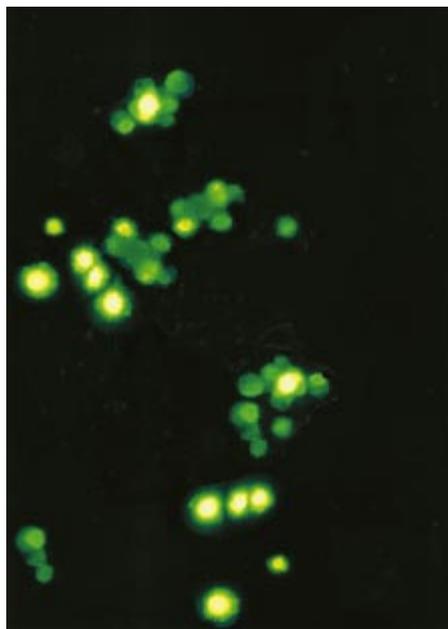
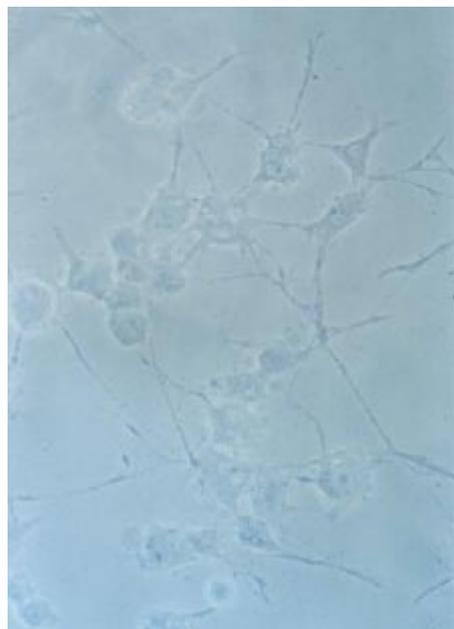


# Vom unaufhaltsamen Niedergang der Hirnzellen

## Wie die Alzheimer Demenz entsteht

von Anne Eckert, Gunter P. Eckert, Andrea Kastl, Silke Leutner, Steffen Leutz, Katharina Schindowski, Barbara Steiner, Michael Sych und Walter E. Müller



Ausdifferenzierte Nervenzellen – hier am Modell von PC12-Zellen (links) – reagieren auf oxidativen Streß mit programmiertem Zelltod. In diesem Experiment wurde der Streß mit Wasserstoffperoxid erzeugt. Der programmierte Zelltod wurde über die Intensität eines für DNA-Strangbrüche spezifischen Fluoreszenz-Farbstoffs quantifiziert (rechts).

Typisch für die Alzheimer Demenz sind bestimmte charakteristische Veränderungen im Gehirn wie das Absterben von Nervenzellen (Neurodegeneration) in bestimmten Arealen des Gehirns [vgl. Beitrag von Braak/Braak, S. 39], intrazelluläre neurofibrilläre Bündel, deren Hauptbestandteil ein pathologisch stark phosphoryliertes Tau-Protein (Teil des Zytoskeletts) darstellt, sowie extrazelluläre faserige Anhäufungen von Eiweißkörpern in Form von senilen (extrazellulären) und in der Gefäßwand lokalisierten (vaskulären) Plaques, deren Hauptbestandteil das Peptid  $\beta$ -Amyloid aus 40 bis 42 Aminosäuren ist.

Diese Parameter gelten als zweifelsfreie histologische Kriterien, wenn die klinische Diagnose durch die pathologische Untersuchung nach dem Tod bestätigt werden soll. Während diese Parameter früher nur zur Diagnose herangezogen wurden, vermutet man heute, daß sie für den Krankheitsprozeß mitverantwortlich sind. Denn sie treffen für alle Formen der Alzheimer Demenz zu, unabhängig davon, ob sie erst in sehr hohem Alter auftreten oder bereits in jüngeren Jahren, ob sie bei hoher genetischer Belastung oder sich spontan bei den sogenannten sporadischen Fällen ausbilden. Der neuronale Verlust, die extrazellu-

lären Plaques und intrazellulären Neurofibrillen sind damit nicht nur histologische Veränderungen, die im Rahmen der Erkrankung auftreten, sondern stellen den Krankheitsprozeß dar. Wenn wir verstehen, wie es zur Plaquebildung, den fibrillären Veränderungen und letztlich zum Zelltod kommt, haben wir die Erkrankung weitgehend verstanden.

Bei den sehr seltenen genetischen Demenzformen geht man davon aus, daß durch genetische Veränderungen vermehrt  $\beta$ -Amyloid produziert wird, wodurch die Erkrankung wesentlich früher ausbricht. Bei den sporadischen Fällen wird  $\beta$ -Amyloid nicht vermehrt gebildet. Vermutlich tragen altersassoziierte Risikofaktoren dazu bei, daß die Erkrankung langsam verläuft und meist erst im hohen Alter manifest wird. Da selbst bei den über 95-Jährigen nur etwa ein Drittel betroffen ist, sind vermutlich neben dem Alter noch andere, unbekannte Faktoren an der Entstehung der Erkrankung beteiligt.

### Gene weisen den Weg

Oft wird die Alzheimer Demenz lediglich mit dem Älterwerden in Verbindung gebracht, aber auch Gene und Umweltfaktoren spielen eine Rolle. Beim überwiegenden Teil der Patienten sind mehrere Faktoren an der Entstehung dieser Demenz beteiligt. Die Alzheimer Krankheit tritt in 90 Prozent der Fälle sporadisch auf und manifestiert sich meist erst jenseits des sechzigsten Lebensjahres. In etwa zehn Prozent der Fälle beginnt die Demenz jedoch erheblich früher und zeigt eine familiäre Häufung, was auf eine genetische Komponente schließen läßt (*Abb. 1*). Durch die genetische Analyse von be-

troffenen Familien konnten in den letzten Jahren Mutationen in drei Genen identifiziert werden, die mit dem Auftreten der Krankheit verbunden sind [6].

Das erste dieser Gene (*Abb. 3*) trägt die genetische Information für das Amyloid-Vorläuferprotein (APP für Amyloid Precursor Protein) und liegt auf Chromosom 21.  $\beta$ -Amyloid, ein durch proteolytische Spaltung (Eiweißspaltung) entstehendes Fragment dieses Vorläuferproteins (*Abb. 2*), bildet die typischen Amyloid-Plaques, die sich im Gehirn der Patienten ablagern. Nur wenn sich mehrere  $\beta$ -Amyloidmoleküle zusammenlagern, ist es stark nervengiftig [vgl. Informationskästen „Oxidativer Streß: Risikofaktor Altern“, S. 62 und „Zellkulturuntersuchungen liefern wichtige Informationen“, S. 63]. Trotz intensiver Forschung ist es bisher nicht gelungen, die dafür ver-

standene Weise zu einer erhöhten Bildung von  $\beta$ -Amyloid aus dem APP. Darüber hinaus scheinen Präsenilin-Mutationen in die zellulären Schutzmechanismen gegen freie Radikale störend einzugreifen. Diese Frage untersuchen wir an transgenen Tieren, die zusätzlich ein mutiertes humanes Präsenilin-Gen tragen [7].

Präseniline werden ebenfalls proteolytisch gespalten. Die bei dieser Spaltung entstehenden Fragmente sind spezifisch für Neuronen. Man nimmt an, daß gerade diese Fragmente spezifische Funktionen im Gehirn erfüllen und daher für den Pathomechanismus von großer Wichtigkeit sind. Unser Arbeitskreis untersucht derzeit eine potentielle Assoziation der neuronenspezifischen PS1-Fragmente an Komponenten des Zytoskeletts (Zellskelett) [8].

toren lediglich die Wahrscheinlichkeit zu erkranken. Von den drei Varianten des Apo-Lipoproteins E (E2, E3, E4) wurde nur E4 als Risikofaktor identifiziert.

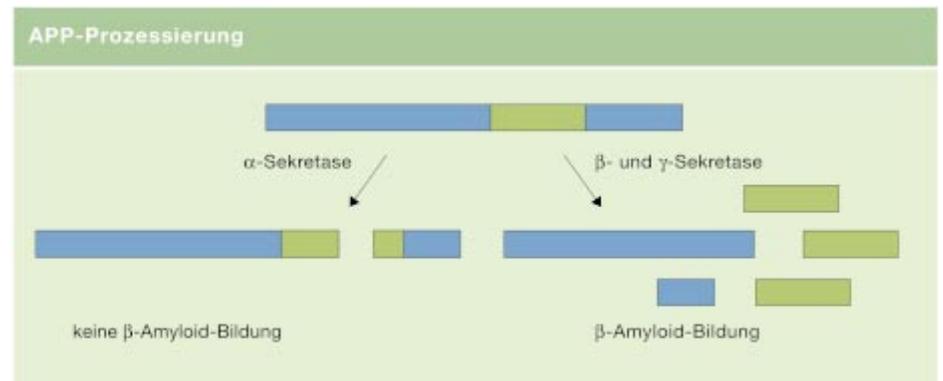
Es sind Anstrengungen unternommen worden, die beim Menschen gefundenen mutierten Gene in Tiere einzuführen. Ziel der Forschung ist es, an diesen „transgenen“ Tiermodellen für die Alzheimer Demenz Untersuchungen zum Verlauf der Krankheit und zur Wirksamkeit therapeutischer Maßnahmen durchzuführen.

**Oxidativer Streß – Schnittstelle für spezifische und unspezifische Risikofaktoren**

Unter den bekannten physiologischen Faktoren, die den neurodegenerativen Prozeß im Gehirn des Alzheimer Kranken



**Abb. 1:** Einteilung der Alzheimer Demenz. In den meisten Fällen tritt die Erkrankung erst weit nach dem 60. Lebensjahr auf. Hauptrisikofaktor dieser sporadischen Form, die den größten Teil der Erkrankungen ausmacht, ist das Alter. Die Frühform der Erkrankung ist sehr viel seltener, aber häufiger mit einer genetischen Belastung als wesentlichen Risikofaktor behaftet (siehe Abschnitt „Gene weisen den Weg“). In allen Fällen der Erkrankung sind aber die Symptome und die pathologischen Hirnveränderungen ähnlich.



**Abb. 2:** Bildung von  $\beta$ -Amyloid über eine spezifische Prozessierung des  $\beta$ -Amyloidvorstufenproteins (APP). Wird dieses große Protein über das Enzym  $\alpha$ -Sekretase gespalten, entsteht kein  $\beta$ -Amyloid. Spaltung von APP über  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase führt dagegen zur Bildung von  $\beta$ -Amyloid. Viele der zur Erkrankung führenden genetischen Veränderungen steigern die Bildung von  $\beta$ -Amyloid. Bis jetzt gibt es keine Hinweise, daß auch bei der häufigen sporadischen Form (*Abb. 1*) die  $\beta$ -Amyloidbildung erhöht ist. Hier scheinen andere Risikofaktoren eine wichtige Rolle zu spielen [vgl. *Abb. 1*, Informationskästen „Zellkulturuntersuchungen liefern wichtige Informationen“, S. ].

antwortlichen Proteasen zu identifizieren. Die im APP-Gen im Zusammenhang mit der Alzheimer Krankheit gefundenen Mutationen führen alle zur Bildung der amyloidenen  $A\beta$ -Fragmente. Personen mit Trisomie 21 (Down Syndrom, Mongolismus), die drei Kopien vom Chromosom 21 besitzen, erkranken fast alle an der Alzheimer Demenz, obwohl das APP-Gen bei diesem Personenkreis nicht mutiert ist: Das zusätzliche Chromosom führt zu einer Überproduktion von APP und  $\beta$ -Amyloid.

Die beiden anderen Gene sind Präsenilin-1 (PS1) und Präsenilin-2 (PS2) auf den Chromosomen 14 und 1. Die beiden Proteine sind einander sehr ähnlich. Im PS1-Gen wurden bisher über 40 mit der Alzheimer Krankheit assoziierte Mutationen beschrieben, im PS2-Gen erst zwei. Diese Mutationen führen auf noch unver-

Genetische Faktoren bei der Alzheimer Krankheit			
Chromosom	Gen	bekannte Mutationen	Beginn der Erkrankung
21	APP	7	45-64 Jahre
21	APP?	Trisomie 21	45-54 Jahre
14	PS1	> 40	28-55 Jahre
1	PS2	2	40-75 Jahre
19	ApoE	Polymorphismus $\epsilon 2, \epsilon 3, \epsilon 4$	> 60 Jahre

**Abb. 3:** Bekannte genetische Risikofaktoren der Alzheimer Demenz. Mit Ausnahme des ApoE-Polymorphismus, der den Effekt des Alterns verstärkt, führen Mutationen der anderen Gene in der Regel zu sehr frühen Erkrankungen (early onset, familiar) [vgl. *Abb. 1*].

Bei der genetischen Analyse von familiär gehäufte Alzheimer Demenz sind Risikofaktoren identifiziert worden, darunter das ApoE-Gen. ApoE ist im Gehirn unter anderem für die Cholesterinverteilung verantwortlich. Im Gegensatz zu dominanten Mutationen, die in jedem Falle zur Krankheit führen, erhöhen Risikofak-

fördern, spielt neben dem Hirnareal und dem Zelltyp das zunehmende Alter die wichtigste Rolle. Obwohl dies epidemiologisch gut belegt ist, wurde dieser Aspekt der Erkrankung in den zurückliegenden Jahren eher vernachlässigt. Früher sah man eine Demenz als unausweichbare Folge des Alterns und weni-

ger als eine spezifische Erkrankung, die zwar sehr häufig im hohen Alter auftritt, aber nicht mit dem normalen Hirnalterungsprozeß gleichzusetzen ist. Man hat daher in den zurückliegenden Jahren eher krankheitsspezifische, meist genetische Faktoren untersucht. Erst in den letzten Jahren ist der normale Hirnalterungsprozeß als krankheitsverstärkender Faktor wieder vermehrt in die Forschung einbezogen worden. Denn möglicherweise führen krankheitsspezifische- und un-

spezifische Altersfaktoren gemeinsam zum Absterben der Nervenzellen im Gehirn. Dafür sprechen zum einen die sogenannte freie Radikaltheorie des Alterns [1] [vgl. Informationskasten „Oxidativer Streß: Risikofaktor Altern“] und zum anderen Ergebnisse neuerer Untersuchungen, die zeigen, daß das für die Alzheimer Erkrankung typische  $\beta$ -Amyloid wahrscheinlich durch die vermehrte Bildung von freien Radikalen neurotoxisch wirkt [2, 3] (Abb. 4).

In unserem Arbeitsmodell gehen wir davon aus, daß sich die Alzheimer Erkrankung ursächlich mit der Bildung des neurotoxischen  $\beta$ -Amyloid-Proteines erklären läßt, das bestimmte Neurone im Gehirn destabilisieren kann. Entgleisungen des intrazellulären Calciumgleichgewichts [4] und die Bildung freier Radikale sind die Folge [2, 3]. Daraus resultiert eine vermehrte Phosphorylierung von Tau-Proteinen, ihre Ablagerung in Form von neurofibrillären Bündeln und letztlich das

## Oxidativer Streß: Risikofaktor Altern

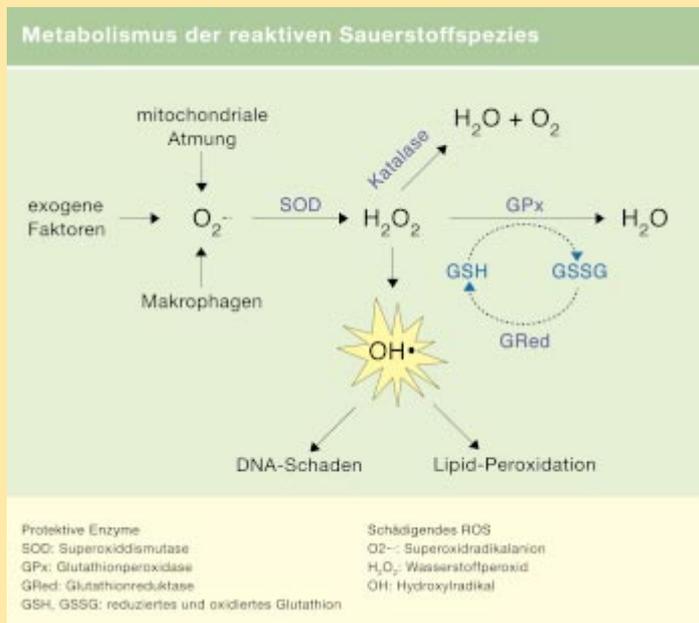


Abb. 1: Ist das Gleichgewicht zwischen Entstehung und Entgiftung von freien Radikalen gestört, wie zum Beispiel im gealterten Gehirn, sind vermehrt Schäden an Proteinen, der DNA im Zellkern oder den Mitochondrien die Folge.

Die dem Alterungsprozeß zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sind noch weitgehend ungeklärt. Es existieren viele Theorien, die zwischen zwei für das Altern verantwortlichen Komponenten unterscheiden: 1. einer aktiven, bei der spezielle Alterungsgene involviert sein sollen und 2. einem passiven Part, der durch äußere Faktoren beeinflusst wird. Da die Nervenzellen im Gehirn ausdifferenziert sind und sich nicht mehr teilen, spielen für den Alterungsprozeß der Hirnzellen nicht-genetische, zelluläre Faktoren eine wichtige Rolle [9]. Zu diesen Faktoren zählen unter anderem freie Radikale, eine Gruppe höchst reaktionsfreudiger Stoffe, die als Produkte des physiologischen Stoffwechsels entstehen und körpereigene Strukturen, wie DNA, Proteine oder Zellmembranen, angreifen. Die freien Radikale stellen meist sauerstoffhaltige Verbindungen dar und werden deshalb als reaktive Sauer-

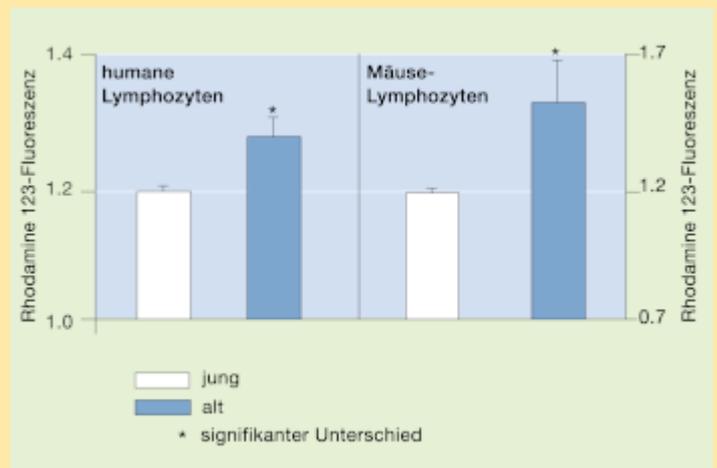
stoffspezies (ROS = reactive oxygen species) bezeichnet (Abb. 1).

Um die Zerstörung zelleigener Strukturen durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) zu verhindern, hat der Organismus im Laufe der Evolution leistungsfähige Abwehrmechanis-

men, wie antioxidativ wirkende Enzyme oder Verbindungen, entwickelt. Überwiegen jedoch die Aggressoren gegenüber diesen körpereigenen Protektoren entsteht oxidativer Streß. Im Laufe des Alterungsvorgangs kommt es vermutlich wegen einer Abnahme von protektiv wirkenden Mechanismen zu einer Erhöhung dieses oxidativen Stresses und somit zu einer Zunahme von Zellschädigungen. Dadurch altert der Organismus (Abb. 1) [1]. Ein Befund unserer Arbeitsgruppe zeigt, daß auch periphere Zellen erhöhte Spiegel an reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) im Alter aufweisen (Abb. 2).

Die „Oxidative Streß-Theorie“ des Alterns (free radical theory of aging) erklärt, daß das durchschnittliche Lebensalter durch eine Verminderung des körpereigenen Stoffwechsels – und mit einer Verringerung des oxidativen Stresses – erhöht werden kann. Mäuse, die über ihre gesamte Lebensspanne einer strengen Kalorienbegrenzung unterworfen wurden, zeigten tatsächlich eine erhöhte Lebenserwartung. Auf den Mensch könnte man das so übertragen: reduzierte, aber nährstoffreiche Kost.

Abb. 2: Erhöhte Bildung von freien Radikalen – gemessen über die Fluoreszenzmarker Dihydro-Rhodamin – in menschlichen Lymphozyten (< 30 J. bzw. > 65 J.) und bei Mäusen (3 Monate bzw. 22 Monate) [10]. (Der Balken symbolisiert den Mittelwert, darüber ist die Standardabweichung angegeben.)



Absterben der Nervenzelle durch den klassischen nekrotischen Zelltod oder – nach neuesten Untersuchungen – durch den programmierten Zelltod (Apoptose) [5]. Die sehr seltenen familiären Formen

der Erkrankung beruhen auf einer Mutation spezifischer Risikogene, wodurch viel mehr  $\beta$ -Amyloid gebildet wird, dessen neurotoxischer Effekt ausreicht, die Erkrankung schon in jungen Jahren ma-

nifest werden zu lassen. Spezifische ( $\beta$ -Amyloid) und unspezifische (Alterungsprozeß) Mechanismen wirken wahrscheinlich auf vielfältigere Art zusammen als bisher bekannt. Möglicherweise

## Zellkulturuntersuchungen liefern wichtige Informationen

In unserem Forschungsgebiet dient die Zellkultur hauptsächlich als Ersatz für Hirngewebe, das einer funktionellen Untersuchung nicht zugänglich ist (Abb. 1). Die von uns untersuchten Zellen wurden aus einem Nennierenmarktumor der Ratte, dem Phäochromozytom, isoliert. Diese sogenannten PC12-Zellen nehmen durch Behandlung mit dem Nervenwachs-

Mit Hilfe dieser APP-transfizierten Zellen kann man die Auswirkungen von APP-Mutationen auf den Calcium-Haushalt, auf das Ausmaß an oxidativem Streß und auf den Zelltod aufklären [vgl. Informationskasten „Oxidativer Streß: Risikofaktor Altern“] [11, 12]. Ob APP oder seine Mutationen die Überlebensfähigkeit von Zellen beeinflussen, testen wir in Zell-

tod- bzw. Cytotoxizitätsversuchen. Dazu werden die Zellen einerseits erhöhtem oxidativen Streß (Abb. 2a und Abb. 2b) ausgesetzt oder man löst den Zelltod durch Aktivierung des sogenannten „programmierten Zelltods“, der Apoptose, aus. Außerdem untersuchen wir den Einfluß von APP auf die  $\beta$ -Amyloid-Toxizität (Abb. 3).

Vorteile	Nachteile
Einsparung von Tierversuchen	Problematische Vergleichbarkeit von an unterschiedlichen Zelltypen erhaltenen Befunden
Untersuchung genetischer Einflüsse durch den Einsatz sog. transfizierter Zell-Linien	Obligate kritische Überprüfung von in-vitro-Beobachtungen auf ihre Relevanz für die in-vivo-Situation
Zellkulturen als Ersatz für schwer zugängliches vitales Untersuchungsmaterial (z. B. Gehirn)	
Vereinfachung komplexer Systeme (Gesamtorganismus, isolierte Organe, etc.)	

Abb. 1: Vor- und Nachteile von Zellkulturmodellen in der biologischen Forschung.

tumsfaktor NGF einige Eigenschaften von Nervenzellen an: Sie bilden zum Beispiel Neuriten aus, und eignen sich daher als in-vitro-Modell für neuronales Gewebe.

Zu den wenigen bisher bekannten genetischen Faktoren der Alzheimer Erkrankung gehören Mutationen im APP-Gen (Amyloid-Vorläuferprotein) auf Chromosom 21. Um die Bedeutung dieses Gens zu verstehen, wurden die jeweiligen DNA-Konstrukte von unverändertem humanem APP (APPwt) sowie von einer bestimmten APP-Mutation, die in einer Familie aus Schweden entdeckt wurde, in das Genom der PC12-Zellen integriert. Die Träger dieser sogenannten schwedischen APP-Mutante (APPsw) entwickeln in jungen Jahren eine familiäre Form der Alzheimerschen Erkrankung.

Abb. 3: Das  $\beta$ -Amyloid-Protein bildet in wäßriger Lösung und in biologischen Flüssigkeiten Aggregate aus. Diese Aggregate bewirken Störungen des metabolischen Status von PC12-Zellen, hier am Beispiel des neurotoxischen  $A\beta$ -Fragments  $A\beta_{25-35}$ . Ein aus denselben Aminosäuren in umgekehrter Sequenz aufgebautes Peptid ( $A\beta_{35-25}$ ), das nicht aggregiert,

zeigt keine oder nur sehr geringe Effekte auf PC12-Zellen. (Ebenso wie in Abb. 2a u. 2b symbolisiert der Balken den Mittelwert, darüber ist der relative Standardfehler angegeben.)

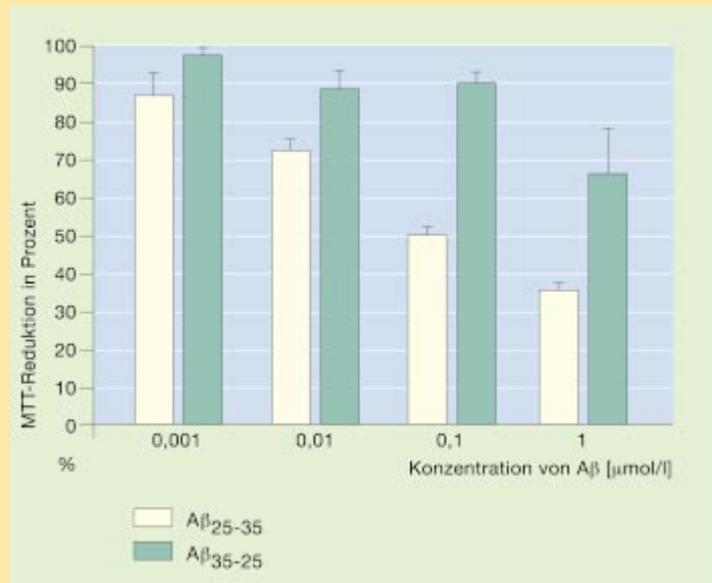
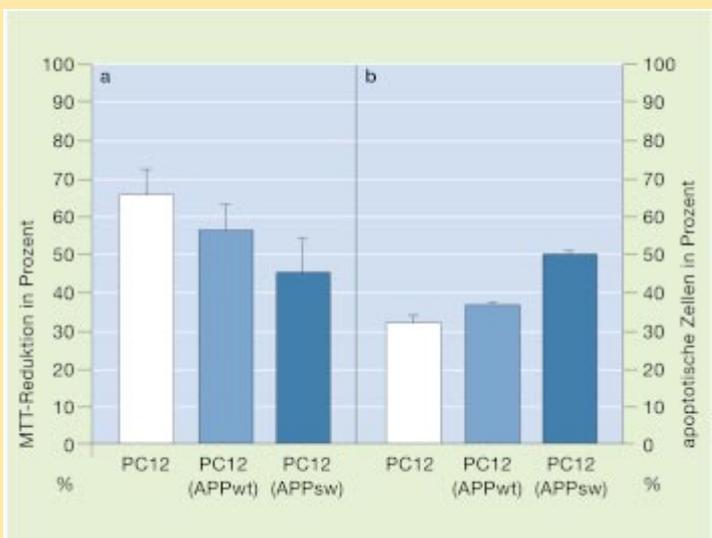


Abb. 2a und 2b: Zugabe von Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reduziert die Zahl an metabolisch aktiven Zellen (A) und erhöht den Anteil apoptotischer Zellen (B). Zellen, die die schwedische APP-Mutation tragen, reagieren empfindlicher auf diesen oxidativen Streß als nicht transfizierter und APPwt-transfizierter Zellen. Die MTT-Reduktion ist ein Marker für die metabolische Aktivität von Zellen. Verliert eine Zelle die Fähigkeit, den Farbstoff MTT zu reduzieren, ist dies ein Hinweis auf eine Störung im Energiestoffwechsel. Die Messung dieses Parameters erlaubt somit die Abschätzung von Zellschäden.



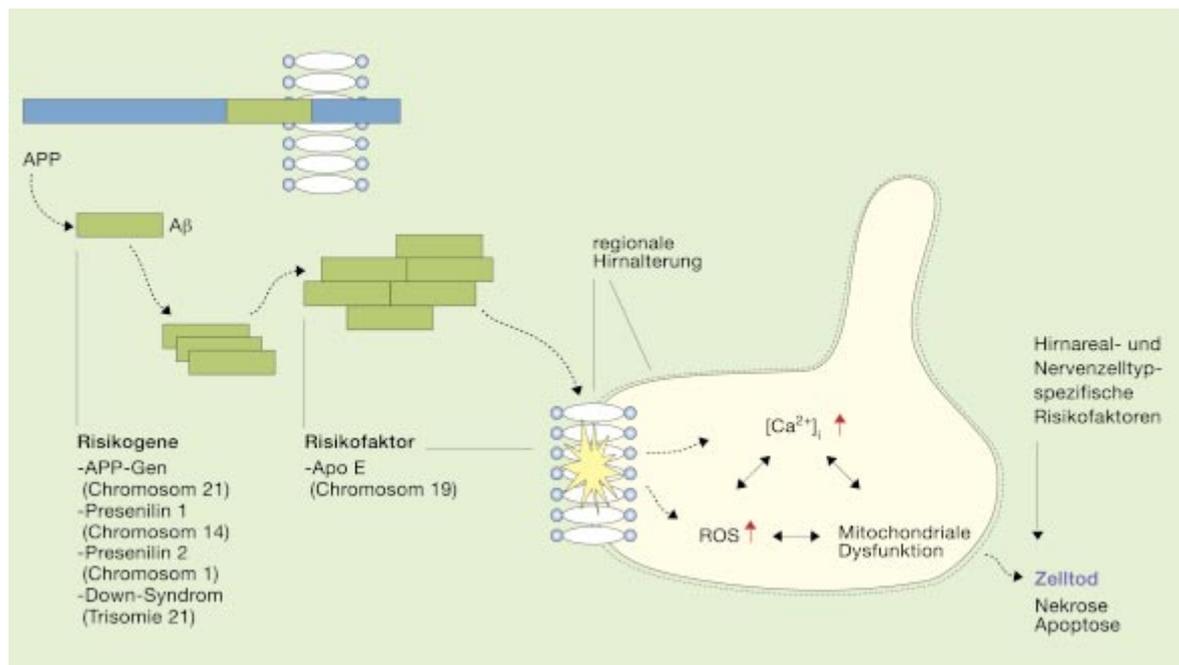


Abb. 4: Oxidativer Streß, Schnittstelle für spezifische und unspezifische Risikofaktoren. Risikofaktoren wie Alter und spezifische Mechanismen wie der neurotoxische Effekt von  $\beta$ -Amyloid wirken auf verschiedenen Ebenen der neuronalen Funktion zusammen (Membranstabilität, oxidativer Streß, Homöostase der intrazellulären freien Calcium-Konzentration).

können bestimmte Risikogene direkt in das freie Radikalsystem eingreifen; möglicherweise führen Alterungsprozesse zu einer veränderten Empfindlichkeit von Nervenzellen für den programmierten Zelltod sowie altersbedingte Veränderungen der Zellmembran zu einer veränderten  $\beta$ -Amyloid-Toxizität. Wir untersuchen den Zelltod mit Hilfe von peripheren Lymphozyten als humanes Modellsystem, von postmortalem Hirngewebe von Alzheimer Patienten, von jungen und alten Versuchstieren und von Zellkulturen [vgl. Informationskasten „Zellkulturuntersuchungen liefern wichtige Informationen“, S. 63].

Ein zentraler Punkt unserer Untersuchungen ist die Frage, wie  $\beta$ -Amyloid-Aggregate zur Neurodegeneration führen.  $\beta$ -Amyloid gibt über Störungen der Membranstruktur [vgl. Informationskasten „Ein kleines Peptid attackiert die Zellwand“, S. 66] und die Bildung von zellgiftigen freien Radikalen selbst den Anstoß zum Zelluntergang. Dieser erfolgt über Nekrose, also exzessive Zellschädigung zum Beispiel durch aggressive Membranveränderungen oder Überladung mit Calciumionen. Der Zelluntergang kann auch durch ein „Selbstmordprogramm“, das jede Zelle besitzt, eingeleitet werden, wobei die Zelle abstirbt.

### Freies intrazelluläres Calcium – ein wichtiger intrazellulärer Botenstoff

Freies intrazelluläres Calcium ist wahrscheinlich der wichtigste sekundäre Botenstoff für die Signaltransduktion in

Nervenzellen. Es wird aus intrazellulären Speichern freigesetzt oder über spezifische Kanäle in die Zelle geschleust und reguliert über Effektorproteine der Zelle deren Stoffwechselprozesse. Viele andere intrazelluläre Funktionen werden ebenfalls über Veränderungen von Calcium gesteuert, zum Beispiel die Transmitterfreisetzung, Ionenkanäle und Proteinkinasen. Damit Calcium diese Aufgaben wahrnehmen kann, muß Calcium über sehr komplexe Mechanismen reguliert werden. Massive Veränderungen von Calcium führen zum nekrotischen oder apoptotischen Zelltod. Viele spezifische und unspezifische Risikofaktoren der Alzheimer Erkrankung (Abb. 4) wie Hirnalterung,  $\beta$ -Amyloid, Risikogene führen zu Störungen der zellulären Homöostase von Calcium [4, 17, 18]. Auch an peripheren Zellen von Alzheimer Patienten wie den Lymphozyten ist die zelluläre Homöostase von Calcium gestört [19, 20].

### Apoptose in der Alzheimer Krankheit

Apoptose, der programmierte Zelltod, spielt bei vielen pathologischen, aber auch bei physiologischen Prozessen eine wichtige Rolle, so zum Beispiel in der Embryonalentwicklung sowie bei Lernprozessen. Leukozyten, die sich während einer Immunreaktion stark vermehren (proliferieren), werden anschließend apoptotisch eliminiert, ebenso Tumorzellen, die das Immunsystem aufspürt.

Eine Zelle kann den Befehl zur Apoptose durch äußere Faktoren (Signalmoleküle) erhalten, sie kann diese Entschei-

dung nach einer starken Schädigung zum Beispiel der Erbsubstanz aber auch selbst treffen, um zu verhindern, daß sie zu einer Krebszelle entartet. Bei der Apoptose werden die wichtigsten zellulären Strukturen nach einem festgelegten genetischen Programm zerstört, weswegen die Apoptose auch als „programmierter Selbstmord“ bezeichnet wird. Es kommt zur Depolarisierung und damit Zerstörung der Mitochondrien, zum gezielten Zerschneiden der DNA zwischen den Nukleosomen, wobei ein apoptosespezifisches Bandenmuster entsteht, und letztlich zur Zerlegung der Zelle in apoptotische Körperchen. Die apoptotische Zelle gibt sich nach außen zu erkennen und wird von Freßzellen eliminiert (phagozytiert). Daher ruft die Apoptose im Gegensatz zur Nekrose keine Entzündungsreaktionen hervor. Wenn dieses System aus den Fugen gerät, sind die Auswirkungen fatal: ein „zu wenig“ an Apoptose erleichtert zum Beispiel die Entstehung von Krebszellen, ein „zu viel“ kann zu pathologischen Zellverlusten führen, vor allem bei nicht mehr teilungsfähigen, ausdifferenzierten Zellen. Gehen Zellen in differenziertem Gewebe zu Grunde, so werden sie meistens durch Binde- und Stützgewebe ersetzt, das aber deren Aufgabe nicht übernehmen kann. Ausfallerscheinungen in den betroffenen Organen sind die Folge.

Die Neurodegeneration im Morbus Alzheimer ist zum Teil durch apoptotisches Absterben der Neuronen bedingt [5]. In Gehirnen von verstorbenen Alzheimer Patienten lassen sich apoptose-spezifische DNA-Fragmentierung und viele

verschiedene apoptotische Genprodukte nachweisen, vor allem in Nähe der Plaques. Neben apoptotischen Genen werden viele antioxidative Proteine exprimiert.

Periphere Lymphozyten von Alzheimer Patienten weisen im Vergleich mit gleichaltrigen nicht-dementen Personen eine erhöhte Apoptose auf [21, 22] (Abb. 5). Wie die Neuronen im Zentralen Nervensystem (ZNS), so zeigen auch die peripheren Lymphozyten eindeutige Veränderungen, die die Apoptose kennzeichnen. Diese Befunde stützen die These, daß der im Zentralnervensystem stattfindende Zelltod über die aktivierten Microglia (Immunzellen des Gehirns) auch in das periphere Immunsystem überstrahlt. Über die Verknüpfung dieser beiden Kompartimente des Abwehrsystems ist es möglich, Veränderungen in einer nicht zugänglichen Region wie dem Gehirn zu beobachten und möglicherweise auch zu beeinflussen. Daher bietet die Untersuchung peripherer Lymphozyten auf apoptotische Merkmale in der Alzheimer Demenz die Möglichkeit, zelluläre Veränderungen ohne aufwendige bildgebende Methoden, sondern nur mit einfacher Blutentnahme zu erfassen. Weitere Experimente sollen Aufschluß darüber geben, inwieweit eine solche Methode als Mittel zur Diagnose oder zum Monitoring der Therapie in Betracht kommt.

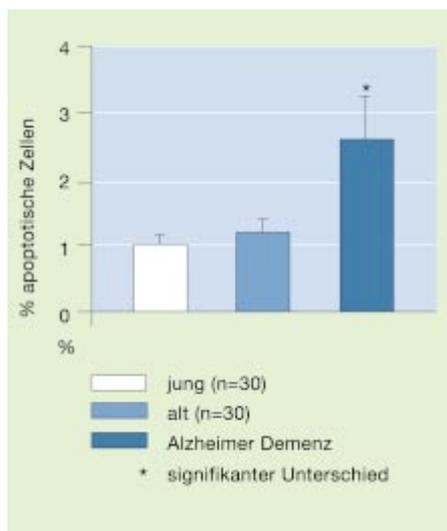


Abb. 5: Prozentualer Anteil der basalen apoptotischen Zellen in frisch isolierten peripheren Lymphozyten. Während es im physiologischen Altersprozeß nur zu einer nicht signifikanten leichten Erhöhung des basalen Anteils kommt, ist die Zunahme der basal apoptotischen Zellen in der Alzheimerschen Demenz hochsignifikant. Die Messungen wurden im Durchflußzytometer mittels DNA-Färbung (Propidiumiodid) durchgeführt, und Zellen mit sub-G<sub>0</sub>-DNA-Inhalt als apoptotisch bezeichnet [22]. (Der Balken symbolisiert den Mittelwert, darüber ist die Standardabweichung angegeben.)

## Therapeutische Ansatzpunkte

Der neurodegenerative Prozeß der Alzheimer Erkrankung ist besonders stark in einem relativ kleinen Verband von Nervenzellen im Basalhirn ausgeprägt, die den Neurotransmitter Acetylcholin benutzen. Ähnlich wie bei der Parkinson Erkrankung, bei der besonders dopaminerge Nervenzellen zugrunde gehen, haben the-

rapeutische Ansätze zum Ziel, die noch vorhandenen Acetylcholin-freisetzenden Nervenzellen in ihrer Funktion zu verstärken, indem der Abbau von Acetylcholin verlangsamt wird. Zu den Acetylcholinesterasehemmern gehören die Substanzen Tacrin, Donepezil und Rivastigmin, die in den letzten Jahren in die Therapie eingeführt wurden. Der therapeutische Erfolg mit den cholinergen Substanzen ist aller-

Dr. Anne Eckert (35) studierte von 1986 bis 1989 Pharmazie an der Universität Marburg. 1994 promovierte sie in der Abteilung Psychopharmakologie von Professor Dr. Walter E. Müller am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit in Mannheim. Ihre Dissertation wurde noch im gleichen Jahr mit dem ORGANON-Forschungspreis für Biologische Psychiatrie 1994 ausgezeichnet. Von 1993 bis 1997 war Anne Eckert als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit in Mannheim tätig. Ein Stipendium des Boehringer Ingelheim Fonds nutzte sie für einen Forschungsaufenthalt an der Universität von Kalifornien in Irvine. Seit 1997 ist sie Hochschulassistentin am Pharmakologischen Institut für Naturwissenschaftler im Biozentrum der Goethe-Universität. Anne Eckert beschäftigt sich mit dem programmierten Zelltod bei neurodegenerativen Erkrankungen, der intrazellulären Calciumregulation sowie den Wirkungen von Pharmaka auf neurodegenerative Mechanismen.



Dr. Barbara Regina Steiner (im Bild 2. Reihe rechts, 37) studierte von 1981 bis 1988 Biologie an der Universität Konstanz. Ihre proteinchemische Doktorarbeit fertigte die Biologin von 1988 bis 1993 am Max-Planck-Institut in Hamburg im Bereich strukturelle Molekularbiologie an. Nach einem dreijährigen Forschungsaufenthalt an den Cold Spring Harbor Laboratories in New York ist Barbara Steiner seit 1996 wissenschaftliche Mitarbeiterin von Professor Dr. Walter E. Müller – zunächst am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit in Mannheim (in Zusammenarbeit mit Professor Dr. Christian Haass) und seit 1998 am Pharmakologischen Institut für Naturwissenschaftler im Biozentrum der Goethe-Universität. Die Biologin beschäftigt sich mit der Entwicklung von transgenen Zellmodellen und der Regulation des Amyloidvorläuferproteins.

und Toxikologie an der Universität Mainz leitete er das Psychopharmakologische Labor am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit in Mannheim. 1989 wurde er zum Professor für Psychopharmakologie an die Universität Heidelberg berufen. Acht Jahre später wechselte er als Professor für Pharmakologie und Toxikologie und als Direktor des Pharmakologischen Instituts für Naturwissenschaftler im Biozentrum der Goethe-Universität. Seine Forschungsschwerpunkte sind die Neurochemie der Hirnalterung, die Neurobiologie von  $\beta$ -Amyloid und die Neurobiologie der Depression. Darüber hinaus beschäftigt er sich mit den Wirkungsmechanismen von Antidementiva und Antidepressiva; in FORSCHUNG FRANKFURT 3/1998 schrieb er zusammen mit seiner Mitarbeiterin Andrea Singer und seinem Mitarbeiter Meinolf Wonnemann einen Beitrag über Johanniskraut als Antidepressivum.

Professor Dr. Walter E. Müller (51) studierte Pharmazie an den Universitäten Frankfurt und Mainz, wo er 1974 promovierte. Von 1974 bis 1978 bildete er sich zum Fachpharmakologen weiter am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz und am Department of Pharmacology der Johns Hopkins University School of Medicine im amerikanischen Baltimore. Nach der Habilitation für Pharmakologie

Gunter P. Eckert (Lebensmittelchemiker, oben links im Bild), Andrea Kastl (Pharmazeutin, 2. Reihe links), Silke Leutner (Pharmazeutin, 3. Reihe Mitte), Steffen Leutz (Pharmazeut, 3. Reihe links), Katharina Schindowski (Biochemikerin, vorne Mitte) und Michael Sych (Pharmazeut, oben rechts) sind Doktoranden in der Arbeitsgruppe von Professor Dr. Walter E. Müller. [Weitere Informationen: [www.biozentrum.uni-frankfurt.de/pharmakologie](http://www.biozentrum.uni-frankfurt.de/pharmakologie)]

dings etwas hinter den durch die L-Dopa-Therapie der Parkinson Erkrankung geprägten Erwartungen zurückgeblieben. Vermutlich ist die Neurodegeneration weniger auf den cholinergen Nervenzellverlust beschränkt, als das dopaminerge Defizit bei der Parkinson Erkrankung. Trotzdem stellen die Acetylcholinesterasehemmer eine wertvolle Ergänzung zu den bereits vorhandenen Alzheimer Medikamenten dar.

Einige dieser Substanzen (zum Beispiel Piracetam, Ginkgo biloba-Extrakt,

Memantin) wirken unterschiedlich stark über den Schutz vor freien Radikalen, eine Membranstabilisierung, eine Hemmung von Apoptose, über Neuroprotektion, eine verbesserte Freisetzung von Neurotransmittern sowie eine verbesserte Bereitstellung von Neurotransmitterzeptoren.

Nicht jedem Patienten kann mit den heute zur Verfügung stehenden Antidementiva ausreichend geholfen werden. Da aber genügend Patienten auf die Behandlung ansprechen, ist die Therapie sinnvoll.

Die häufige ablehnende Haltung ist insbesondere mit dem Hinweis auf die knappen Kassen ethisch nicht mehr vertretbar [vgl. Beitrag von Maurer/Frölich, S. 46]. In vielen anderen Bereichen der Medizin werden bei gleichem therapeutischen Erfolg sehr viel höhere Summen ausgegeben. Leider hat der Demenzkranke keine Lobby und die Angehörigengruppen sind anders als in den Vereinigten Staaten noch nicht ausreichend organisiert.

Aktuelle Therapieansätze, die auch von uns sehr intensiv verfolgt werden, be-

## Ein kleines Peptid attackiert die Zellwand

Eine Störung der Zellmembran beeinträchtigt ihre natürlichen Funktionen wie Stabilisierung der Zelle, Aufrechterhaltung des Wasser- und Ionenhaushaltes oder den Schutz der Zelle gegenüber schädlichen Einwirkungen. Nach dem Fluid-Mosaik-Modell sind natürliche Membranen keine starren Gebilde, sondern flüssig-kristalline Körper, in denen Proteine, Enzyme und Ionen-Kanäle in einer Lipiddoppelschicht schwimmen. Die Beweglichkeit von Membranen (Fluidität) ist für deren physiologische Funktion unerlässlich. Wir konnten an Gehirngewebe von Nagetieren und dem Menschen zeigen, daß  $\beta$ -Amyloid schon in winzigen Mengen konzentrationsabhängig die Fluidität von Nervenzellmembranen beeinträchtigt [13]. Dieser  $\beta$ -Amyloid-Effekt beruht auf zusammengelagertem (aggregiertem) Peptid.

Die Fluidität von Hirnmembranen bei Alzheimer Patienten war im Vergleich zu Gesunden deutlich verringert (Abb. 1). Zugabe von aggregiertem  $\beta$ -Amyloid verminderte die Hirnmembranfluidität bei Alzheimer Patienten und gesunden Kontrollpatienten im gleichen Ausmaß. Das Steroid Cholesterin – wichtiger Bestandteil der Zellmembran – schützt in Zellkulturversuchen vor der toxischen  $\beta$ -Amyloid-Wirkung [14]. Der Cholesteringehalt in Hirnmembranen von Alzheimer Patienten ist verringert [15]. Je mehr Cholesterin in der Membran vorhanden war, desto schwächer war die schädigende Wirkung des  $\beta$ -Amyloids. Möglicherweise kann Cholesterin auch im menschlichen Gehirngewebe vor  $\beta$ -Amyloid schützen. Kernpunkt unserer aktuellen Untersuchung ist die Frage, ob Cholesterin im gealterten Gehirn einen schützenden Effekt hat.

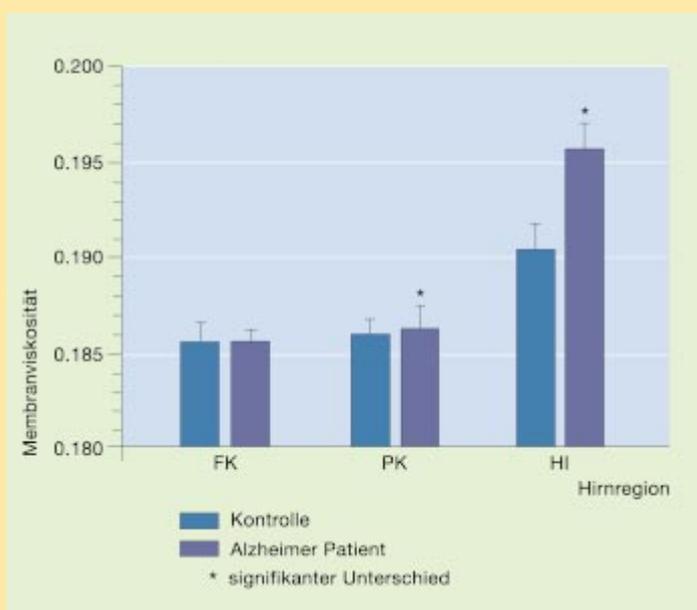


Abb. 1a: Nervenzellgewebe von verstorbenen Alzheimer Patienten zeigt in unterschiedlichen Hirnregionen eine erhöhte Membranviskosität [15, 16]. FK = Frontaler Kortex; PK = Parietaler Kortex; HI = Hippocampus. (Der Balken symbolisiert den Mittelwert, darüber ist die Standardabweichung angegeben.)

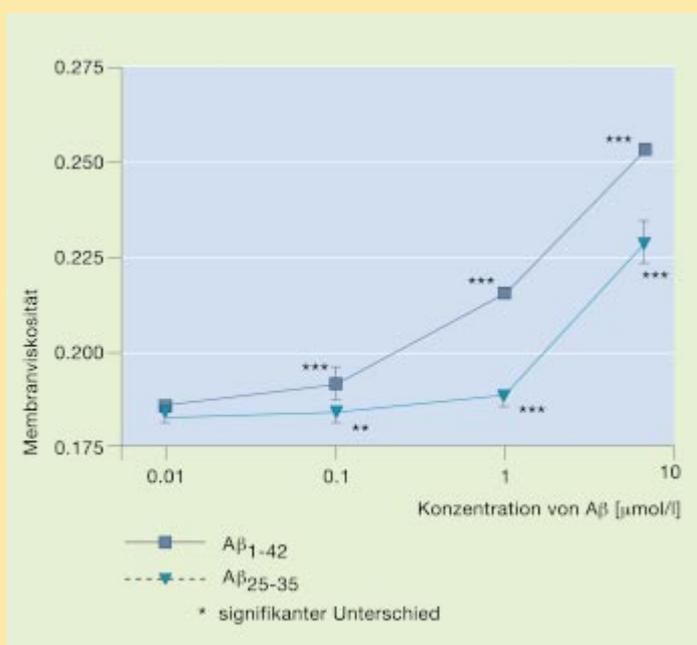


Abb. 1b: Das bei der Alzheimer Krankheit gebildete  $\beta$ -Amyloid-Protein (A $\beta$ ) erhöht konzentrationsabhängig die Membranviskosität von menschlichem Hirngewebe. Dabei ist der Effekt des 42 Aminosäuren langen A $\beta$ <sub>1-42</sub> am größten [13]. Die Membranviskosität (Anisotropie) wurde spektroskopisch gemessen. Die Beweglichkeit eines in die Membran eingelagerten Fluoreszenz-Farbstoffes gibt deren Viskosität an.

schäftigen sich mit den neurotoxischen Mechanismen des  $\beta$ -Amyloids und mit der durch die Zellschädigung verbundenen Aktivierung des Immunsystems. Die Kombination von neuropathologischen, zellbiologischen und pharmakologischen Methoden führt, so hoffen wir, zu einem besseren Verständnis der neurodegenerativen Veränderungen bei der Alzheimer Demenz. Ziel ist es, neue therapeutische Strategien zu entwickeln, mit denen die Neurodegeneration unterbunden werden kann. Wahrscheinlich benötigen wir verschiedene Medikamente, die diese komplexen Prozesse verlangsamen.



## Literatur

- [1] Beckman, K.B., Ames, B.N. (1998): The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78, 547-581.
- [2] Mark, J.R., Blanc, E.M., Mattson, M.P. (1996): Amyloid  $\beta$ -peptide and oxidative cellular injury in Alzheimer's disease. *Mol. Neurobiol.* 12, 211-224.
- [3] Markesbery, W.R. (1997): Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's Disease. *Free Radic. Biol. Med.* 23, 134-147.
- [4] Kruman, I.I., Mattson, M.P. (1999): Pivotal Role of mitochondrial calcium uptake in neural cell apoptosis and necrosis. *J. Neurochem.* 72, 529-540.
- [5] Cotman, C.W. (1998): Apoptosis decision cascades and neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 19 (1. Suppl.), 29-32.
- [6] Cruts, M., van Broeckhoven, C. (1998): Molecular genetics of Alzheimer's disease. *Ann. Med.* 30, 560-565.
- [7] Leutner, S., Schindowski, K., Czech, C., Eckert, A., Müller, W.E. (1999): Altered antioxidant enzyme activity and radical oxygen formation in PS-1 mutant transgenic mice. *Neuroscience abstracts*, in press.
- [8] Sych, M., Hartmann, H., Müller, W.E. (1999): Presenilin 1 fragments are enriched and associated with actin in detergent insoluble fractions of rat brain homogenate. *Neuroscience abstracts*, in press.
- [9] Drachman, D.A. (1997): Aging and brain: a new frontier. *Ann. of Neurol.* 42, 819-828.
- [10] Leutner, S., Schindowski, K., Eckert, A., Müller, W.E. (1998): Oxidative stress in aged and young human lymphocytes. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 248 (2. Suppl.) 145.
- [11] Leutz, S., Eckert, A., Steiner, B., Haass, C., Müller, W.E. (1999): Susceptibility of PC12 cells transfected with the swedish double mutation form of APP to cell death-inducing agents. *Pharmacopsychiatry*, in press.
- [12] Kastl, A., Eckert, A., Steiner, B., Haass, C., Müller, W.E. (1999): Calcium homeostasis of PC12 cells transfected with the swedish double mutation and human wild-type APP. *Pharmacopsychiatry*, in press.
- [13] Müller, W.E., Eckert, G.P., Scheuer, K., Cairns, N.J., Maras, A., Gattaz, W.R. (1997): Effects of  $\beta$ -amyloid peptides on the fluidity of membranes from frontal and parietal lobes of human brain. High potencies of A $\beta$ 1-42 and A $\beta$ 1-43. *Amyloid* 5, 10-15.
- [14] Hartmann, H., Eckert, A., Müller, W.E. (1994): Apolipoprotein E and cholesterol affect neuronal calcium

signalling: The possible relationship to  $\beta$ -amyloid neurotoxicity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 200, 1185-1192.

[15] Scheuer, K., Maras, A., Gattaz, W.F., Cairns, N.J., Förstl, H., Müller, W.E. (1996): Cortical NMDA receptor properties and membrane fluidity are altered in Alzheimer's Disease. *Dementia* 7, 210-214.

[16] Eckert, G.P., Cairns, N.J., Maras, A., Gattaz, W.F., Müller W.E. (1999): Cholesterol modulates the membrane disordering effects of  $\beta$ -amyloid peptides in the hippocampus. Specific changes in Alzheimer's disease. *Dementia*, in press.

[17] Müller, W.E., Hartmann, H., Eckert, A., Velbinger K., Förstl H. (1996): Free intracellular calcium in aging and Alzheimer's Disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 786, 305-320.

[18] Hartmann, H., Eckert, A., Velbinger K., Rewsin, M., Müller W.E. (1996): Down-regulation of free intra-

cellular calcium in dissociated brain cells of aged mice and rats. *Life Sciences* 59, 435-449.

[19] Eckert, A., Förstl, H., Zerfass, R., Hennerici, M., Müller W.E. (1997): Free intracellular calcium in peripheral cells in Alzheimer's Disease. *Neurobiol. Aging* 18, 281-284.

[20] Eckert, A., Oster, M., Förstl, H., Hennerici, M., Müller W.E. (1997): Impaired calcium regulation in subcortical vascular encephalopathy. *Stroke* 28, 1351-1356.

[21] Eckert, A., Cotman, C.W., Zerfass, R., Hennerici, M., Müller W.E. (1998): Enhanced vulnerability to apoptotic cell death in sporadic Alzheimer's disease. *Neuroreport* 9, 2443-2446.

[22] Schindowski, K., Leutner, S., Gorriz, C., Frölich, L., Maurer, K., Eckert, A., Müller, W.E. (1999): Altered apoptosis in lymphocytes from sporadic Alzheimer's disease patients. *Neuroscience abstracts*, in press.

## Buchtip

### Altersdepressionen sind nicht normal

Viele ältere Menschen erscheinen traurig, apathisch, lust- und interesselos. Doch sind dies keine normalen Begleiterscheinungen des Alters, sondern Ausdruck einer ernstzunehmenden, krankhaften psychischen Verstimmung. Diese wird leider zu häufig nicht oder nur unzureichend behandelt, da sie fälschlicherweise als vorübergehender, nicht behandlungsbedürftiger Zustand bewertet wird. Mit dieser Fehleinschätzung „altersgemäßem Verhalten“ aufzuräumen, ist das Anliegen des Buches „Altersdepression: Erkennen und Behandeln“, das Gerd Laux und Walter E. Müller herausgegeben haben. Es richtet sich vor allem an den in der medizinischen Grundversorgung tätigen Hausarzt.

Ziel des Buches ist es, mit umfassenden, aber gut verständlichen Informationen Wissenslücken zu beseitigen. Es ist in insgesamt sechs Kapitel gegliedert, die jeweils mit farbig hinterlegten „Merksätzen für die Praxis“ enden. Diese dienen als Zusammenfassung und geben einen Überblick über die wichtigsten in den jeweiligen Abschnitten behandelten Inhalte. Jedes Kapitel hat zudem eine ei-

gene Literaturliste. Die Themen reichen von den Problemen, die Altersdepression zu diagnostizieren, über epidemiologische Daten bis hin zur medikamentösen Therapie. Ausführlich werden die Grundlagen der therapeutischen Anwendung von Antidepressiva sowie die Vor- und Nachteile der derzeit bei der Behandlung älterer Patienten verwendeten Substanzen beschrieben. Ein weiteres Schwerpunktthema bildet die Behandlung der Altersdepression in der Praxis eines niedergelassenen Arztes.

Die Altersdepression stellt ein medizinisches Problem dar, das mit erheblichem Leid für die Patienten und ihr soziales Umfeld verbunden ist und zu enormen Belastungen für die medizinische Grundversorgung und unser Versicherungssystem führt. Depressive Störungen bei älteren Menschen zu erkennen und angemessen zu behandeln, ist daher ein wichtiger Aspekt in der allgemeinärztlichen Praxis im Bereich der Geriatrie.

Gerd Laux, Walter E. Müller (Hrsg.), *Altersdepression: Erkennen und Behandeln*; LinguaMed Verlags-GmbH, Neu-Isenburg, 1999, 120 Seiten, 19,80 DM