturen von sehr jungen Tieren (p 2-7), ist die Kultivierung adoleszenten Gewebes vorgesehen, um Differenzierungsprozesse noch weitgehend *in-vivo* zum Abschluß kommen zu lassen. Erste Daten aus meinem Labor zeigen, daß eine solche Kultivierung adoleszenter Komplexpräparate von entorhinalem Cortex und Hippocampus mit der "interface technique" über einen Zeitraum von mindestens drei Wochen gelingt und daß nach dieser Zeit *in-vitro* sowohl die Ursprungsneurone der entorhinal-hippocampalen Projektion als auch deren Zielzellen typische morphologische und neurochemische Charakteristika aufweisen. Wir haben Untersuchungen zur Charakterisierung von Astrozyten und Mikrogliazellen während der Kultivierung begonnen. Dabei kommt es darauf an, den genauen Verlauf der explantationsbedingten primären Aktivierung von Gliazellen und eine längerfristige Reorganisation der Glia im Präparat zu beschreiben. Ausgehend von einer solchen Charakterisierung ist es nun vorstellbar, die Reaktion von Gliazellen auf definierte Läsionen und Noxen zu überprüfen und mittels Doppelmarkierungen jeweils mit den auftretenden neuronalen Veränderungen zu korrelieren. Hierbei ist sowohl an mechanische Läsionen gedacht als auch an die Gabe krankheitsspezifischer toxischer Substanzen.

#### *Methodenspektrum*

Stereotaktische Läsionen und die Kultivierung von Komplexslices werden in unserem Labor routinemäßig durchgeführt. Es sollen an diesen Präparaten zunächst die bei uns etablierten Techniken des Tracings, der kombinierten licht- und elektronenmikroskopischen Immunzytochemie, der *in situ*-Hybridisierung und der intrazellulären Injektion eingesetzt werden.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Zusammen mit Prof. Uwe Heinemann haben wir zeigen können, daß die Charakteristika der Feldpotentiale der Körnerzellen in der Fascia dentata nach entorhinaler Läsion auf Reizung in den verschiedenen Abschnitten der Molekularschicht permanent verändert bleiben. Diese Arbeit ist zur Publikation eingereicht.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit den am SFB beteiligten Physiologen erhoffen wir uns eine intensive Zusammenarbeit zur funktionellen Charakterisierung der Rolle von Gliazellen bei transneuronalen Veränderungen sowohl an akuten Slices nach Läsion als auch in der Komplexschnittkultur. Die methodische Erweiterung unserer Arbeiten, die Western- und Northernblottingtechniken sowie die PCR-Technik umfassen soll, sollte in enger Kooperation mit den am SFB beteiligten Molekularbiologen erarbeitet werden.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	1 Wissenschaftliche Mitarbeiterstelle (BAT IIa)
	1 Technische Assistentenstelle (BAT 5b/c)
Beantragte Investitionen:	DM 90.000
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):	DM 40.000



## Originalarbeiten 1992/1993

Frotscher, M., Nitsch, R., Linke, R. and Leranth, C.: Identification of neuronal connections by means of electron microscopic immunocytochemistry. **Arzneim.-Forsch./Drug Res.** **42**: 184-189, 1992

Nitsch, R., Bader, S, and Frotscher, M.: Reorganization of input synapses of parvalbumin-containing neurons in the rat fascia dentata following entorhinal lesion. **Neurosci. Lett.** **135**: 33-36, 1992

Leranth, C., Nitsch, R., Deller, T. and Frotscher, M.: Synaptic connections of seizure sensitive neurons in the dentate gyrus. In: **The dentate gyrus and its role in seizures.** pp. 49-63, Elsevier, Amsterdam, New York, 1992

Plaschke, M., Nitsch, R., Wenzel, J. and Frotscher, M.: Parvalbumin-containing nonpyramidal neurons in intracortical transplants of rat hippocampal and neocortical tissue: A light and electron microscopic immunocytochemical study. **J. Comp. Neurol.** **319**: 319-336, 1992

Nitsch, R. and Frotscher, M.: Reduction of posttraumatic transneuronal "early gene" activation and dendritic atrophy by the NMDA-receptor antagonist MK-801. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **89**: 5197-5200, 1992

Seress, L., Nitsch, R., and Leranth, C.: Calretinin immunoreactivity in the monkey hippocampal formation. I: Light and electron microscopic characteristics and colocalization with other calcium-binding proteins. **Neuroscience**: 775-796, 1993

Nitsch, R. and Leranth, C.: Calretinin immunoreactivity in the monkey hippocampal formation. II: Intrinsic GABAergic and Hypothalamic non-GABAergic systems. An experimental tracing and coexistence study. **Neuroscience**: 797-812

Nitsch, R. Transneuronal changes in the lesioned entorhinal-hippocampal system. **Hippocampus**, im Druck



Name des Antraggebers: Martin Paul

Nitsch, R. and Frotscher, M.: Transneuronal changes in dendrites of GABAergic parvalbumin containing neurons in the rat fascia dentata following entorhinal lesion. **Hippocampus**, im Druck

13123 Berlin-Buch

Telefon: 030 9488 593

Diekmann, S., Nitsch, R. and Ohm, T.G.: The organotypic entorhinal-hippocampal complex slice culture of adolescent rats. A model to study transcellular changes in a circuit particularly vulnerable in neurodegenerative disorders. **J. Neural Trans.**, im Druck

#### Einführung in das Thema

Das Zentralnervensystem spielt eine bedeutende Rolle für die Regulation kardiovaskulärer Mechanismen. Hieran sind neben den klassischen Neurotransmittern auch vasculäre Peptidhormone wie ANP, Angiotensin II und Endothelin als Neurotransmitter, Neuroendokrinen und Neurohormone beteiligt. Auch sind direkte Wechselwirkungen zwischen den Zellen des Gefäßsystems und Gehirnzellen, zum Beispiel in Regionen mit durchlässiger Blut-Hirn-Schranke, möglich. Der Familie der Endothelinpeptide (vor allem Endothelin-1 und Endothelin-3) kommt hierbei möglicherweise eine besondere Bedeutung zu, da die Endotheline und ihre Rezeptoren in den Endothelzellen der Gehirngefäße, aber auch in Gliazellen und neuronalen Strukturen beschriebbar wurden. Als vorwiegend autokrin-parakrin wirkende Substanzen könnten die Endotheline daher eine wichtige Rolle bei der zentralen Blutdruckregulation sowie bei ischämischen Prozessen im Zentralnervensystem spielen. Die zellulären und molekularen Grundlagen dieser Mechanismen sind jedoch nach wie vor unbekannt. Das Ziel dieses Antrags ist es daher, die Regulation der Endothelinpeptide sowie ihrer Rezeptoren in Endothelzellen, Gliazellen und neuronalen Strukturen zu untersuchen und die Mechanismen möglicher zell-zell Interaktionen bei physiologischen und pathophysiologischen (hypertonie, cerebrale ischämische) Situationen aufzuklären.

#### Forschungsplan

Das Forschungsprojekt gliedert sich in mehrere Schwerpunkte

1. Regulation der Endothelinpeptide in neuronalen und nicht-neuronalen Zellen: Bei diesem Projekt soll zunächst die Expression und Regulation der Endothelinpeptide (vor allem ET-1 und ET-3) in verschiedenen Zellpopulationen (Endothelzellen, Gliazellen, neuronale Zellen) des Gehirns untersucht werden. Hierbei werden vor allem mögliche parakrine (z.B. lokale Modulation von Endothelin durch andere Substanzen) sowie autokrine (Eigenaktivierung des Endothelins) Mechanismen untersucht werden. Es soll die Frage abgeklärt werden, inwieweit eine zell-spezifische Regulation vorliegen. In weiteren Experimenten wird die molekulare Grundlage der Regulation durch Untersuchung der cis/trans Interaktionen der Endothelinregulation beleuchtet. Ziel ist es, die relevanten Konsequenzen und daran bindenden Transkriptionsfaktoren zu identifizieren. Eine wichtige Rolle wird hierbei die Bewertung des Transkriptionsfaktors GATA-2 spielen, von dem bekannt ist, daß er die Endothelintranskription steuert.



**Name des Antragstellers:** Martin Paul

**Adresse:** Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Straße 10  
13122 Berlin-Buch

**Telefon:** 030 9488 593

**Fax:** 030 9488 510

**Thema:** Mechanismen der Endothelinregulation im Gehirn

### *Einführung in das Thema*

Das Zentralnervensystem spielt eine bedeutende Rolle für die Regulation kardiovaskulärer Mechanismen. Hieran sind neben den klassischen Neurotransmittern auch vasoaktive Peptidhormone wie ANF, Angiotensin II und Endothelin als Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Neurohormone beteiligt. Auch sind direkte Wechselwirkungen zwischen den Zellen des Gefäßsystems und Gehirnzellen, zum Beispiel in Regionen mit durchlässiger Blut-/Hirnschranke, möglich. Der Familie der Endothelinpeptide (vor allem Endothelin-1 und Endothelin-3) kommt hierbei möglicherweise eine besondere Bedeutung zu, da die Endotheline und ihre Rezeptoren in den Endothelzellen der Gehirngefäße, aber auch in Gliazellen und neuronalen Strukturen beschrieben wurden. Als vorwiegend autokrin-/parakrin wirkende Substanzen könnten die Endotheline daher eine wichtige Rolle bei der zentralen Blutdruckregulation sowie bei ischämischen Prozessen im Zentralnervensystem spielen. Die zellulären und molekularen Grundlagen dieser Mechanismen sind jedoch nach wie vor unbekannt. Das Ziel dieses Antrages ist es daher, die Regulation der Endothelinge und -peptide sowie ihrer Rezeptoren in Endothelzellen, Gliazellen und neuronalen Strukturen zu untersuchen und die Mechanismen möglicher zellulärer Interaktionen bei physiologischen und pathophysiologischen (Hypertonie, cerebrale Ischämie) Situationen aufzuklären.

### *Forschungsplan:*

Das Forschungsprojekt gliedert sich in mehrere Schwerpunkte.

1. Regulation der Endothelinpeptide in neuronalen und nichtneuronalen Zellen: Bei diesem Projekt soll zunächst die Expression und Regulation der Endothelinpeptide (vor allem ET-1 und ET-3) in verschiedenen Zellpopulationen (Endothelzellen, Gliazellen, neuronale Zellen) des Gehirns untersucht werden. Hierbei werden vor allem mögliche parakrine (z.B. lokale Modulation von Endothelin durch andere Substanzen) sowie autokrine (Eigenaktivierung des Endothelins) Mechanismen untersucht werden. Es soll die Frage abgeklärt werden, inwieweit eine zellspezifische Regulation vorliegen. In weiteren Experimenten wird die molekulare Grundlage der Regulation durch Untersuchung der cis-/trans Interaktionen der Endothelingebeleuchtung beleuchtet. Ziel ist es, die relevanten Gensequenzen und daran bindenden Transkriptionsfaktoren zu identifizieren. Eine wichtige Rolle wird hierbei die Bewertung des Transkriptionsfaktors GATAA-2 spielen, von dem bekannt ist, daß er die Endothelintranskription steuert.



üblicherweise angelegten Schnittkulturen von sehr jungen Tieren (p 2-7), ist die Kultivierung adoleszenten Gewebes vorgesehen, um Differenzierungsprozesse noch weitgehend *in-vivo* zum Abschluß kommen zu lassen. Erste Daten aus meinem Labor zeigen, daß eine solche Kultivierung adoleszenter Komplexpräparate von entorhinalem Cortex und Hippocampus mit der "interphasetechnique" über einen Zeitraum von mindestens drei Wochen gelingt und daß nach dieser Zeit *in-vitro* sowohl die Ursprungsneurone der entorhinal-hippocampalen Projektion als auch deren Zielzellen typische morphologische und neurochemische Charakteristika aufweisen. Wir haben Untersuchungen zur Charakterisierung von Astrozyten und Mikrogliazellen während der Kultivierung begonnen. Dabei kommt es darauf an, den genauen Verlauf der explantationsbedingten primären Aktivierung von Gliazellen und eine längerfristige Reorganisation der Glia im Präparat zu beschreiben. Ausgehend von einer solchen Charakterisierung ist es nun vorstellbar, die Reaktion von Gliazellen auf definierte Läsionen und Noxen zu überprüfen und mittels Doppelmarkierungen jeweils mit den auftretenden neuronalen Veränderungen zu korrelieren. Hierbei sind sowohl an mechanische Läsionen gedacht als auch an die Gabe krankheitsspezifischer toxischer Substanzen.

#### *Methodenspektrum*

Stereotaktische Läsionen und die Kultivierung von Komplexslices werden in unserem Labor routinemäßig durchgeführt. Es sollen an diesen Präparaten zunächst die bei uns etablierten Techniken des Tracings, der kombinierten licht- und elektronenmikroskopischen Immunzytochemie, der *in situ*-Hybridisierung und der intrazellulären Injektion eingesetzt werden.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Zusammen mit Prof. Uwe Heinemann haben wir zeigen können, daß die Charakteristika der Feldpotentiale der Körnerzellen in der Fascia dentata nach entorhinaler Läsion auf Reizung in den verschiedenen Abschnitten der Molekularschicht permanent verändert bleiben. Diese Arbeit ist zur Publikation eingereicht.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit den am SFB beteiligten Physiologen erhoffen wir uns eine intensive Zusammenarbeit zur funktionellen Charakterisierung der Rolle von Gliazellen bei transneuronalen Veränderungen sowohl an akuten Slices nach Läsion als auch in der Komplexschnittkultur. Die methodische Erweiterung unserer Arbeiten, die Western- und Northernblottingtechniken sowie die PCR-Technik umfassen soll, sollte in enger Kooperation mit den am SFB beteiligten Molekularbiologen erarbeitet werden.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	1 Wissenschaftliche Mitarbeiterstelle (BAT IIa)
	1 Technische Assistentenstelle (BAT 5b/c)
Beantragte Investitionen:	DM 90.000
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):	DM 40.000



2. Regulation der zellulären Antwort auf Endothelinstimulation in den Zellpopulationen: Hierbei steht zunächst die Untersuchung der Endothelinrezeptoren und ihrer Regulation im Vordergrund. Des weiteren soll versucht werden, die Endothelineffekte an den Zellen auf molekularer Ebene zu charakterisieren. Die wichtigsten Fragen sind hierbei (a) Welche Gene werden durch Endothelin stimuliert (Protoonkogene, Wachstumsfaktoren)? und (b) Gibt es eine differentielle, zellspezifische Regulation auf Rezeptorebene und bei den damit zusammenhängenden Koppelungsmechanismen.

3. Zelluläre Interaktionen: Letztlich soll die Frage geklärt werden, inwieweit es eine zelluläre Interaktionen zwischen den Endothelin-exprimierenden Zellen gibt? Hierzu werden Modelle der Kokultur entwickelt. Damit zusammenhängend soll die Frage beantwortet werden, wie das System in pathophysiologischen Situationen reguliert wird, z.B. bei Modellen der Ischämie oder Hypertonie. Hier können die Ergebnisse der Zellstudien auch auf das Ganztiermodell übertragen werden. Diese Befunde sollen zum Verständnis der Regulation und Funktion des Endothelinsystems im Gehirn beitragen.

#### *Methodenspektrum*

Es wird ein breites Spektrum molekular- und zellbiologischer Methoden eingesetzt. Dies umfaßt unter anderem Zellkultur, Charakterisierung und Transfektion von Zellen, mRNA Messungen, Reporterassays, Messung der cis-trans-Interaktionen (z.B. Gel-Retardation, DNA-Footprinting), sowie rekombinante DNA-Techniken. Alle Methoden sind in der Arbeitsgruppe etabliert.

#### *Derzeit laufende Kollaborationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Bisher besteht eine intensive Zusammenarbeit mit Andrea Lippold hinsichtlich des Mapping der Endothelinexpression im Gehirn und seiner Regulation, unter anderem bei von uns etablierten transgenen Ratten, die das humane Endothelin-2 Gen im Gehirn exprimieren.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Zur Etablierung der zellulären Modelle wird eine Zusammenarbeit mit Helmut Kettenmann und Michael Bader (Arbeitsgruppe Ganten) angestrebt. Zur Bewertung der zellulären Koppelungsmechanismen ist eine Kollaboration mit Helmut Kettenmann geplant. Für Studien in situ und Untersuchen an Tiermodellen ist eine Zusammenarbeit mit Andrea Lippold vorgesehen.

#### *Finanzrahmen:*

Beantragte Stellen:	1 Wissenschaftliche Assistentenstelle
	1 Doktorandenstelle
	1 technische Assistentenstelle
Beantragte Investitionen:	DM 30.000
Beantragte Sach- und Reisemittel (jährlich)	DM 40.000



12. Wagner, J., M. Paul, C. Haufe, S. Volk, D. Ganten, and E. Ritz. 1992. Renale Renin-mRNA-Expression bei Patienten mit Glomerulonephritis und Hypertonie. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 21/11:547-548.
13. Wagner, J., K. Zeh, and M. Paul. 1992. Transgenic rats in hypertension research. *J. Hypertens.* 10:601-605.
14. Zeh, K., J. Wagner, M. Bader, F. Zimmermann, M. Kaling, M. Paul, U. Hilgenfeldt, J.-B. Michel, K. Murakami, D. Ganten, and J.J. Mullins. 1992. Transgene Ratten mit humanem Renin oder Angiotensinogen-Gen. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 21/11:639-641.
15. Bader, M., M. Paul, and D. Ganten. 1993. Investigating the genetics of hypertension. *ACE Report* ACE Rep.99:6-10.
16. Lee, M.A., M. Böhm, M. Paul, and D. Ganten. 1993. Tissue renin-angiotensin systems: their role in cardiovascular disease. *Circulation* 87, suppl.IV:7-13.
17. Paul, M., M. Bader, U.M. Steckelings, T. Voigtländer, and D. Ganten. 1993. The Renin-Angiotensin System in the Brain: Localization and functional significance. *Arzneim. -Forsch. /Drug Res.* 43(1):207-213.
18. Paul, M., J. Wagner, and V.J. Dzau. 1993. Gene expression of the components of the renin-angiotensin system in human tissues: quantitative analysis by the polymerase chain reaction. *J. Clin. Invest.*
19. Bastide, B., L. Neyses, D. Ganten, M. Paul, K. Willeke, and O. Traub. 1993. The gap junction protein connexin40 is preferentially expressed in vascular endothelium as well as conductive bundles of rat myocardium and is increased under hypertensive conditions. *Circ. Res.* In press
20. Fernandez-Alfonso, M.S., I. Licka, P. van Even, P. Martorana, and M. Paul. 1993. Angiotensin converting enzyme gene expression is induced during neointima expression. *Pharmacol. Pharmaceu. Lett.* In press
21. Krieger, J.E., M. Paul, R.E. Pratt, W.M. Philbrick, K.W. Gross, and V.J. Dzau. cAMP stimulates secretion of prorenin via increased transcription of the renin gene in transfected cells. *Am. J. Physiol.* In press



**Name des Antragsteller:** Fritz G. Rathjen

**Adresse:** Max-Delbrück-Centrum  
gegenwärtige Postanschrift:  
ZMNH  
Martinistr. 52  
20246 Hamburg

**Telefon:** 040 4717 4746

**Fax:** 040 4717 4839

**Thema:** Beteiligung von Zelloberflächenproteinen der Immunglobulinsuperfamilie bei der axonalen Regeneration nach Verletzungen

#### *Einführung in das Thema*

Axone des Rückenmarks oder des Gehirns, die durch Unfälle oder entzündliche Prozesse verletzt wurden, können im Gegensatz zu Axonen des peripheren Nervensystems bei höheren Vertebraten und beim Menschen nicht oder nur über sehr geringe Distanzen regenerieren. Folglich sind nach schweren Verletzungen von Teilen des Nervensystems wesentliche Funktionen des Gehirns für immer verloren. Die nicht vorhandene Regenerationsfähigkeit der Axone des zentralen Nervensystems kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, daß bestimmte genetische Programme der Embryonalentwicklung nicht wieder aktiviert werden können. Es ist daher denkbar, daß die Untersuchung des axonalen Wachstums während der Embryonalentwicklung wichtige Erkenntnisse für Induktion der Axonregeneration im zentralen Nervensystem erbringt.

#### *Forschungsplan*

Bei der molekularen Analyse des Axonwachstums während der Embryonalentwicklung hat sich herausgestellt, daß Komponenten der extrazellulären Matrix und der Oberfläche von Axonen eine herausragende Rolle spielen. Die biochemische und molekulare Charakterisierung dieser Proteine hat ergeben, daß sie zum Teil in die Gruppe der Immunglobulinsuperfamilie eingeordnet werden können. Zu diesen Proteinen gehören F11, Axonin-1/TAG-1, Neurofascin, NrCAM, NgCAM und L1, die in zwei strukturelle Untergruppen der Immunglobulinsuperfamilie eingeordnet werden können. Dabei kommt das Protein Neurofascin, das im Vordergrund unserer Untersuchungen stehen soll, in zahlreichen Isoformen vor, die durch alternatives Spleißen der Prä-mRNA entstehen. Einige dieser Formen



werden bevorzugt während der Embryonalphase gebildet, während andere vermehrt im adulten Gehirn auftreten. Es ist somit denkbar, daß die adulten Formen zur Stabilisierung bereits gebildeter Axonstrukturen beitragen und daher möglicherweise einer regenerativen Entwicklung entgegenstehen.

1) Ziel des angestrebten Projektes ist es daher, den Einfluß der embryonalen und der adulten Neurofascinformen auf das Axonwachstum zu untersuchen. Dazu soll zunächst die quantitative Verteilung der verschiedenen Isoformen von Neurofascin während der Entwicklung und im Adultstadium in verschiedenen Regionen des Nervensystems analysiert werden. Desweiteren sollen diese Formen mit regenerierenden und nicht-regenerierenden Nerven korreliert werden.

2) Ein weiteres Projekt soll sich mit der Identifikation von Zelloberflächenproteinen, die mit Neurofascin auf embryonalen und regenerierenden Axonen Interaktionen eingehen, beschäftigen. Bekanntlich gehen die verschiedenen Proteine der Immunglobulinsuperfamilie auf axonalen Oberflächen komplexe Wechselwirkungen ein, um das Neuritenwachstum zu regulieren.

#### *Methodenspektrum*

Es werden vorwiegend molekularbiologische, zellbiologische und biochemische Techniken für die angestrebten Ziele genutzt, die bereits im Labor des Antragsstellers etabliert sind.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Da mein Wechsel nach Berlin erst Zuginn des nächsten Jahres zu erwarten ist, gibt es gegenwärtig noch keine Zusammenarbeit mit anderen Antragsstellern.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Wir erhoffen uns eine Zusammenarbeit mit Antragsstellern, die an plastischen Reaktionen des zentralen Nervensystems arbeiten.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen	1 BAT IIa-Stelle
	1 BAT IIa/2-Stelle (Promotion)
Beantragte Investitionen	DM 40.000,-
Beantragte Sachmittel (pro Jahr)	DM 40.000,-



*Originalarbeiten 1992/1993*

Rathjen, F.G., Nörenberg, U., and Volkmer, H. (1992): Glycoproteins implicated in neural cell adhesion and axonal growth, *Biochem. Soc. Trans.* 20, 405-409.

Nörenberg, U., Wille, H., Wolff, J.M., Frank, R., and Rathjen, F.G. (1992): The chicken neural extracellular matrix molecule restrictin: Similarity with EGF-, fibronectin type III-, and fibrinogen-like motifs, *Neuron* 8, 849-863.

Volkmer, H., Hassel, B., Wolff, J.M., Frank, R., and Rathjen, F.G. (1992): Structure of the axonal surface recognition molecule neurofascin and its relationship to a neural subgroup of the immunoglobulin superfamily, *J. Cell Biol.* 118, 149-161.

Sonderegger, P., and Rathjen, F.G. (1992): Regulation of axonal growth in the vertebrate nervous system by interactions between glycoproteins belonging to two subgroups of the immunoglobulin superfamily, *J. Cell Biol.* 119, 1387-1394.

Brümmendorf, T., Hubert, M., Treubert, U., Leuschner, R., Tárnok, A., and Rathjen, F.G. (1993): The axonal recognition molecule F11 is a multifunctional protein: Specific domains mediate interactions with NgCAM and restrictin, *Neuron* 10, 711-727

Brümmendorf, T., and Rathjen, F.G. (1993): Axonal glycoproteins with immunoglobulin- and fibronectin type III-related domains in vertebrates: structural features, binding activities and signal transduction, *J. Neurochem.* 4, in press.

Morales, G., Hubert, M., Brümmendorf, T., Treubert, U., Tárnok, A., and Rathjen, F.G. (1993): Induction of axonal growth by heterophilic interactions between the cell surface recognition proteins F11 and NrCAM/Bravo, *Neuron*, in press.



**Name des Antragstellers:** Andreas Reichenbach

**Adresse:** Carl-Ludwig-Institut für Physiologie  
Universität Leipzig  
Liebigstr. 27,  
04103 Leipzig.

**Telefon:** 0341 7167 265

**Fax:** 0341 7167 570

**Thema:** Homöostaseprobleme einer gestörten Glia-Neuron-Interaktion (Epilepsie / SD): Plastizität der Gliazellmembran

#### *Einführung in das Thema*

Die ungestörte Funktion des Zentralnervensystems basiert unter anderem auf einer adäquaten Kommunikation zwischen Neuronen und Gliazellen, vermittelt über die jeweiligen Zellmembranen und den Extrazellulärraum (ECS). Moleküle wie Neurotransmitter oder auch Stoffwechselprodukte, die in den ECS aus einem der beiden zellulären Kompartimente freigesetzt werden, haben oft eine Signalwirkung auf benachbarte Zellen; ihre extrazelluläre Konzentration unterliegt der Homöostase. Bei pathologisch gesteigerter neuronaler Aktivität oder bei Stoffwechselstörungen kann die Freisetzungsrate solcher Moleküle die Transportkapazität der homöostatischen Mechanismen (Ionenkanäle, "Pumpen" und anderer Transportproteine) überschreiten. Dies kann für neuronale Zellen deletäre Folgen haben, während gliale Zellen solche Zustände oft überleben und sogar hypertrophieren und proliferieren.

#### *Forschungsplan*

Untersucht werden soll die Beteiligung der Gliazellmembran an den beschriebenen Prozessen. Dabei interessiert zunächst der Beitrag zur Homöostase unter normalen Bedingungen (Klassifikation, Quantifikation und topographische Lokalisation von Transportproteinen in der Gliazellmembran). Darauf aufbauend sollen Veränderungen untersucht werden, die durch exzessive neuronale Aktivität induziert werden; es werden dabei sowohl kompensatorische (vermehrte und/oder qualitativ angepaßte Expression von Transportproteinen) als auch "selbst-protective" Effekte (Abkopplung vom Stimulus durch reduzierte Expression von Rezeptoren) erwartet. Darüberhinaus soll die Möglichkeit geprüft werden, daß eine Insuffizienz der glialen Homöostasemechanismen neuronale Hyperexzitationsphänomene hervorrufen kann. Schließlich soll untersucht werden, welche Membranveränderungen bei glialer Hypertrophie und Zellproliferation auftreten und inwieweit sie kausal mit diesen Erscheinungen zusammenhängen. Eine eingehende Kenntnis dieser Mechanismen soll Ansätze zu therapeutischer Beeinflussung ermöglichen.

Objekt der Untersuchungen sollen Gliazellen aus Netzhaut und Gehirn von normalen Tieren und Mäusen mit genetisch determinierter Epilepsie (El-Mäuse) sein; diese sollen als akut



isolierte Zellen und in Zell- und Organkulturen untersucht werden. In den Kulturen wird die Simulation von Bedingungen neuronaler Hyperaktivität geplant.

#### *Methodenspektrum*

Folgende Verfahren sind vorgesehen: Messung der Ionenströme über die Membran mittels elektrophysiologischer Methoden (patch-clamp und whole-cell voltage-clamp) und mittels fluoreszenzoptischer Ionenkonzentrationsmessungen; Immunzytochemie und in-situ-Hybridisierungen zur Determination der Expression von Transportproteinen; Farbstoffinjektionen zur Prüfung der Zellkopplung; Morphometrie lebender farbstoffmarkierter Zellen mit bildgebenden Verfahren einschließlich Messungen mit dem konfokalen Mikroskop (Zellschwellung, Veränderung von Zellfortsätzen); quantitative Methoden zur Bestimmung von Zellproliferation und -hypertrophie. Alle Methoden (außer denen, die das beantragte konfokale Mikroskop erfordern) sind im eigenen Labor oder bei den Kooperationspartnern etabliert.

#### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Im Rahmen einer derzeit auslaufenden Förderung durch die Volkswagenstiftung sind mit Dr. H. Kettenmann und Dr. W. Reichelt die physiologischen Eigenschaften von Müllerschen Gliazellen der Säugetierretina untersucht worden; erste Publikationen aus dieser Kooperation sind gedruckt bzw. im Druck. In Zusammenarbeit mit Dr. G. Brückner und Dr. W. Härtig werden immunocytochemische und autoradiographische Untersuchungen an Gliazellen von Gehirn und Retina durchgeführt; mehrere gemeinsame Publikationen liegen vor. Mit Dr. K. Brauer zusammen wurden vergleichend-morphologische Untersuchungen an Gliazellen und Neuronen durchgeführt und publiziert. Ein Mitarbeiter der Arbeitsgruppe (Dr. W. Reichelt) bearbeitet ein gemeinsames Projekt mit Prof. U. Heinemann.

#### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Mit Dr. G. Brückner und Dr. W. Härtig soll bei den immunocytochemischen Untersuchungen kooperiert werden; dazu wird das Projekt Brückner/Bigl durch elektrophysiologische Methoden unterstützt. Bei der Etablierung der konfokalen Mikroskopie und der fluoreszenzoptischen Ionenkonzentrationsmessungen soll mit Dr. H. Kettenmann und Prof. U. Heinemann kooperiert werden. Eine Kooperation mit dem Projekt Poeggel wird angestrebt.

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	1 Wissenschaftliche Assistentenstelle
	1 Doktorandenstelle
	1 Studentische Hilfskraft
Beantragte Investitionen:	DM 280.000.-
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):	DM 35.000.-



REICHENBACH, A., A. SIEGEL, D. SENITZ & T. G. SMITH, Jr. (1992) The fractal dimension D of various kinds of astrocytic cells. *NeuroImage* 1:69-77.

STOLZENBURG, J.-U., J. HAAS, W. HÄRTIG, B.-R. PAULKE, H. WOLBURG, W. REICHELT, T. I. CHAO, J. R. WOLFF & A. REICHENBACH (1992) Phagocytosis of different kinds of latex beads by rabbit retinal Müller (glial) cells in vitro. *J. Hirnforsch.* 33:557-564.

REICHENBACH, A., U. BAAR, H. PETTER, P. SCHAAF, N. N. OSBORNE & E. BUSE (1992) Neuronal ectopia in tiger retina. *J. Hirnforsch.* 33:585-593.

REICHENBACH, A. & W. EBERHARDT (1993) Contribution of retinal glia to light-evoked potentials of the retina. In: W. HASCHKE and E.-J. SPECKMANN (eds.): *Slow Activity Changes in the Brain*, Verlag: Friedrich-Schiller-Universität, Jena, pp. 91-96.

REICHENBACH, A., A. HENKE, W. EBERHARDT, W. REICHELT & D. DETTMER (1992) K<sup>+</sup> regulation in retina. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 70 (Suppl.) S239-S247.

SMITH, T. G., Jr., K. BRAUER & A. REICHENBACH (1993) Quantitative phylogenetic constancy of cerebellar Purkinje cell morphological parameters. *J. Comp. Neurol.* 331: 402-406.

REICHENBACH, A., J. SCHNITZER, E. REICHELT, B. FRITZSCHE, OSBORNE, N. N., A. PULS, U. RICHTER, A. FRIEDRICH, A.-K. KNOTHE, W. SCHOBER & A. TIMMERMANN (1993) Development of the rabbit retina. III. Differential growth and density of projection neurons and interneurons. *Visual Neurosci.* 10: 479-498.

CHAO, T. I., PANNICKE, T., REICHELT, W. and REICHENBACH, A. (1993) Na<sup>+</sup> channels are expressed by mammalian retinal glial (Müller) cells. *NeuroReport* 4:575-578.

REICHENBACH, A., J.-U. STOLZENBURG, W. EBERHARDT, T. I. CHAO, D. DETTMER and L. HERTZ (1993) What do retinal Müller (glial) cells do for their neuronal "small siblings". *J. Neurochem. Anat.* 6:201-213.

BRÜCKNER, G., K. BRAUER, W. HÄRTIG, J. R. WOLFF, M. J. RICKMANN, A. DEROUICHE, B. DELPECH, N. GIRARD, W. H. OERTEL & A. REICHENBACH (1993) Perineuronal nets provide a polyanionic, glia-associated form of microenvironment around certain neurons in many parts of the rat brain. *Glia* 8:183-200.

REICHENBACH, A. (1993) Two types of neuronal precursor cells in the mammalian retina - a short review. *J. Hirnforsch.* 34:337-343.



PRITZ-HOHMEIER, S., S. HANISCH, H. MICHEL, D. L. MEYER & A. REICHENBACH (1993) Optic tectum in congenitally monophthalmic fish and birds. *J. Hirnforsch.* 34:409-417.

FAFF-MICHALAK, L., A. REICHENBACH, D. DETTMER, M. KELLNER and J. ALBRECHT (1993)  $K^+$ -, hypoosmolarity-, and  $NH_4^+$ -induced taurine release from cultured rabbit Müller cells: the role of  $Na^+$  and  $Cl^-$  ions and relation to cell volume changes. *Glia*, *in press*.

CHAO, T.-I., A. HENKE, J.-U. STOLZENBURG, W. REICHEL, W. EBERHARDT, S. REINHARDT-MAELICKE and A. REICHENBACH (1993) Characterization and possible functional role(s) of  $K^+$  channels in rabbit retinal Müller (glial) cells. *Pflüger's Arch.*, *in press*.

REICHENBACH, A. & S. PRITZ-HOHMEIER (1994) Normal and disturbed early development of the eye anlagen. *Progress in Eye Research*, *in press*.

PRITZ-HOHMEIER, S., T. I. CHAO, J. KRENZLIN and A. REICHENBACH (1993) Effect of *ex vivo* application of Gingko-biloba extract EGb 761 (Rökan<sup>R</sup>) on the susceptibility of mammalian retinal cells to proteolytic enzymes. *Ophthalmic Res*, *in press*.



**Namen der Antragsteller:** Regina Reszka, Dr. rer. nat.  
Wolfgang Walther, Dr. rer. nat.

**Adresse:** Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Robert-Rössle-Str. 10  
13122 Berlin-Buch

**Telefon:** (030) 9406-3863/2479  
(030) 9406-2163

**Fax:** (030) 9406-3213

**Name des Antragstellers:** Friedrich Weber, Dr. med.

**Adresse:** Neurochirurgische Klinik  
Universitätsklinikum Steglitz, Freie Universität Berlin  
Hindenburgdamm 30  
12203 Berlin

**Telefon:** (030) 7983184/2274

**Fax:** (030) 7983569

**Thema:** Veränderungen von Zell-Zell-Wechselwirkungen glialer Tumorzellen in vitro und in vivo nach retroviralem und liposomalem Zytokingentransfer

#### *Einführung in das Thema*

Hirntumoren gehören trotz vielfältiger Ansätze zu den kaum kurativ therapierbaren malignen Erkrankungen. Eine von uns durchgeführte Pilotstudie zur systemischen und lokalen  $\beta$ -Interferon-sowie Interleukin-2 (IL-2) Therapie zeigte keinen signifikanten antitumoralen Effekt (Weber et al. Strahlentherap Onkol 165, 556-558, 1989). Als ein innovatives Konzept eröffnet die Gentherapie potentiell bessere Möglichkeiten für eine selektive und lokale Behandlung glialer Tumoren. Brenner et al. (Human Gene Therapy 3, 665-676, 1992) versuchen mit einer klinischen Phase-1-Studie über den ex-vivo-Gentransfer (IL-2) in Neuroblastomzellen und nachfolgender Reinjektion, eine Stimulation der Immunantwort des Patienten zu induzieren (Vakzinierungskonzept). Im Rahmen des von uns geplanten Projektes sollen unterschiedliche Zytokine [Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), IL-2] mit Hilfe des retroviralen bzw. liposomalen Gentransfers in maligne Gliomzellen (in vitro und in vivo) transferiert werden. Schwerpunkt der weiteren Untersuchungen werden dann neben der Integrationseffizienz des Fremdgens ins Glioblastomzellgenom und die damit verbundene Proteinexpression, der Einfluß der Zytokinfreisetzung auf das Wachstumsverhalten, die Expression von Oberflächenantigenen, das Verhalten der Zytokinrezeptoren und die Wechselwirkung mit immunkompetenten Zellen sowie Adhäsionsmolekülen sein.



### *Forschungsplan*

1. *Charakterisierung* eines ausgewählten Panels humaner Glioblastom-Zelllinien unterschiedlichen Malignitätsgrades hinsichtlich ihrer Ausstattung mit *Adhäsionsmolekülen und Oberflächenmarkern*.
2. *Konstruktion Zytokingen-tragender retroviraler Vektoren* - Ausgehend von retroviralen Expressionsvektoren werden verschiedene Zytokingene in diese Vektoren kloniert. An der Modifikation Zytokingen-exprimierender Vektoren wird gegenwärtig gearbeitet.
3. *Liposomale Verkapselung rekombinanter DNA* - Verschiedene Liposomenzusammensetzung und -typen sind für den Gentransfer rekombinanter DNA vorgesehen und sollen hinsichtlich ihrer Transfereffizienz *in vitro* und *in vivo* geprüft werden.
4. *Gentransfer in Tumorzellen* - Geplant ist sowohl der retrovirale als auch der liposomale Gentransfer von Zytokin-exprimierenden Vektoren.
5. Untersuchung der *Veränderungen* hinsichtlich *Adhäsionsmolekül- und Oberflächenmarkerausstattung nach Zytokinexpression* von transfizierten Tumorzellen.

### *Methodenspektrum*

Zur Charakterisierung der humanen Glioblastom-Zelllinien kommen neben der FACS-Analyse auch immunhistochemische Methoden zur Anwendung.

Alle Techniken zur Konstruktion retroviraler Vektoren einschließlich des Nachweises der Integration von Vektor-DNA und Expression des Zytokingens (Southern-, Northern- und Western-Blot-Analyse) stehen zur Verfügung. Weiterhin liegen umfangreiche Erfahrung auf dem Gebiet der Liposomenpräparation und Charakterisierung vor.

### *Derzeit laufende Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

In Zusammenarbeit mit Dr. Kettenmann wird ein umfangreiches Panel von humanen Glioblastom-Zelllinien immunzytochemisch charakterisiert.

### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Untersuchungen zur Überwindung der Bluthirnschranke durch Liposomen bzw. deren Inhalt, die Rolle von Adhäsionsmolekülen und die Radikalbildung von Tumor- bzw. Immunkompetenten Zellen nach Zytokingentransfer sollten in Zusammenarbeit mit Dr. Blasig durchgeführt werden. Anknüpfungspunkte ergeben sich weiterhin mit den Gruppen von Dr. Dirnagl, Dr. Hanisch, Dr. Lippoldt, Dr. Rathjen und Dr. Kettenmann.

### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen:	1 Wissenschaftlerstelle BAT IIa, 1 MTA-Stelle
Beantragte Investitionen:	DM 30.000,-
Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr):	DM 55.000,-



*Originalarbeiten 1992/1993*

Beck, P., Kreuter, J., Reszka, R. Fichtner, I.: Influence of polybutylcyanoacrylate nanoparticles on in-vivo efficacy and toxicity of the anticancer drug mitoxantrone. *J. Microencapsulation* 10: 101-114 (1993).

Fichtner, I., Reszka, R., Schütt, M., Rudolph, M., Becker, M., Lemm, M., Richter, J., Berger, I.: Carboplatin - liposomes as activators of hematopoiesis. *Oncology Research* (accepted).

Fichtner, I., Reszka, R., Becker, M., Lemm, M., Richter, J., Berger, I., Rudolph, M.: Stimulation of hematopoiesis by carboplatin-liposomes. *J. Liposome Research* (accepted).

Reszka, R., Fichtner, I.: Verwendung von wasser- oder lipidlöslichen Übergangsmetallverbindungen, pharmazeutische Zubereitungen und Verfahren zur Herstellung pharmazeutischer Zubereitungen für die Antitumorthherapie und/oder Stimulierung des hämatopoetischen Systems. Europäisches Patentamt, München, 09.10.1992, PCT/DE 92/00868.

Walther, W., Huth, J., Sparmann, G., Uckert, W.: Retroviral transduction of the human TNF alpha gene into tumour cells generates a growth inhibitory effect. *European Biotechnology Today*, chapter 23: 209-215 (1992). Intercept Ltd., Andover, U.K.

Walther, W., Fichtner, I., Uckert, W.: Retrovirus-mediated gene transfer of tumor necrosis factor alpha into colon carcinoma cells generates a growth inhibition. *Anticancer Res.* 13: in press (1993).

Stein, U., Walther, W.: Vector for the expression of theapeutically relevant genes. Deutsches Patentamt, München 12.11.1992, No. P42 38 779.5.

Walther, W., Stein, U., Uckert, W.: Rapid method of total RNA mini-preparation from eucaryotic cells. *Nucleic Acids Research* 21/7: 1682 (1993).

Weber, F., Menzel, J.: Correlation of regional energy metabolism and cell proliferation in human brain tumours. *Modern Neurosurgery*, 25-29 (1992).

Weber, F., Klein-Struckmeier, A., Pohl, U., Menzel, J.: *Advances of Neurosurgery* 20: 267-269 (1992).

Weber, F., Menzel, J. et al.: *Archivum immunologiae et therapie experimentalis* (in press).



**Name des Antragsteller:** Reinhard Schliebs und Volker Bigl

**Adresse:** Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung, Bereich Medizin der Universität,  
Jahnallee 59, 04109 Leipzig

**Telefon:** 0341-797460 oder 0341-7974601

**Fax:** 0341-2114492

**Thema:** Die Rolle der Glia bei der Erfahrungs-abhängigen Reifung des visuellen Kortex

### *Einführung in das Thema*

Gliazellen spielen bei der Reifung des Gehirns eine entscheidende Rolle. So bildet die radiäre Glia während der Embryonalentwicklung ein wichtiges Substrat, damit die verschiedenen jeweils migrierenden Neuronen ihre spezifische laminare Schicht im Kortex erreichen und die bekannte Laminarität des zerebralen Kortex sich bildet. Die sich aus der Radiärglia entwickelnden kortikalen Astrozyten sind in der Lage, das neuronale Wachstum und die Morphogenese der Neuronen zu beeinflussen, unter anderem auch durch die Freisetzung einer Reihe von Wachstumsfaktoren. Darüber hinaus gibt es Befunde, die auch eine reziproke Wechselwirkung begründen, wobei Neuronen die Entwicklung von Gliazellen beeinflussen. Die synaptische Organisation des reifen visuellen Kortex bei Säugetieren ist das Ergebnis einer Erfahrungs-abhängigen Wechselwirkung zwischen kortikalen Afferenzen und ihrer postsynaptischen Targetziele. Die endgültige synaptische Verschaltung bildet sich durch ein Wechselspiel zwischen visueller Erfahrung und Synaptogenese heraus. Diese Modifizierbarkeit der visuellen Verschaltung ist nur innerhalb einer gewissen Periode, der sog. kritischen Periode, möglich. Es gibt eine Reihe von Hinweisen, daß an dieser Erfahrungs-abhängigen Reifung des visuellen Kortex auch Gliazellen beteiligt sind. So ist die Expression von Glia-spezifischen Proteinen wie Vimentin, Gliäres fibrilläres saures Protein (GFAP) und S100 abhängig von der visuellen Umgebung, in der das Tier aufgezogen wurde. Diese und andere Befunde legen die Vermutung nahe, daß Gliazellen eine wesentliche Rolle bei plastisch-adaptiven Mechanismen spielen sollten. Das wird unterstrichen durch eine kürzliche Studie, wo die Implantation unreifer Astrozyten in den visuellen Kortex erwachsener Katzen zu einem erneuten Auftreten okulärer Dominanzplastizität führt.

### *Forschungsplan*

In Weiterführung unserer langjährigen Untersuchungen über den Einfluß monokulärer visueller Deprivation auf die Reifung und die laminar-kortikale Verteilung von Neurotransmitter-Rezeptoren bei der Ratte ist es das Ziel der geplanten Untersuchungen herauszufinden, inwieweit kortikale Gliazellen an der Erfahrungs-abhängigen postnatalen Reifung des visuellen Kortex beteiligt sind.



Dieses Tiermodell ist in der Arbeitsgruppe gut etabliert, und es liegen umfangreiche Daten über die Beeinflussung der Reifung neuronaler Parameter in diesem System vor.

Das Vorhaben soll in drei Ansätzen bearbeitet werden:

1. Die Verfolgung Glia-spezifischer Proteine als Marker für Gliazellen und die Ausbildung gliärer Transmitterrezeptoren während der postnatalen Reifung in den Schichten des visuellen Kortex im Vergleich zur Reifung kortikaler Neuronensysteme (glutamaterg, GABAerg) mittels immunzytochemischer Methoden und der Einfluß verschiedener Perioden von visueller Deprivation.
2. Die Verfolgung der Expression Glia-und Neuronen-spezifischer Proteine sowie von Wachstumsfaktoren mittels in situ Hybridisierung (zelluläre Auflösung und Gegenfärbung zur Zelldifferenzierung) in den Schichten des visuellen Kortex während der postnatalen Reifung und nach Einfluß von monokulärer Deprivation verschiedener Zeitperioden.
3. Die Verfolgung der Entwicklung von kortikalen Gliazellen in den Schichten des visuellen Kortex nach Beeinflussung der kortikalen cholinergen Transmission (cholinerge Läsion im basalen Vorderhirn), um den neuronalen Einfluß bei der Glia-Reifung zu erfassen.

#### *Methodenspektrum*

- Immunzytochemie für Glia-Marker, Transmitter-Rezeptoren und trophische Faktoren
- in situ Hybridisierung mit Oligonukleotidsonden für gliäre und neuronale Markerproteine sowie gliäre Transmitter-Rezeptoren (zelluläre Auflösung und Doppelmarkierung für Glia-Zellen), Auswertung über Bildanalyse
- Rezeptorautoradiographie und quantitative Bildanalyse
- Bestimmung spezifischer gliärer Proteine und Rezeptor mRNA in individuellen Schichten des Kortex (die Auftrennung individueller Kortexschichten für biochemische Analysen wurde von uns bereits früher etabliert und beschrieben) über Western und Northern-Blots

#### *Derzeitige Kooperation mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Dr. Brückner, Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung, Universität Leipzig

#### *Geplante Kooperation mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

- Dr. Brückner, Dr. Reichenbach, Prof. Poeggelt, Universität Leipzig

#### *Finanzrahmen*

Beantragte Stellen: 1 Wissenschaftliche Assistentenstelle  
1 Doktorandenstelle

Beantragte Investitionen (Mikroskop zur Nachrüstung einer Bildanalyse): DM 75.000,-

Beantragte Sach- und Reisemittel (pro Jahr): DM 40.000,-



*Originalarbeiten 1992/1993*

G. Guzman-Godínez and R. Schliebs (1992) Effect of kainic acid administration to prepubescent rats on cholinergic and GABAergic markers in selected brain regions of adult rats. *Neurochem. Int.* **21**, 447-453.

R. Schliebs and T. Rothe (1992) GABA and benzodiazepine receptors in the developing visual system. In: Receptors in the Developing Nervous System (eds. I.S. Zagon and P.J. McLaughlin), Chapman and Hall, Cambridge, pp. 127-140.

A. Kumar and R. Schliebs (1992) Postnatal laminar development of cholinergic receptors, protein kinase C and dihydropyridine-sensitive calcium antagonist binding in rat visual cortex. Effect of visual deprivation. *Int. J. Devl. Neurosci.* **10**, 491-504.

S. Roßner, W. Kues, V. Witzemann and R. Schliebs (1993) Laminar expression of  $m_1$ -,  $m_3$ -, and  $m_4$ -muscarinic cholinergic receptor genes in the developing rat visual cortex using in situ hybridization histochemistry. Effect of monocular visual deprivation. *Int. J. Devl. Neurosci.* **11**, 369-378.

A. Kumar and R. Schliebs (1993) Postnatal ontogeny of GABA<sub>A</sub> and benzodiazepine receptors in individual layers of rat visual cortex and the effect of visual deprivation. *Neurochem. Int.* **23**, 99-106.

S. Roßner, A. Kumar, W. Kues, V. Witzemann and R. Schliebs (1993) Differential laminar expression of AMPA glutamate receptor genes in the developing rat visual cortex using in situ hybridization histochemistry. The effect of visual deprivation. *Int. J. Devl. Neurosci.* **11**, 411-424.

A. Kumar, R. Schliebs and V. Bigl (1993) Postnatal development of NMDA, AMPA, and kainate receptors in individual layers of rat visual cortex and the effect of visual deprivation. *Int. J. Devl. Neurosci.*, accepted.

S. Roßner, A. Kumar, V. Witzemann and R. Schliebs (1993) Development of the laminar expression of the  $m_2$ -muscarinic cholinergic receptor gene in rat visual cortex and the effect of visual deprivation. *Devl. Brain Res.*, accepted.



*Name des Antragstellers:* Prof. Dr. med. habil. H.-B. Vahlborg

R. Schliebs, T. Feist, S. Roßner and V. Bigl (1993) Receptor function in brain cortical regions after cholinergic lesion in rat basal forebrain. J. Neural. Transm. [Gen. Sect.], Suppl., submitted.

Johannanniles 34

04103 Leipzig

R. Schliebs, S. Roßner, A. Kumar and V. Bigl (1993) Muscarinic cholinergic receptor subtypes in rat visual cortex - a comparative study using quantitative receptor autoradiography and in situ hybridization. Ind. J. Exp. Biol., accepted.

Dr. W. Reichel

S. Roßner, J.R. Perez-Polo, R.G. Wiley, R. Schliebs and V. Bigl (1993) Differential expression of immediate early genes in cerebral cortex after cholinergic immunolesion. J. Neurosci. Res., submitted.

04103 Leipzig

*Telefon:* 0341 7167 372

*Fax:* 0341 7167 576

Dr. rer. nat. habil. W. Glander

Institut f. Biophysik

Universität Leipzig

Erbigstr. 17

04103 Leipzig

*Telefon:* 0341 7167 313

*Fax:* 0341 7167 574

*Thema:* Elektrische Membraneigenschaften und metabolische Charakterisierung glialer Hirntumoren in vitro: Zusammenhang dieser Parameter mit dem proliferativen Verhalten der Tumoren.

#### *Einführung in das Thema*

Die alleinige chirurgische Therapie sowie die Radio- und Chemotherapie hirntumoriger Tumoren ist an ihre Grenzen gestoßen und kann nicht als ausreichend effizient angesehen werden. Ein medikamentöses Behandlungsspektrum könnte die intrinsische Beeinflussbarkeit der Proliferation dieser Tumorzellen durch Modulation der elektrischen Membraneigenschaften sein. Über diese Membraneigenschaften ist bisher wenig bekannt. Das bisherige Wissen ist fast ausschließlich aus der CG-Gliamiale und einigen wenigen weiteren glialen Zelllinien gewonnen worden. Dabei handelt es sich um permanente Zelllinien, deren Eigenschaften gegenüber den Primärtumoren stark verändert sein dürften. Außerdem wird damit der großen Heterogenität der Tumoren nicht Rechnung getragen. Somit macht es sich notwendig, Daten über weniger veränderte Zellen zu sammeln, die uns verschiedenen Bereichen der Tumoren zugänglich



**Namen der Antragsteller:** Prof. Dr.med.habil. H.E. Vitzthum  
Klinik für Neurochirurgie  
Universität Leipzig  
Johannisallee 34  
04103 Leipzig

**Telefon:** 0341 397340

**Fax:** 0341 325007

Dr. W. Reichelt  
Carl-Ludwig-Institut für Physiologie  
Liebigstr. 27  
04103 Leipzig

**Telefon:** 0341 7167 272

**Fax:** 0341 7167 570

Dr. rer. nat. habil. W. Gründer  
Institut f. Biophysik  
Universität Leipzig  
Liebigstr. 27  
04103 Leipzig

**Telefon:** 0341 7167 313

**Fax:** 0341 7167 574

**Thema:** Elektrische Membraneigenschaften und metabolische Charakterisierung gliöser Hirntumoren in vitro: Zusammenhang dieser Parameter mit dem proliferativen Verhalten der Tumoren.

#### *Einführung in das Thema*

Die alleinige chirurgische Therapie sowie die Radio- und Chemotherapie hirneigener Tumoren ist an ihre Grenzen gestoßen und kann nicht als ausreichend effizient angesehen werden. Ein zusätzliches Behandlungsprinzip könnte die inhibitorische Beeinflussbarkeit der Proliferation dieser Tumorzellen durch Modulation der elektrischen Membraneigenschaften sein. Über diese Membraneigenschaften ist bisher wenig bekannt. Das bisherige Wissen ist fast ausschließlich aus der C6-Gliomlinie und einigen weiteren wenigen Gliatumor-Zelllinien gewonnen worden. Dabei handelt es sich um permanente Zelllinien, deren Eigenschaften gegenüber den Primärtumoren stark verändert sein dürften. Außerdem wird damit der großen Heterogenität der Tumoren nicht Rechnung getragen. Somit macht es sich notwendig, Daten über weniger veränderte Zellen zu sammeln, die aus verschiedenen Bereichen der Tumoren stammen.



In der Tumorbiologie mehren sich die Berichte über die Möglichkeit der inhibitorischen Beeinflussbarkeit der Proliferation von Tumorzellen (Melanom, Lymphom) durch Modulation der elektrischen Membraneigenschaften. Dieser Ansatz sollte auch in der Erforschung der glialen Hirntumoren Berücksichtigung finden. Die angestrebten Untersuchungen stellen eine Grundlage dafür dar, indem sie die elektrischen Eigenschaften dieser Tumoren aufklären helfen und mit metabolischen Parametern korrelieren.

### *Forschungsplan*

An Gewebekulturen (Primär-, Sekundärkulturen) von intraoperativ gewonnenem Tumormaterial soll eine Übersicht über das Spektrum der elektrischen Membraneigenschaften (spannungs- und ligandenabhängige Ionenkanäle, Transportproteine) gewonnen werden. Mit dieser Charakterisierung soll ein Beitrag zur Klassifizierung (grading) dieser gliösen Tumoren geliefert werden.

Weiterhin soll der mögliche Einfluß von Modulatoren der elektrischen Membraneigenschaften (Blocker, Agonisten, Antagonisten) auf die Proliferation getestet werden. Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie erfolgt gleichzeitig ein Stoffwechsel-Monitoring ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) und die Überwachung des energetischen Status der Zellen ( $^{31}\text{P}$ ). Die Untersuchung der Strahlensensitivität der Tumoren und die Möglichkeit der Sensibilisierung gegenüber energiereicher Strahlung durch die oben erwähnten Modulatoren ist ebenfalls vorgesehen. Möglicherweise kann auf diese Art und Weise ein wirksames therapeutisches Prinzip entwickelt werden.

### *Methodenspektrum*

Aus dem humanen Operationsmaterial hirneigener Tumoren werden wir Zellkulturen anlegen. Diese werden mit der patch clamp-Technik elektrophysiologisch untersucht. In den Kulturen wird die Proliferation mit der BrdU-Methode untersucht. Zusätzlich werden wir immuncytochemische Färbungen vornehmen um das Antigenmuster der Tumoren zu bestimmen (GFAP, Neurofilamente u.a.). Die Beeinflussung der Proliferation durch Kanalblocker und Modulatoren von second messenger-Kaskaden, die durch extrazelluläre Liganden ausgelöst werden, wird ebenfalls elektrophysiologisch und mit der BrdU-Methode verfolgt. Die NMR-Spektroskopie liefert Stoffwechseldaten und Daten über den energetischen Zustand der lebenden Kulturen. So kann eine Beeinflussung dieser Parameter durch Modulatoren unmittelbar verfolgt werden.

### *Derzeitige Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Erste Zellkulturen aus intraoperativ gewonnenem Gliatumormaterial sind in Zusammenarbeit von H.E.Vitzthum und W. Reichelt angelegt worden. Die elektrophysiologische Charakterisierung ist begonnen worden. Mit H. Kettenmann und A. Reichenbach gibt es eine Zusammenarbeit zur Charakterisierung der Eigenschaften von retinalen Gliazellen. Mit U. Heinemann wird ebenfalls auf diesem Gebiet zusammengearbeitet. Mit K. Brauer werden experimentell-morphologische Arbeiten an der Netzhaut durchgeführt.



### *Geplante Kooperationen mit Mitgliedern des geplanten SFB's*

Es sind folgende Kooperationen geplant: mit der Arbeitsgruppe G. Brückner/V. Bigl, die die Untersuchung der extracellulären Matrix der Tumoren bzw. Zellkulturen vornehmen wird; mit der Arbeitsgruppe Th. Arendt, die intracelluläre Signalkaskaden an unseren Zellen untersuchen wird. Mit der Arbeitsgruppe U. Heinemann/M.J.Gutnick ist Zusammenarbeit im Rahmen der Nutzung eines fluoreszenzoptischen Meßplatzes vorgesehen.

### *Finanzrahmen*

Einrichtung eines Zellkulturlabors:	160 TDM
Aufbau eines patch clamp-Meßplatzes:	50 TDM
Verbrauchsmaterial für	
Zellkultur/Elektrophysiologie/NMR(pro Jahr):	30 TDM
Reisemittel(pro Jahr):	4 TDM
Beantragte Stellen:	1 Doktorandenstelle
	1 technische Assistentenstelle

### *Originalarbeiten 1992/93*

#### *W. Reichelt*

Reichenbach, A., A. Henke, W. Eberhardt, W. Reichelt & D.Dettmer (1992) K<sup>+</sup> ion regulation in retina. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 70, S239-S247

Stolzenburg, J.-U., J. Haas, W.Härtig, B.-R. Paulke, H.Wolburg, W. Reichelt, T. I. Chao, J.R.Wolff & A. Reichenbach (1992) Phagocytosis of different kinds of latex beads by rabbit retinal Müller (glial) cells in vitro. *J. Hirnforsch.* 33, 557-564

Chao, T.I., Henke, A., Stolzenburg, J.-U., Reichelt, W., W. Eberhardt, S. Reinhardt-Maelicke, A. Reichenbach (1992) Characterization and possible functional role(s) of K<sup>+</sup> channels in rabbit retinal Müller (glial) cells. *Pflüger's Archiv*, in press.

Reichelt, W.; Th. Müller, A. Pastor, J. Schnitzer & H. Kettenmann (1992) Endfoot current recordings from mouse and guinea pig Müller cells of the isolated retina. *Pflügers Archiv* 420 (Suppl. 1), p. R 20

Reichelt, W., A. Pastor, Th. Müller, J. Schnitzer & H. Kettenmann (1992) Membrane current oscillations can be induced in astrocytes from the mouse retinal wholemount. in: Elsner, N. &



Richter, D.W. (eds.) Rhythmogenesis in Neurons and Networks. Georg-Thieme -Verlag, Stuttgart-New York, p.322

Reichelt, W., A. Pastor, Th. Müller, J. Schnitzer, H. Kettenmann (1992) Oscillations of membrane current and potential can be observed in astrocytes of mouse and rabbit retina. *European Journal of Neuroscience* S5, p.65

Chao, I., W. Reichelt, A. Henke, W. Eberhardt, A. Reichenbach (1992) Voltage-dependent and ligand-activated channels of rabbit retinal Müller (glial) cells. *European Journal of Neuroscience* S5, p.61

Reichelt, W., S. Skachkov, Th. Pannicke, W. Eberhardt, A. Reichenbach (1993) Voltage-clamp recording from the endfoot of Müller (glial) cells in the guinea pig retina during illumination. *Pflügers Archiv-European J. Physiology* 422 (S 1), R 21

Bernd Biedermann, Mike Francke, Winfried Reichelt (1993) Internal  $\text{Na}^+$  ions are necessary to maintain in-and outward  $\text{K}^+$  currents in guinea pig Müller cells. In: *Gene-Brain-Behaviour-Proceedings of the 21th Göttingen Neurobiology Conference* (eds. Elsner, N. and Heisenberg, M.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, p. 398

Thomas Pannicke and Winfried Reichelt (1993) Outward  $\text{K}^+$  currents are activated by increasing extracellular  $\text{K}^+$  concentrations in guinea pig Müller cells. In: *Gene-Brain-Behaviour-Proceedings of the 21th Göttingen Neurobiology Conference* (eds. Elsner, N. and Heisenberg, M.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, p. 399

T. Ivo Chao, Thomas Pannicke, Wolfgang Eberhardt, Susanne Pritz-Hohmeier, Winfried Reichelt and Andreas Reichenbach (1993) Comparative whole-cell patch-clamp studies in retinal Müller (glial) cells of various vertebrates. In: *Gene-Brain-Behaviour-Proceedings of the 21th Göttingen Neurobiology Conference* (eds. Elsner, N. and Heisenberg, M.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, p. 400

Chao, T.I., Pannicke, T., Reichelt, W., Reichenbach, A. (1993)  $\text{Na}^+$  channels are expressed by mammalian retinal glial (Müller) cells. *NeuroReport* 4, 575-578

Reichelt, W. and Pannicke, T. (1993) Voltage-dependent  $\text{K}^+$  currents in guinea pig Müller (glial) cells show different sensitivities to blockade by  $\text{Ba}^{2+}$ . *Neurosci. Lett.* 155, 15-18



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E.Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E.Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E.Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E.Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E.Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W. Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Reichelt, W., Müller, T., Pastor, A., Pannicke, T., Orkand, P.M., Kettenmann, H., Schnitzer, J. (1993) Patch clamp recordings from Müller (glial) cell endfeet in the intact isolated retina and acutely isolated Müller cells of mouse and guinea pig. *Neuroscience*, im Druck

Biedermann, B., Eberhardt, W., Reichelt, W. (1993) GABA uptake into isolated retinal Müller glial cells of the guinea pig detected electrophysiologically. eingereicht

Pannicke, T., Biedermann, B., Reichelt, W. (1993) Retinal Müller glial cells of the guinea pig do not express kainic acid receptors in situ. eingereicht.

#### *H.E. Vitzthum*

Vitzthum, H.E., Die Kontrolle der klinischen Ergebnisse nach operativer Dekompression mittels akut evozierter Potentiale. in: Studel, Lumenta, Klug (eds.) *Evozierte Potentiale im Verlauf*, Springer Verlag, Heidelberg (1993)

Vitzthum, H.E., Monitoring nach Hirntumor-Exstirpation mittels multimodaler evozierter Potentiale. in: Lumenta & Bock (eds.) *Buchbeitrag*, im Druck

#### *W. Gründer*

Schönfelder, J., Gründer, W. (1991) The effect of O<sub>2</sub>-lack on the cerebrum in neonatal rabbits: first result. *Exp. Pathol.* 42, 235-238.

Gründer, W. (1991) Novel pulsed nuclear Overhauser technique (POE) for sensitivity enhancement and determination of relaxation time T<sub>1</sub> of coupled nucleus. *J. Magn. Res.* 91, 113-119.

Gründer, W., Krumbiegel, P., Gersonde, K. (1992) <sup>15</sup>N-NMR des Glycin-Metabolismus in Leber, Muskel und Niere der Ratte unter Nutzung einer neuen gepulsten Overhauser-Technik (POE). *Isotopes Environ. Health Studies* 28, 81-84.

Kusaka, Y., Gründer, W., Rumpel, H., Dannhauser, K.-H., Gersonde, K. (1992) MR microimaging of articular cartilage and contrast enhancement by manganese ions. *Magn. Res. Med.* 24, 137-148.



Map of the Area

