



Blick in die Wissenschaft 37

Forschungsmagazin der Universität Regensburg

Immuntherapie gegen Leukämie und Lymphome

Regensburger Mediziner zum neuen
Sonderforschungsbereich **TR 221:**
Leben für Leukämie- und Lymphompatienten

Krebsimmuntherapie auf dem Vormarsch

Immunregulation nach Transplantation

Darmflora und Stammzelltransplantation

Rupert M. Scheule hinterfragt
klinische Fallberatungen

Veronica Egger kann **Riechen Sehen**

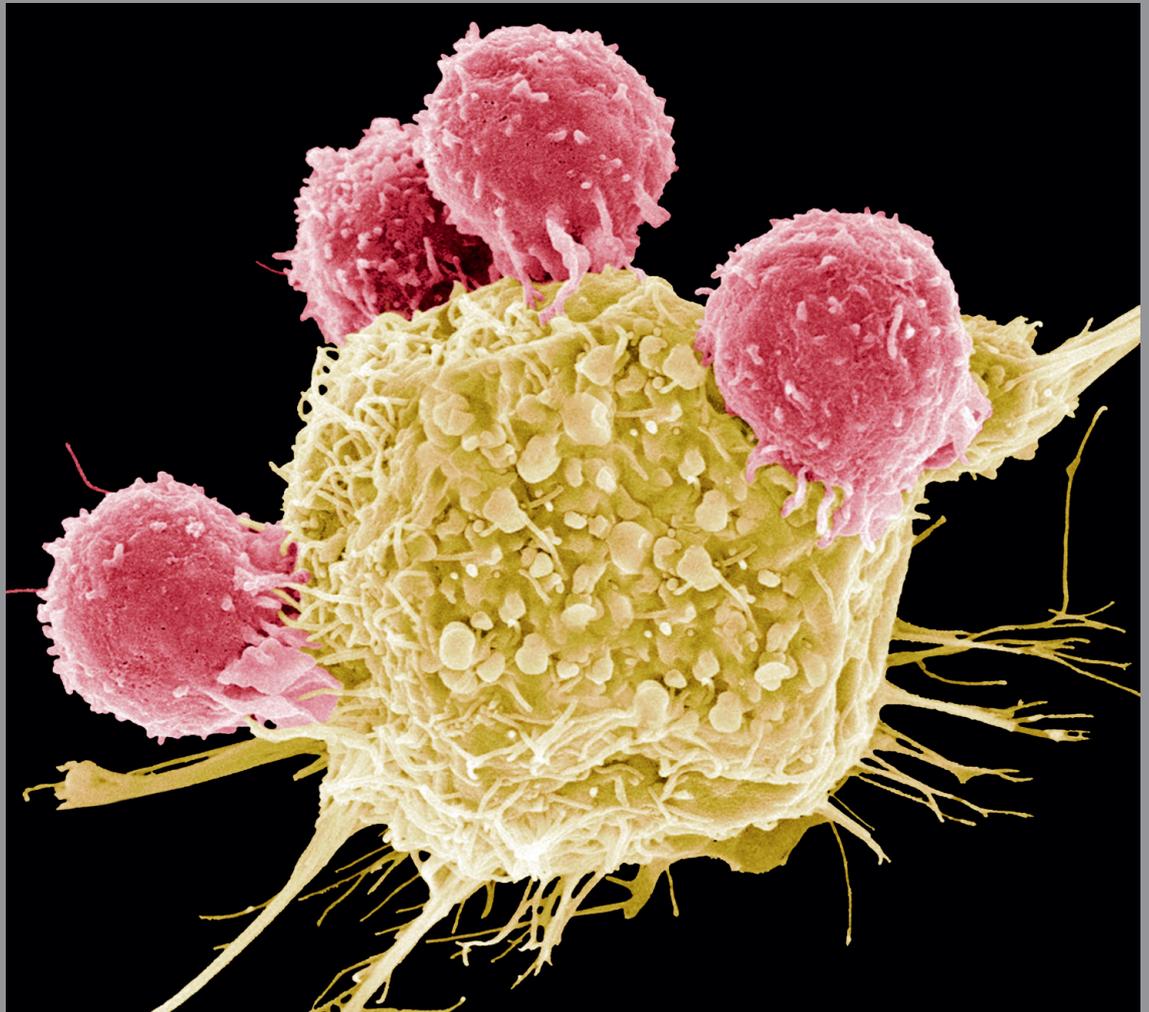
Ferdinand Evers und Klaus Richter zu
Hofstadters Schmetterling

Special: Der weltberühmte Physiker
im persönlichen Interview

Mit Spotlights von

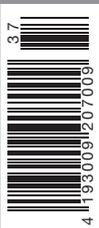
Jürgen Heinze zu **Ameisen aus der
Karibik** und

Christoph Wagner zu **Sigmar Polke**



© Steve Gschmeissner/Science Photo Library

Heft 37 | 27. Jahrgang 2018 | € 7,00 | ISSN 0942-928-X



**Blick in die Wissenschaft
Forschungsmagazin
der Universität Regensburg**

ISSN 0942-928-X

Heft 37

27. Jahrgang

Herausgeber

Prof. Dr. Udo Hebel

Präsident der Universität Regensburg

Redaktionsleitung

Prof. Dr. rer. nat. Ralf Wagner

Redaktionsbeirat

Prof. Dr. jur. Christoph Althammer

Prof. Dr. rer. nat. Ferdinand Evers

Prof. Dr. nat. Felix Finster

Prof. Dr. rer. nat. Mark W. Greenlee

Prof. Dr. theol. Andreas Merkt

Prof. Dr. phil. Omar W. Nasim

Prof. Dr. rer. nat. Klaus Richter

Prof. Dr. rer. pol. Guido Schryen

Prof. Dr. med. Ernst Tamm

Prof. Dr. paed. Oliver Tepner

Prof. Dr. phil. Isabella von Treskow

Editorial Office

Dr. phil. Tanja Wagensohn

Universität Regensburg,

93040 Regensburg

Telefon (09 41) 9 43-23 00

Telefax (09 41) 9 43-33 10

Verlag

Universitätsverlag Regensburg GmbH

Leibnizstraße 13, 93055 Regensburg

Telefon (09 41) 7 87 85-0

Telefax (09 41) 7 87 85-16

info@univerlag-regensburg.de

www.univerlag-regensburg.de

Geschäftsführer: Dr. Albrecht Weiland

Abonnementservice

Bastian Graf

b.graf@univerlag-regensburg.de

Anzeigenleitung

Larissa Nevecny

MME-Marquardt

info@mme-marquardt.de

Herstellung

Universitätsverlag Regensburg GmbH

info@univerlag-regensburg.de

Einzelpreis € 7,00

Jahresabonnement

bei zwei Ausgaben pro Jahr

€ 10,00 / ermäßigt € 9,00

für Schüler, Studierende und Akademiker

im Vorbereitungsdienst (inkl. 7 % MwSt)

zzgl. Versandkostenpauschale € 1,64 je

Ausgabe. Bestellung beim Verlag.

Für Mitglieder des **Vereins der Ehemaligen**

Studierenden der Universität Regensburg

e.V. und des **Vereins der Freunde der Uni-**

versität Regensburg e.V. ist der Bezug des

Forschungsmagazins im Mitgliedsbeitrag

enthalten.

Emily Whitehead ist berühmt. Wer aktuelle Fotos recherchiert, findet ein junges Mädchen, gerade mal 12 Jahre alt, frischer Teint, leuchtende Augen, offen, lebenslustig. Niemand käme auf die Idee, dass Emily vor sechs Jahren akut um ihr Leben kämpfen musste. Eine neue Krebsimmuntherapie hat ihr junges Leben gerettet.

Das Wissenschaftsmagazin Science titelt in der Dezember-Ausgabe 2013: „Krebsimmuntherapie – Durchbruch des Jahres“ und weiter „T cells on attack“. Emily verdankt ihr Leben ihren Immunzellen (T-Zellen), die im Labor gezielt zur Bekämpfung von Leukämiezellen verändert wurden. „T cells on attack“ umschreibt gleich mehrere Phänomene: (i) Fundamental neue Ansatzpunkte in der Krebstherapie; (ii) die Eliminierung von Krebszellen durch neu programmierte T-Zellen (s. Titelbild); (iii) aber auch Über- und Fehlreaktionen des veränderten Immunsystems, die noch schwer zu prognostizieren und kontrollieren sind.

Die Medizinische Fakultät der Universität Regensburg (UR) hat rechtzeitig die Weichen gestellt, um die Krebsimmuntherapie international wettbewerbsfähig mit zu gestalten. Mehrere klinische, von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderte Forschergruppen haben dieses Thema stabil in Regensburg verankert. Das neue Regensburger Centrum für Interventionelle Immunologie wird mit drei in der Universität integrierten Lehrstühlen eine nachhaltig erfolgreiche Grundlagenforschung sicherstellen. Und das auf dem Klinikcampus angesiedelte José-Carreras-Centrum bietet mit der arzneimittelgerechten Anreicherung und Programmierung von Immunzellen beste Voraussetzungen für die Translation neuer Erkenntnisse in die Klinik.

Gemeinsam mit den Einrichtungen des Universitätsklinikums Regensburg und ergänzt durch ausgesuchte Teams der Universitäten Erlangen und Würzburg gelang nun unter Regensburger Federführung die Akquise eines von der DFG geförderten Sonderforschungsbereiches (SFB). Im Fokus dieses von Wolfgang Herr, Klinik für Innere Medizin III, koordinierten SFB stehen bislang ungelöste Herausforderungen bei der Immunzelltherapie von Leukämie- und Lymphompatienten. Der neue SFB sowie einige an der hiesigen Universität bearbeitete Fragestellungen werden in dieser Ausgabe vorgestellt.



© UR/Roswitha Kerzdörfer

Ein weiterer Themenfokus dieser Ausgabe: Ein Portrait des Physikers und Pulitzer-Preisträgers Douglas Hofstadter, dem 1974 als Doktorand während eines Gastaufenthaltes an der UR erstmals die Berechnung des Energiespektrums von Kristallelektronen in einem Magnetfeld gelang, heute berühmt als „Hofstadter Butterfly“. Anschaulich stellen Ferdinand Evers und Klaus Richter, Institut für Theoretische Physik, in ihrem Artikel die Bedeutung von „Hofstadters Schmetterling“ in den Kontext der 70er Jahre und zeigen den paradigmatischen Charakter der Doktorarbeit auf. 40 Jahre später, „zurück in Regensburg“, spricht Douglas Hofstadter in einem Interview mit Klaus Richter über seine Erinnerungen, Chopin, künstliche Intelligenz und seine ganz persönliche Metamorphose vom Physiker zum Kognitionswissenschaftler.

Ausgewählte Highlights aus der Moralphilosophie zur Prinzipienethik in der Medizin und aus den Neurowissenschaften zur Visualisierung des Riechens runden das Spektrum dieser Frühjahrsausgabe ab. Neu eingeführt haben wir mit dieser Edition die Kategorie „Spotlights“ – aktuelle wissenschaftliche Themen in Wort und Bild prägnant für Sie aufbereitet.

Ralf Wagner
(Redaktionsleitung)

Riechen Sehen

Untersuchung neuronaler Verarbeitung im *Bulbus olfactorius* mit optischen Methoden

Veronica Egger

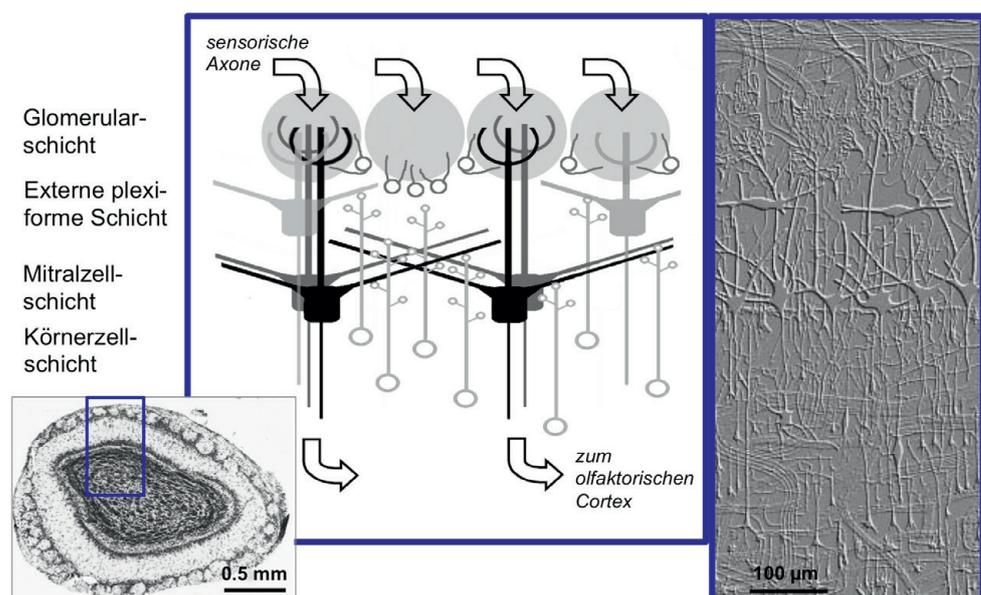
Der Geruchssinn ist einer der ältesten Sinne und im Vergleich zu anderen Sinnen wie dem Sehen noch wenig untersucht. Für Menschen scheint die Nase im Alltag keine große Rolle zu spielen, doch liegt das tatsächliche Ausmaß unserer Beeinflussung durch Gerüche noch im Dunkeln, da ein Großteil unserer Geruchswahrnehmungen unbewusst abläuft. Unsere Forschung am *Bulbus olfactorius* (Riechkolben) von Nagern dient zum einen dem Verständnis der neuronalen Verarbeitung in diesem Sinnessystem. Zum anderen können wir hier einer grundsätzlichen Fragestellung der Neurowissenschaften nachgehen: Auf den Dendriten der meisten Arten von Nervenzellen

finden sich sogenannte Dornfortsätze (engl. *spines*), pilzförmige Ausstülpungen der Membran, die Synapsen beinhalten. Bereits seit den 1960er Jahren wurde vermutet, dass diese *Spines* ihre Synapsen elektrisch isolieren können und sich damit die Möglichkeit zur lokalen Verarbeitung eröffnet. Diese Eigenschaft wäre im Fall der von uns untersuchten Synapse im Riechsystem von besonderer Tragweite, da die Synapse sowohl Signale empfängt als auch Transmitter freisetzen kann. Mit hochauflösender Mikroskopie und optischer Neurostimulation können wir nachweisen, dass diese *Spines* in der Tat als eigenständige „Mini-Neuronen“ operieren.

Bedeutung des Geruchssinns für *Homo sapiens*

Bereits Einzeller können chemische Signale wahrnehmen. Da der Geruchssinn ein sehr alter Sinn ist, findet die Geruchsverarbeitung im menschlichen Gehirn vor allem im entwicklungsgeschichtlich älteren limbischen System statt, das an den Hirnstamm angrenzt, und weniger in den jüngeren Arealen der sensorischen Großhirnrinde. Viele Aspekte der Riechwahrnehmung laufen daher im Unbewussten ab, weswegen der menschliche Geruchssinn häufig unterschätzt wird. Weiterhin wird das Riechen als animalisch empfunden; die entsprechenden Konnotationen mit Ausscheidungen und Sexualität sind

1 Aufbau des *Bulbus Olfactorius*. Links unten: Querschnitt durch *Bulbus*-Präparat mit dunkel angefärbten Zellkörpern. Mitte: Schematische Darstellung der Verschaltungen. Rechts: Färbung einzelner Neuronen des *Bulbus* (nach Camillo Golgi). © Veronica Egger



dem modernen Menschen nicht geheimer (siehe *Das Parfüm* von Patrick Süskind). Lebewesen mit Zugang zu Kühlschränken und Zentralheizung sind Gefahrenquellen wie verdorbener Nahrung und offenem Feuer kaum noch ausgesetzt und benötigen den Geruchssinn daher nicht mehr zum Überleben. Hartnäckig hält sich auch das Vorurteil, dass Menschen bezüglich der Geruchsempfindlichkeit anderen Tieren deutlich unterlegen sind. Dabei trifft dies für bestimmte Duftstoffe sicher nicht zu. So wird Mercaptan, ein Bestandteil des Abwehr-Cocktails des Stinktiers, von Menschen noch in milliardenfacher Verdünnung wahrgenommen.

Mehrere neurodegenerative Erkrankungen wie z. B. *Morbus Parkinson* zeigen als Früherkennungsmerkmal eine deutliche Abnahme der normalen Geruchsempfindlichkeit, weswegen das klinische Interesse am Riechsinn in den letzten Jahren gestiegen ist. An dieser Stelle sei auch auf den Geschmackssinn verwiesen – unsere Geschmackswahrnehmung wird dominiert durch Duftmoleküle, die infolge der Nahrungsaufnahme sozusagen über die Hintertreppe beim Ausatmen aus dem Mund in die Nasenhöhle gelangen. Im Rahmen des heutigen Essenskults ist der Nase zumindest hier die gebührende Aufmerksamkeit sicher!

Wie funktioniert der Geruchssinn?

Sinneswahrnehmungen beruhen meist auf äußeren Reizen, die über körpereigene sensorische Nervenzellen in bioelektrische Signale umgewandelt und im Folgenden vom Gehirn in mehreren Stufen weiterverarbeitet und interpretiert werden. Während die Mechanismen dieser Signalübertragung beim Sehen und Hören schon länger bekannt sind, konnten die molekularen Grundlagen der Geruchswahrnehmung, die Riechrezeptoren, erst in den 1990er Jahren nach 10-jähriger Suche durch Linda Buck und Richard Axel im Genom identifiziert werden (Nobelpreis für Physiologie/Medizin 2004). Die große Anzahl dieser Riechrezeptoren – beim Menschen etwa 350, in der Ratte um die 1000 – spiegelt die extreme Mannigfaltigkeit der möglichen Geruchswahrnehmungen wieder. Denn schon das menschliche Farbsehen erschließt mittels nur dreier Arten von Photorezeptoren (Rot, Grün, Blau) bereits einen Farbraum mit Millionen unterscheidbarer Farbton-Nuancen.

Die Riechsinneszellen sind in der Riechschleimhaut im Dach der Nasenhöhle eingebettet und verfügen über jeweils genau eine Art von Riechrezeptor. Die unterschiedlichen Typen von Sinneszellen sind weitgehend über die Riechschleimhaut

verteilt. Die Axone der Riechsinneszellen verlassen das Nasendach über feine Knochenkanäle in der Siebbeinplatte, um zum *Bulbus olfactorius* innerhalb des Schädels zu gelangen, einer zwiebelartige Ansammlung von Neuronen an der Unterseite des Großhirns. Hier konvergieren nun die Axone aller Sinneszellen mit dem gleichen Rezeptor im gleichen Glomerulus. Glomeruli sind kugelförmige Strukturen mit ca. 0,1 mm Durchmesser in der äußersten Schale des *Bulbus olfactorius* [1], in denen die sensorischen Axone mit mehreren lokalen Neuronentypen und den Mitralzellen synaptisch verschaltet sind. Mitralzellen ihrerseits senden ihre Axone aus dem *Bulbus* hinaus in höhere Areale des limbischen Systems, v. a. zum olfaktorischen Kortex und weiteren Strukturen wie z. B. der Amygdala. Mitralzellen aus unterschiedlichen Glomeruli interagieren zudem untereinander, v. a. über die Körnerzellen.

Die räumliche Anordnung der Glomeruli und damit der Rezeptorkanäle ist strikt vorgegeben. Bislang konnte noch kein kohärentes Prinzip identifiziert werden, das dieser Anordnung zugrunde liegt – wie etwa bei der Karte der Körperoberfläche, dem „Homunculus“, in der somatosensorischen Hirnrinde. Eine Möglichkeit wäre eine chemotopische Karte, auf der Rezeptoren für strukturell ähnliche Duftmoleküle benachbart sind; dies ist allerdings umstritten.

Auf der Rezeptorebene werden Düfte kodiert, indem ein Rezeptortyp bestimmte Strukturelemente eines Duftmoleküls erkennt (nicht das gesamte Molekül) und somit meistens mehrere Rezeptorarten an der Wahrnehmung eines reinen Duftstoffs mitwirken. Diese sogenannte kombinatorische Kodierung hat zur Folge, dass wir *per se* nicht zwischen Duftmischungen und reinen Düften unterscheiden können. Sie bedeutet damit auch, dass es keinen einzelnen Rezeptor für z. B. Kaffee- oder Orangenduft gibt. Die Synthese eines Geruchseindrucks, also die Erkennung der „Gestalt“ des Geruchs, aus den einzelnen aktivierten Rezeptorkanälen (analog zur synthetischen Wahrnehmung von Violett als Farbmischung aus blauem und rotem Licht) ist ebenfalls noch weitgehend ungeklärt; erste dahingehende Verarbeitungsschritte finden wohl bereits im *Bulbus* statt.

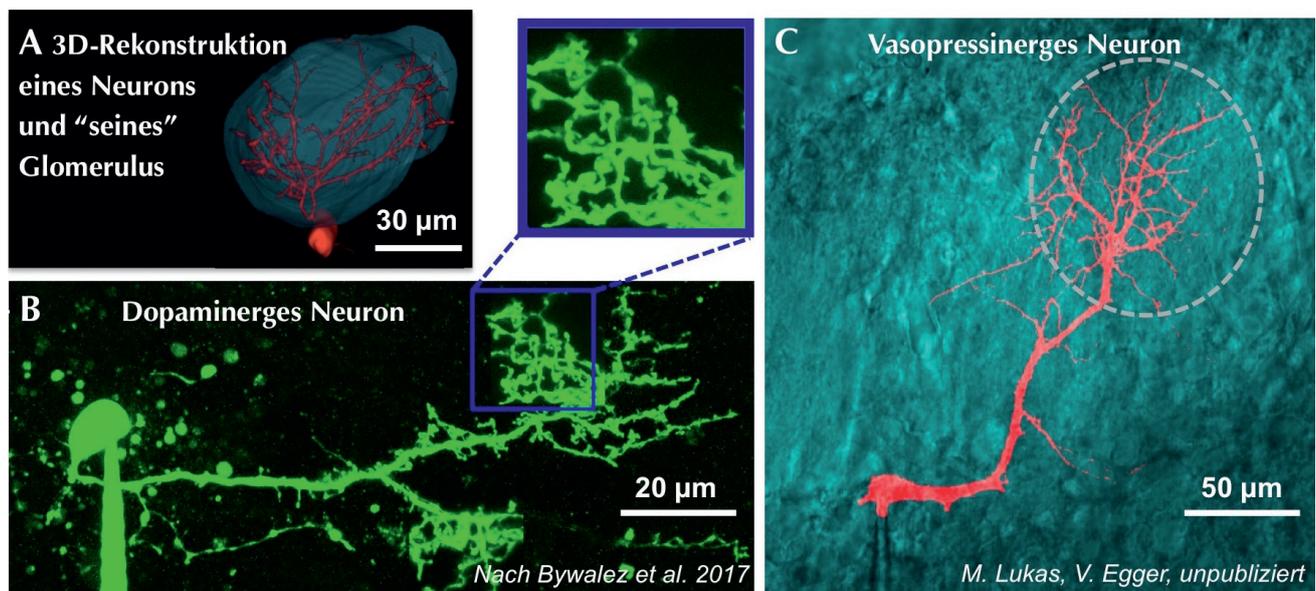
Eine Besonderheit der neuronalen Interaktionen im *Bulbus* ist der sehr hohe Anteil an lokalen hemmenden Neuronen, welche obendrein an ungewöhnlichen Mikroschaltkreisen beteiligt sind, die häufig

Grundbegriffe der neuronalen Verarbeitung

Nervenzellen (**Neuronen**) verständigen sich untereinander durch elektrische Signale. Dafür nehmen sie über ihre baumartig verzweigten **Dendriten** an den sogenannten **Synapsen** Signale anderer Nervenzellen auf und verarbeiten diese. Treffen genügend erregende synaptische Signale (oder im Fall von Sinnesnervenzellen sensorisch vermittelte Signale) zeitgleich am Zellkörper zusammen, so entsteht ein sogenanntes „**Aktionspotential**“ (AP), ein regeneratives Signal, das entlang dünner Fortsätze – den **Axonen** – an andere Neuronen weitergeleitet wird. In den Axonen befinden sich spannungsabhängige Natrium (Na^+)-Ionenkanäle (Na_v), die bei ausreichender Depolarisation der Axonmembran vorübergehend öffnen, was eine verlustfreie Weiterleitung des APs ermöglicht. **Ionenkanäle** sind porenbildende Proteine, die den Strom von Ladungen über die Zellmembran und somit die Erzeugung elektrischer Signale ermöglichen. Sie sind häufig spezifisch für bestimmte Ionen, wie z. B. Na^+ oder Calcium (Ca^{2+}).

Bei der Standardversion der synaptischen Übertragung wird das AP im präsynaptischen Axon mit Hilfe spannungsabhängiger Ca^{2+} -Ionenkanäle in ein chemisches Signal (= Freisetzung von Transmitter-Molekülen) umgewandelt und dieses wiederum in ein elektrisches Signal, das **postsynaptische Potential** (PSP), indem die Transmitter spezielle Rezeptor-Ionenkanäle im postsynaptischen Dendriten öffnen.

Erregung bzw. **Hemmung** bezieht sich auf das Vorzeichen des PSPs im Dendriten – erregende PSPs treiben das Membranpotential des Neurons Richtung Schwelle für die Auslösung eines APs, hemmende PSPs hyperpolarisieren die Membran und unterbinden die Fortleitung von erregenden PSPs.



2 Neuronenarten der Glomerularschicht **a** Neuroanatomische Rekonstruktion eines glomerularen Neurons **b** Dopaminerges Neuron, gefüllt mit grünem Fluoreszenzfarbstoff. Der vergrößerte Ausschnitt zeigt bislang nicht beschriebene dendritische Strukturen, die Zellkörper anderer Neuronen umklammern. Aus: Bywalez, Ona Jodar ... Egger. *Frontiers in Neuroanatomy* 10 (2017), doi: 10.3389/fnana.2016.00127 **c** Vasopressinerges Neuron, gefüllt mit rotem Fluoreszenzfarbstoff und überlagert mit lichtmikroskopischem Bild des Präparats; Umriss des innervierten Glomerulus gestrichelt. © Veronica Egger

durch dendritische Transmitter-Freisetzung getrieben werden (statt der lehrbuchmäßigen axonalen Freisetzung). Die Interaktionen der sensorischen Eingänge und der nachgeschalteten Mitralzellen mit diesen lokalen hemmenden Neuronen finden im Wesentlichen in den zwei äußeren Schalen der „Riechzwiebel“ statt.

Die 1. Schale des *Bulbus*

Die Verschaltung der Eingänge aus der Riechschleimhaut mit den Mitralzellen findet wie erwähnt innerhalb der Glomeruli statt. Die Glomeruli sind von einer großen Anzahl diverser lokaler Neuronenarten umgeben, die sowohl mit den Axonen der Sinneszellen und den Dendriten der Mitralzellen als auch mit anderen lokalen Neuronen verschalten sein können. Schließlich gibt es ausgedehnte laterale Verbindungen, die Dutzende Glomeruli weit reichen können.

Hungrige Menschen/Tiere sind deutlich geruchsempfindlicher als gesättigte. Derartige zustandsabhängige Regulationen der Geruchsempfindlichkeit werden über eine Vielfalt von neuromodulatorischen Systemen vermittelt. Eines davon ist das Dopamin-System, bekannt für seine Rolle in der motorischen Regulation (*Morbus Parkinson*). Im *Bulbus* und insbesondere in der Glomerularschicht gibt es auch Neuronen, die den Transmitter Dopamin

freisetzen können. Für einen verbreiteten Subtyp dieser Zellen konnten wir mit Hilfe neuroanatomischer Techniken [2a] zwei wichtige Befunde machen: (1) Bislang war umstritten, inwiefern diese Dopamin-Zellen das Innere von Glomeruli innervieren und somit an den intraglomerularen Schaltkreisen beteiligt sind. Für ihre Dendriten konnten wir dies durch Rekonstruktion sowohl der Dendritenbäume als auch der Glomeruli ausschließen. (2) Die Dendriten der Dopamin-Zellen verfügen über bislang unbekannte elaboreierte Strukturen [2b], mit denen sie klammerartig die Zellkörper anderer glomerularer Neuronen umgreifen. Unklar ist noch, ob diese Klammern tatsächlich synaptische Kontakte mit den Zielzellen ausbilden und worin ihre Funktion besteht.

Das Vasopressinsystem ist ein weiteres neuromodulatorisches System, das vor allem während sozialer Interaktionen eine Rolle spielt. Daher könnte es auch im *Bulbus* z.B. an der besseren Erkennung einzelner Artgenossen anhand ihres Körpergeruchs beteiligt sein. Zurzeit laufen hier Untersuchungen zu den Vasopressin-Neuronen der Glomerularschicht, die im Gegensatz zu den eben beschriebenen Dopamin-Neuronen ganz gezielt mit einem ihrer Dendriten das Innere von Glomeruli mit einer büschelartigen Struktur innervieren, ähnlich einem gestutzten Olivenbäumchen [2c].

Die 2. Schale des *Bulbus*

Hier ist der häufigste Typ von Verschaltung die dendrodendritische Interaktion zwischen den langen lateralen Dendriten der erregenden Mitralzellen und den Dendriten der hemmenden Körnerzellen [3a]. Die Funktionsweise dieser Verschaltung steht seit längerem im Fokus unserer Forschungsarbeiten. Ihre Besonderheiten sind:

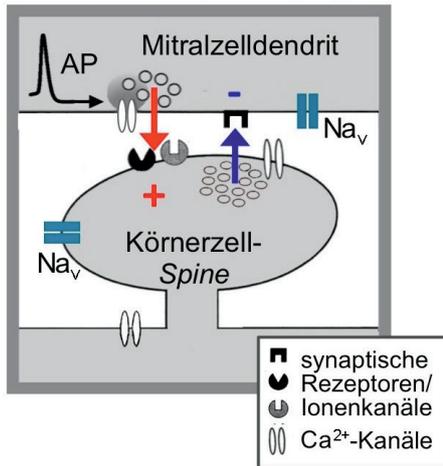
(1) Sie ist reziprok, d.h. die Mitralzelle setzt an der Synapse den erregenden Transmitter Glutamat auf die Körnerzelle frei, und umgekehrt setzt die Körnerzelle den hemmenden Transmitter GABA auf die sie erregende Mitralzelle frei. Diese Art von Interaktion führt zur sogenannten rekurrenten Hemmung der erregenden Mitralzelle – ein Verschaltungsprinzip, das aus dem Rückenmark bekannt ist.

(2) Während die lateralen Dendriten der Mitralzellen eine glatte Oberfläche haben, ist die Synapse auf Seiten der Körnerzelle in einem großen Dornfortsatz (*Spine*) untergebracht. Der *Spine* enthält somit einen Mikroschaltkreis mit Ein- und Ausgang.

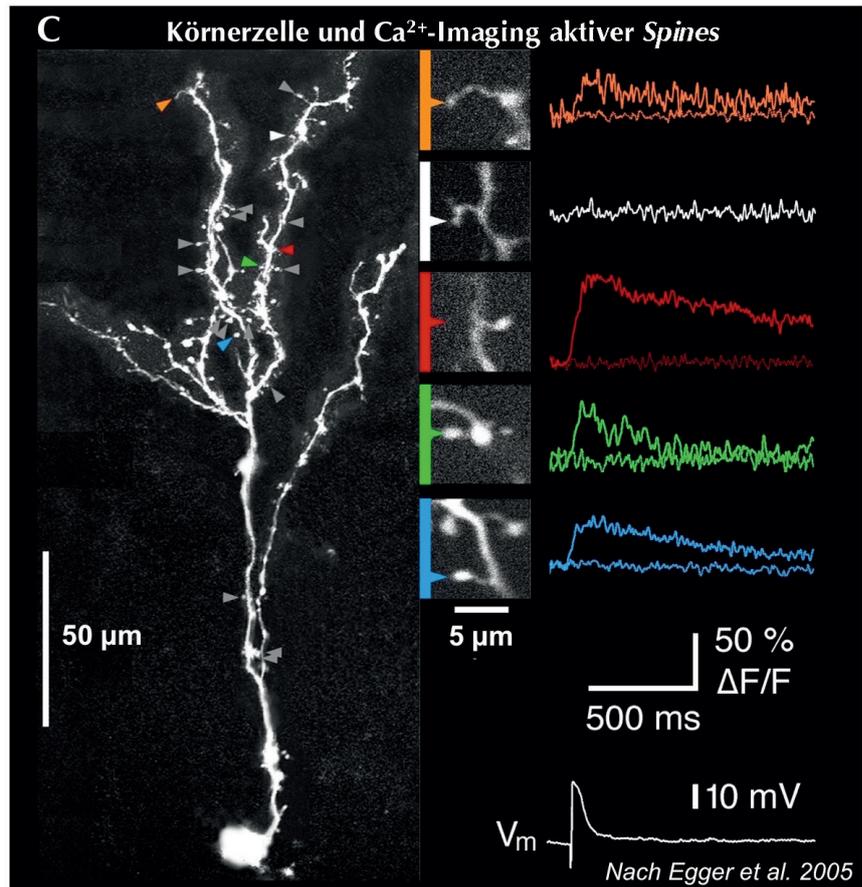
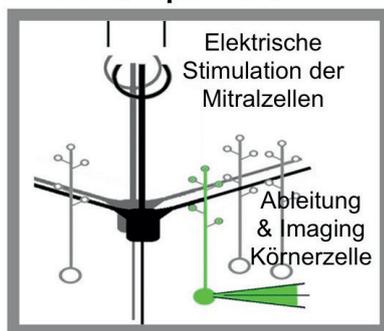
(3) Körnerzellen besitzen kein eigenes Axon, sondern setzen Transmitter nur aus diesen *Spines* frei. Trotzdem können sie regenerative elektrische Signale, die Aktionspotentiale (AP), erzeugen!

Einer unserer ersten Befunde war, dass die Körnerzell-APs sich im Dendriten der Körnerzellen mit ähnlicher Effizienz

A Schema Reziproke Synapse



B Schema Experiment



3 Synaptische Antworten in reziproken *Spines* der Körnerzelle **a** Erregung des *Spines* durch Freisetzung von Glutamat aus der Mitralzelle infolge eines Aktionspotentials (AP) und rekurrente *Hemmung* der Mitralzelle durch Freisetzung des hemmendem Transmitters GABA aus dem *Spine*. Na_v: Spannungsabhängige Na⁺-Ionenkanäle **b** Schema: Stimulation von Mitralzellen und Füllung einer Körnerzelle via Patch-Pipette (siehe Kasten S. 32) mit Ca²⁺-sensitivem Farbstoff **c** Repräsentatives Experiment an einer Körnerzelle zur Beobachtung einzelner synaptischer Eingänge. Rechts unten: erregendes postsynaptisches Potential gemessen als Depolarisation des Membranpotentials V_m am Zellkörper in Antwort auf Mitralzellstimulation. Farbige Spuren darüber: gleichzeitige Ca²⁺-Signale in einzelnen *Spines*; keine Antwort war messbar im weißen *Spine* und in den grau markierten *Spines* der Zelle. mV: Milli-Volt, Messeinheit für Membranpotential. %ΔF/F: Messeinheit für die Amplitude von Ca²⁺-Signalen relativ zum Ruhezustand. Nach: Egger, Svoboda, Mainen. *J. Neurosci.* 25 (2005), S. 3521–3530 © Veronica Egger

ausbreiten wie APs in Axonen anderer Neuronen. Dafür haben wir mit Hilfe von elektrischen Ableitungen in Kombination mit Zwei-Photonen-Mikroskopie [Kasten S. 32] von einzelnen Körnerzellen gezeigt, dass ein am Zellkörper durch Strominjektion ausgelöstes AP zu einem substantiellen Ca²⁺-Einstrom im gesamten Dendriten und seinen *Spines* führt. Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass spannungsabhängige Na⁺- und Ca²⁺-Ionenkanäle im ganzen Dendriten samt *Spines* in großer Dichte vorhanden sind. Eine Freisetzung von Transmitter aus den *Spines* infolge eines APs erscheint somit sehr wahrscheinlich.

Kann der Mikroschaltkreis im reziproken *Spine* nun unabhängig von „seiner“ Körnerzelle agieren, d. h. Transmitter freisetzen, ohne dass ein globales AP vorangig? Da Freisetzung von Transmitter stets durch Ca²⁺-Einstrom ausgelöst wird [Kas-

ten S. 28], haben wir zunächst untersucht, ob einzelne aktive Mitralzelleingänge Ca²⁺-Einstrom in den Körnerzell-*Spine* auslösen. Hierfür wurden die Mitralzellen über eine in einem Glomerulus platzierte Stimulations-elektrode erregt, d. h. zum Feuern von APs gebracht. Wie oben wurde gleichzeitig das Membranpotential von einer mit Ca²⁺-sensitivem Farbstoff befüllten Körnerzelle abgeleitet [3b und c]. Bei Registrierung eines postsynaptischen Potentials (PSP) am Zellkörper begann die Suche nach einzelnen aktivierten *Spines*. Obwohl dieses Experiment zunächst so schwierig erschien wie die sprichwörtliche Suche nach der Nadel im Heuhaufen, stellte sich heraus, dass die Wahrscheinlichkeit für das Finden einzelner aktivierter *Spines* mit einer robusten Ca²⁺-Antwort in dieser experimentellen Konfiguration ausreichend hoch ist. Dieses postsynaptische Ca²⁺-Signal ist auf den *Spine*-Kopf beschränkt. Durch Anwendung

pharmakologischer Substanzen ergab sich, dass das Signal im Wesentlichen durch synaptische Rezeptoren und spannungsabhängige Ca²⁺-Kanäle vermittelt wird.

Diese Befunde lieferten starke Indizien für die chemische und elektrische Isolation des *Spine*-Kopfs, und damit für folgende Arbeitshypothese: **Infolge eines synaptischen Eingangs kommt es zu einer strikt lokalen Aktivierung von spannungsabhängigen Na⁺-Kanälen, d. h. zu einem *Spine*-Aktionspotential, so dass der *Spine* als Mini-Neuron arbeiten kann.**

Der Körnerzell-*Spine* als Mini-Neuron?

Im Zusammenhang mit Diskussionen über die Funktion von *Spines* wurde solch ein *Spine*-AP bereits in den 1960er Jahren

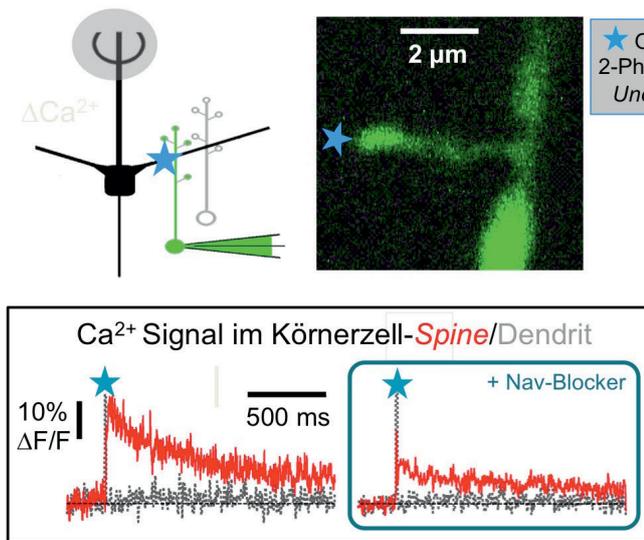
von Theoretikern vorhergesagt. Simulationen des elektrischen Membranpotentials im *Spine* ergaben, dass ein hoher Widerstand des *Spine*-Halses für ein lokales AP entscheidend ist. Messungen der Diffusion über den *Spine*-Hals von Neuronen des Hippocampus 1996 schienen diese Idee zunächst zu widerlegen. Andererseits zeigen elektronenmikroskopische Aufnahmen, dass der lange Hals der reziproken Körnerzell-*Spines* häufig durch Zellorganellen wie

mit einem Pfropfen verschlossen ist. Diese spezielle Situation ließ die Vorstellung eines isolierten *Spine*-APs plausibel erscheinen.

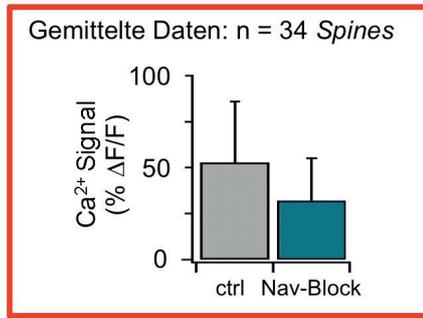
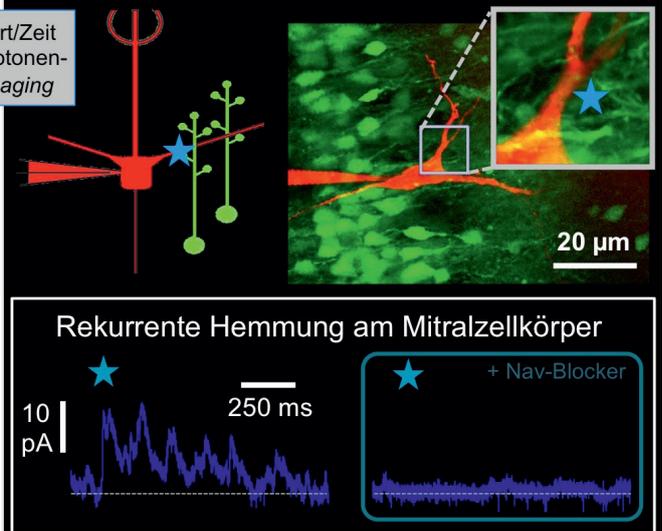
Mit pharmakologischen Methoden allein kommt man jedoch in dieser Frage nicht weiter, da eine Blockade der spannungsabhängigen Na⁺-Kanäle, die APs ermöglichen, auch zu einer Blockade der Freisetzung aus dem Mitralzeldendriten führt [siehe 3a]. Auch kann das lokale Membranpotential im *Spine* noch nicht di-

rekt gemessen werden. Erst eine neuartige optische Methode, das sogenannte Zwei-Photonen-*Uncaging* vom Transmitter, erlaubte es, gezielt am *Spine* die Freisetzung aus der Mitralzelle durch photolytische Bereitstellung von Glutamat zu ersetzen [Kasten 5. 32]. Damit gelang uns der Nachweis, dass in der Tat die spannungsabhängigen Na⁺-Kanäle im Körnerzell-*Spine* lokal aktiviert werden und damit den postsynaptischen Ca²⁺-Einstrom maß-

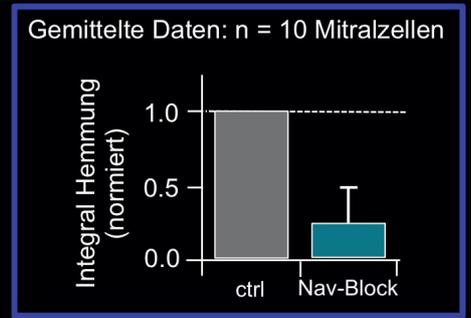
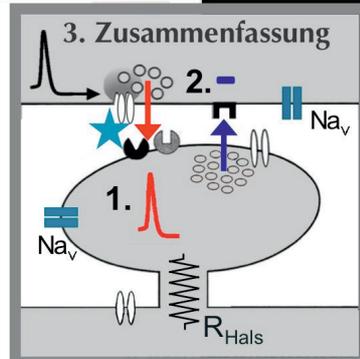
1. Nachweis des lokalen *Spine*-APs



2. Nachweis der Freisetzung von hemmendem Transmitter durch *Spine*-AP



Nach Bywalez et al. 2015



V. Rupprecht, V. Egger, unpubliziert

4 Experimenteller Nachweis der Mini-Neuron-Hypothese: 1 *Uncaging* des Transmitters Glutamat an einzelnen Körnerzell-*Spines*. Das lokale Ca²⁺-Signal im *Spine* nimmt durch Blockade der spannungsabhängigen Na⁺-Kanäle mittels Applikation eines Na_v-Blockers, d. h. einer pharmakologischen Substanz, die spezifisch die Öffnung von Nav-Kanälen verhindert, deutlich ab. Oben: Schema des Experiments und einzelner *Spine* mit Ort des *Uncaging* (türkiser Stern). Mitte, schwarz umrandet: Beispiel eines einzelnen Experiments: Links Ca²⁺-Signal in obigem *Spine* (rot) und benachbarten Dendriten (grau) in Antwort auf *Uncaging*. Rechts dasselbe Signal nach Applikation eines Nav-Blockers. Unten, rot umrandet: Kumulative Darstellung der gemittelten Messwerte mehrerer Experimente. Die Amplitude des Ca²⁺-Signals nimmt hochsignifikant ab (Fehlerbalken: Streuung um den Mittelwert). Abbildung nach Bywalez, Patirniche... Egger. Neuron 85 (2015), S. 590–601. 2 *Uncaging* des Transmitters Glutamat am Dendriten einer via Patch-Pipette rot gefärbten Mitralzelle, das in dieser zu einem hemmenden Signal durch den Transmitter GABA führt, ausgelöst durch Aktivierung des reziproken Mikroschaltkreises im Körnerzell-*Spine*. Nach Blockade der spannungsabhängigen Na⁺-Kanäle wird dieses rekurrente postsynaptische Signal fast vollständig unterdrückt. Anordnung wie in 1. Oben: Rot: Mitralzelle. Grün: genetisch markierte Körnerzellen, was die Identifizierung von *Spines* gestattet. Mitte, weiß umrandet: Einzelnes Experiment. In diesem Fall wurde das Signal als Strom und nicht als Potentialänderung gemessen, daher die Einheit pA (Pico-Ampere) und das umgekehrte Vorzeichen des Signals – gemäß Konvention haben hemmende synaptische Ströme ein positives und erregende synaptische Ströme ein negatives Vorzeichen. Unten, blau umrandet: Aufgrund der lang anhaltenden Stromantwort wurde das Integral der Antwort ausgewertet, nicht die Amplitude, und zur besseren Vergleichbarkeit auf das Integral der Antwort vor der Nav-Blocker-Applikation normiert. Wieder nimmt das gemittelte Integral hochsignifikant ab. 3 Zusammenfassung im grau umrandeten Kasten: Schematische Darstellung der wesentlichen Befunde aus 1: lokales AP im *Spine*, aus 2: Hemmung der Mitralzelle infolge Freisetzung von GABA durch das lokale AP. Für die lokale Generierung eines APs im *Spine* ist ein hoher Widerstand des *Spine*-Halses R_{Hals} erforderlich. © Veronica Egger

geblich verstärken [4.1]. Simulationen in Kollaboration mit theoretischen Neurowissenschaftlern der Gruppe Herz in München ermöglichten uns dann Vorhersagen des für ein *Spine*-AP mindestens benötigten Widerstands des *Spine*-Halses im Bereich von 1 Giga-Ohm. Somit liegen überzeugende Indizien für die Existenz eines lokalen APs vor. Jedoch bleibt die Frage, ob ein *Spine*-AP denn tatsächlich zur Freisetzung des hemmenden Transmitters GABA auf die Mitralzelle führen kann?

Hierzu laufen momentan Experimente, bei denen nun von fluoreszent markierten Mitralzellen abgeleitet wird. Der reziproke Mikroschaltkreis wird über Zwei-Photonen-*Uncaging* an Körnerzell-*Spines* erregt [4.1], wodurch es in der Tat möglich ist, hemmende PSPs in der Mitralzellen zu detektieren – also rekurrente Antworten auf die Erregung eines einzelnen *Spines*. Die Blockade spannungsabhängiger Na⁺-Kanäle reduziert diese PSPs sehr stark, so dass, wie vermutet, ein lokales AP im *Spine* an der Freisetzung beteiligt sein muss.

Insgesamt konnten wir so zeigen, dass die reziproken *Spines* auf den Dendritenbäumen der Körnerzellen tatsächlich lokale Reize selbständig verarbeiten können. Sie operieren dabei als „Mini-Neuronen“, unabhängig vom Erregungszustand der restlichen Körnerzelle. Somit verfügen Neuronen über ein deutlich größeres Repertoire zur Informationsverarbeitung als bisher angenommen.

Ausblick: Weitere Pläne und andere reziproke Synapsen

In Zukunft möchten wir untersuchen, wie die *Spines* einer Körnerzelle miteinander kooperieren und inwiefern lokale *Spine*-APs für sensorisch evozierte Netzwerkaktivität im *Bulbus* relevant sind. Neuartige spannungssensitive Farbstoffe könnten bald direkte Messungen des *Spine*-Membranpotentials gestatten.

Zur Rolle reziproker *Spines* existieren bereits spannende Befunde aus der Arbeitsgruppe von Thomas Kuner in Heidelberg: Durch Körnerzell-spezifische genetische Manipulationen wurde der postsynaptische Ca²⁺-Einstrom in die *Spines* entweder erhöht oder reduziert. Bei erhöhtem Ca²⁺-Einstrom konnten Mäuse mit entsprechend modifiziertem *Bulbus* Unterscheidungen zwischen ähnlichen Düften (wie z. B. zwei binären Mischungen 60 %

Methoden

Elektrophysiologische Ableitung synaptischer Aktivität

Bei der Ganzzellaufleitung wird über eine Glaselektrode, die sogenannte Patch-Pipette, mittels Unterdruck ein winziges Loch in der Membran eines Nervenzellkörpers erzeugt. Diese leitende Verbindung ins Zellinnere erlaubt das Messen der elektrischen Aktivität von Neuronen, sowohl von Aktions- als auch postsynaptische Potentialen einzelner aktiver Synapsen. Letztere können aufgrund der Distanz zum Ort des Geschehens im Dendriten nur abgeschwächt gemessen werden. Die Technik kann auch genutzt werden, um das Neuron mit Farbstoff zu befüllen. Unsere Experimente werden in akuten Präparaten des *Bulbus* der Ratte durchgeführt, in denen neuronale Aktivität mehrere Stunden untersucht werden kann.

Zwei-Photonen-Mikroskopie lokalen Ca²⁺-Einstroms und optisches Schalten von Synapsen

Das Ca²⁺ (Calcium-Ion) ist ein wichtiger Botenstoff, der im Inneren eines Neurons in einer sehr geringen Konzentration von 50 nM vorliegt – sprich 20 Ca²⁺-Ionen pro Körnerzell-*Spine*. Die extrazelluläre Ca²⁺ Konzentration ist 10000 Mal höher, was im Fall des Öffnens eines Ca²⁺-durchlässigen Ionenkanals infolge eines APs oder PSPs zu Ca²⁺-Einstrom in die Zelle führt. Ca²⁺-sensitive Fluoreszenz-Farbstoffe können Ca²⁺ vorübergehend binden und leuchten dann heller. Eine Erhöhung der Ca²⁺-Konzentration in einem angefärbten Neuron führt also zu einer Zunahme der Fluoreszenz. Mit herkömmlichen Methoden ist in Gewebepreparaten aufgrund der Streuung des Lichts eine Detektion dieser Fluoreszenzänderung schwierig. Jedoch kann mit Hilfe der sogenannten **Zwei-Photonen-Fluoreszenzmikroskopie** Aktivität einzelner Synapsen in ihren *Spines* auch tief im Gewebe mit hoher Auflösung (1 µm) sichtbar gemacht werden. Das Prinzip der Zwei-Photonen-Anregung besagt, dass das Fluoreszenzfarbstoffmolekül statt eines Photons zwei Photonen mit entsprechend niedrigerer Energie absorbiert. Allerdings sind zum Erreichen der nötigen Anregungsintensität starke Laser notwendig. 1931 sagte die Physikerin Maria Göppert-Mayer den Zwei-Photonen-Effekt vorher, geeignete Lichtquellen wurden jedoch erst viel später entwickelt. Synaptische Ca²⁺-Änderungen in *Spines* konnten erstmals 1995 auf diese Weise nachgewiesen werden.

Die hohe räumliche Auflösung und Lichtintensität der Zwei-Photonen-Anregung gestatten es inzwischen, Transmittermoleküle, die in chemische Käfige eingebaut sind, mittels Photolyse punktgenau freizusetzen (**Zwei-Photonen-*Uncaging***) und damit einzelne Synapsen willkürlich zu schalten – ideal für die Analyse des komplexen reziproken Schaltkreises.

Ananas, 40 % Banane und 40 % Ananas, 60 % Banane) sogar schneller treffen als normale Mäuse. Mäuse mit reduziertem Ca²⁺-Einstrom benötigten dagegen länger für die Unterscheidung. Die einfache Unterscheidung der reinen Komponenten (Ananas oder Banane) wurde durch die Manipulationen nicht verändert. Merkwürdigerweise scheint die erste Variante somit der natürlichen Evolution überlegen. Bei genauerer Untersuchung zeigte sich aber, dass diese Mäuse größere Schwierigkeiten haben, sich auf die Unterscheidung eines anderen Duftpaars umzustellen als ihre normalen Kollegen.

Reziproke Synapsen finden sich auch in anderen Hirnarealen, beispielsweise in

der Netzhaut und im Thalamus, und arbeiten dort möglicherweise ähnlich. Der Thalamus dient nach heutigem Verständnis als zentrale Kontrollstation, die z. B. für die Entkopplung von Kortex und Peripherie während des Schlafens verantwortlich ist. Im Gegensatz zu allen anderen Sinnen enthält die Riechbahn keine thalamische Zwischenstation, was mit ihrem entwicklungs geschichtlich hohen Alter zusammenhängt. Möglicherweise werden Funktionen des Thalamus im Fall des Riechens durch den *Bulbus* und hier insbesondere durch die reziproke Synapse zwischen Mitral- und Körnerzellen wahrgenommen.



Literatur

Nixon Abraham, Veronica Egger, Daria Shimshek ... Thomas Kuner, Synaptic inhibition in the olfactory bulb accelerates odor discrimination in mice. *Neuron* 65 (2010), S. 399–411.
Wolfgang Bywalez, Dinu Patirniche, Vanessa

Rupprecht ... Veronica Egger, Local postsynaptic voltage-gated sodium channel activation in dendritic spines of olfactory bulb granule cells. *Neuron* 85 (2015), S. 590–601.
Wolfgang Bywalez, Tiffany Ona-Jodar, Michael

Lukas ... Veronica Egger, Dendritic arborization patterns of small juxtglomerular cell subtypes within the rodent olfactory bulb. *Frontiers in Neuroanatomy* 10 (2017), doi: 10.3389/fnana.2016.00127.

Prof. Dr. **Veronica Egger** (*1970) wurde am Ende ihres Physikstudiums an der TU München in den Bann der Neurowissenschaften gezogen. Nach einer Promotion zur Repräsentation der Schnurrhaare im Rattenhirn bei Bert Sakmann in Heidelberg (1999) konnte sie als Postdoktorandin in Cold Spring Harbor (USA) dank DFG-Förderung ihr hier geschildertes eigenes Forschungsthema in Angriff nehmen und als Assistentin an der Vorklinik der LMU München weiterverfolgen. Seit 2011 ist sie Leiterin einer BMBF-geförderten Nachwuchsgruppe zur Erforschung der reziproken Synapse (Dotierung 1,6 Mio. € für 7 Jahre), zunächst am Biologie-Zentrum der LMU, seit 2013 als Professorin am Zoologischen Institut der Universität Regensburg. Ihre Freizeit gehört ihrer Familie und dem Draußen-Unterwegs-Sein, am besten gleichzeitig.



© privat



Bewirb Dich für
unser Pflegeteam!
www.korian-karriere.de

Bestens umsorgt in Maxhütte-Haidhof!

Wir bieten Ihnen:

- Stationäre Pflege • Kurzzeitpflege
- Demenzpflege • Verhinderungspflege
- Ausflüge • Vielfältige Veranstaltungen

Ernst-von-Fromm-Straße 6
93142 Maxhütte-Haidhof
Telefon: 09471 30852-0
E-Mail: maxhuette@korian.de
www.korian.de

