

# INSTITUT FÜR PHYSIOLOGIE

Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg  
Tel. +49 (0)391 67 15885; Fax +49 (0)391 67 15819  
iphy@medizin.uni-magdeburg.de  
www.med.uni-magdeburg.de/fme/institute/iphy

## 1. Leitung

Prof. Dr. rer.nat. Volkmar Leßmann

## 2. Hochschullehrer

Prof. Dr. rer. nat. Volkmar Leßmann

Prof. Dr. rer. nat. Thomas Voigt

Jun.-Prof. Dr. rer. nat. Tanja Brigadski

## 3. Forschungsprofil

- Untersuchung der zellulären Grundlagen für Lern- und Gedächtnisprozesse in Hippocampus, Neocortex und Amygdala von Ratten und Mäusen
- Funktion neurotropher Peptide (z.B. BDNF) für die Entwicklung und Regulation der Stärke der synaptischen Übertragung
- Bedeutung des neurotrophen Faktors BDNF bei Morbus Alzheimer und andere Formen der Demenz
- Untersuchung der molekularen Mechanismen der Sekretion von Neuropeptiden
- Kombination von molekularbiologischen, elektrophysiologischen, verhaltensphysiologischen und bildgebenden Verfahren auf dem Niveau kultivierter neuronaler Netzwerke und intakter Hirnschnittpräparate
- Untersuchungen zur RNA-Interferenz in Neuronen: siRNA- und miRNA-vermittelter knockdown neuronenspezifischer Gene in kultivierten Hirnschnitten
- Untersuchung der molekularen Grundlagen für die Selbstorganisation sich entwickelnder synaptischer Netzwerke

## 4. Serviceangebot

- BDNF-Proteinbestimmungen (ELISA-Messungen) in Blut und Gewebe aus humanen und tierischen Proben
- PCR-Bestimmung des Val66Met BDNF Single-Nukleotid-Polymorphismus (SNP)

## 5. Methoden und Ausrüstung

- Intra- und extrazelluläre elektrophysiologische Methoden
- Patch-Clamp-Techniken
- Hochauflösende Epi-Fluoreszenz-Mikroskopie
- Konfokal-Mikroskopie (Zeiss LSM 780)
- 2-Photonen-Laserscan-Mikroskopie
- Mikrostimulation, Mikroinjektion, Mikroiontophorese
- Intrazelluläre Färbungen, Tracing-Techniken
- Immunocytochemie, Histochemie
- Verschiedene lichtmikroskopische Kontrastierungsverfahren

- Proteinbiochemie (Western Blots)
- Molekularbiologie (PCR, Konstruktion von Expressionsplasmiden)
- Real-time PCR
- Neuronale Zellkulturen (dissoziierte Neurone); sekundäre Zelllinien
- Akute Hirnschnittpräparate
- Organotypische Hirnschnittkulturen
- Verschiedene Transfektionsverfahren (z.B. Einzelzell-Elektroporation)
- Verschiedene verhaltensphysiologische Methoden (z.B. Konditionierung, Water-maze)
- Stereotaktische Injektionen

## 6. Forschungsprojekte

**Projektleiter:** Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Projektbearbeiter:** Jun.-Prof. Dr. Tanja Brigadski, Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Förderer:** Sonstige; 01.01.2011 - 30.12.2014

### **Das Zusammenspiel von $\beta$ -Amyloid- und BDNF-Signalwegen bei der Neurogenese und der neuronalen Differenzierung im Hippokampus (Leibniz Graduiertenschule "Synaptogenetics")**

Ein charakteristisches neuropathologisches Merkmal der Alzheimer-Demenz (AD) sind die stark atrophischen Veränderungen im Bereich des Hippokampus. Diese Hirnregion spielt eine wesentliche Rolle bei der Gedächtniskonsolidierung und besitzt die Fähigkeit anhaltender Neurogenese. Entgegen der charakteristischen Neurodegeneration bei der AD deuten neue Studien auf

(a) eine gesteigerte Neurogenese im Hippokampus,

(b) eine verstärkte Expression von zellzyklus-spezifischen Proteinen, sowie

(c) eine erhöhte Anzahl unvollständig ausdifferenzierter Neurone hin, die durch Studien mit AD-Mausmodellen bestätigt werden. Neben der Proliferation von neuronalen Vorläuferzellen konnten genomische Veränderungen wie Aneuploidie bei AD-Patienten beobachtet werden. Es wird vermutet, dass u.a. eine aberrante Neurogenese zur Entstehung aneuploider Zellen führt (Zekanowski and Wojda, 2009). Diese unvollständigen bzw. aberranten Neurogenese-prozesse führen schließlich zur Degeneration der Neurone. Das für die AD zentrale Peptid  $\beta$ -Amyloid konnte für eine verstärkte Proliferation sowie für die Entstehung von Chromosomenaberrationen verantwortlich gemacht werden (Granic et al., 2010). Die zugrundeliegenden Mechanismen für das Ausbleiben der Differenzierung zu reifen Neuronen und für das Absterben der Zellen sind unbekannt. Verschiedene Studien legen jedoch nahe, dass ein Mangel an neurotrophen Faktoren für diese Prozesse mitverantwortlich ist. Neurotrophine und ihre Rezeptoren sind wesentliche Faktoren für die Entwicklung des zentralen Nervensystems und Änderungen in ihrem Expressionsniveau treten bei einer Vielzahl neurodegenerativer Erkrankungen auf. Jüngste Studien u.a. in AD-Mausmodellen lassen vermuten, dass ein gestörtes Gleichgewicht der BDNF-Rezeptor-Expression verantwortlich für eine gestörte Differenzierung (Klau et al., 2001; Hartmann et al., 2004a) sowie für die Degeneration aneuploider Neurone ist (Dorsey et al., 2006). Das Zusammenspiel von  $\beta$ -Amyloid und BDNF bei der Entstehung und Reifung von Neuronen ist bisher jedoch nicht geklärt und soll in diesem Projekt während der Proliferations- und Differenzierungsphase in organotypischen Hirnschnittkulturen mit Hilfe BrdU-Färbung untersucht werden (Heck et al., 2007). Eine Charakterisierung der neu gebildeten Neurone erfolgt mittels immunhistochemischer und elektrophysiologischer Methoden (Karl et al., 2005). Darüber hinaus soll das Auftreten von genomischen Aberrationen und der Expressionsstatus neuronaler Gene in Abhängigkeit von  $\beta$ -Amyloid und BDNF untersucht werden.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Projektbearbeiter:** Dr. Susanne Meis, Dr. Thomas Endres

**Kooperationen:** Prof. Dr. Herbert Schwegler; Prof. Dr. Oliver Stork; Prof. Dr. Rüdiger Linke

**Förderer:** DFG; 01.01.2011 - 31.12.2015

### **Die Rolle von BDNF für die Langzeit-Potenzierung in der Amygdala während der Furchtkonditionierung**

Die Langzeitpotenzierung (LTP) ist ein anerkanntes zelluläres Modell für die Speicherung von Gedächtnisinhalten und für Lernvorgänge. In der lateralen Amygdala (LA) korreliert die LTP der thalamischen Eingänge mit aversivem Verhalten (Angstkonditionierung). Die Expression von BDNF in der LA scheint für eine erfolgreiche Angstkonditionierung essentiell zu sein.

Unsere Vorarbeiten zeigen, daß die synaptische BDNF-Sekretion durch dieselben intrazellulären Signalkaskaden reguliert wird, die im Hippocampus und Neocortex die LTP kontrollieren. Unsere methodischen Vorarbeiten lassen erkennen, daß die BDNF-Ausschüttung auf dem Niveau einzelner Zellen in Hirnschnitten detektiert, und manipuliert werden kann.

In diesem SFB-Teilprojekt sollen folgende Fragen geklärt werden:

- a) Mechanismen der Sekretion von BDNF an den glutamatergen Synapsen zwischen Thalamus und lateraler Amygdala
- b) Elektrophysiologische Untersuchungen der BDNF-abhängigen synaptischen Plastizität an diesen Synapsen
- c) Untersuchung der Furchtkonditionierung im Zusammenhang mit dem synaptischen BDNF-Stoffwechsel

Wir planen elektrophysiologische Experimente an Hirnschnitten der Amygdala von Ratten und Mäusen. Durch gleichzeitige Visualisierung der synaptischen BDNF-Sekretion mittels konfokalem Imaging von BDNF-GFP, möchten wir einen Zusammenhang zwischen BDNF-Ausschüttung (Vesikelfusion) und daraus resultierenden synaptischen Modifikationen (BDNF/TRPC-abhängige Ströme, LTP) aufzeigen. Durch getrennte Manipulation der BDNF-Expression in prä- bzw. postsynaptischen Neuronen möchten wir die LTP-Mechanismen (prä- vs. postsynaptischer TrkB, Einbau neuer AMPA-Rezeptoren) an der Thalamus-LA-Synapse klären. Durch Reduktion von BDNF in der LA in vivo (knockdown von BDNF, Überexpression inhibitorischer TrkB.T1-Rezeptoren) mit anschließender Furchtkonditionierung möchten wir klären, ob BDNF-Signalwege für dieses aversive Lernen essentiell sind.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Kooperationen:** Prof. Dr. Beat Lutz (Mainz)

**Förderer:** DFG; 01.01.2009 - 31.12.2013

**Generierung und Charakterisierung einer knock-in Maus, die BDNF-YFP unter Kontrolle der endogenen regulatorischen Elemente des BDNF-Gens exprimiert.**

BDNF (brain-derived neurotrophic factor) ist ein aus Nervenzellen des ZNS sekretiertes Peptid aus der Familie der sog. Neurotrophine. Neben der Steuerung von Wachstums- und Überlebensfunktionen während der neuronalen Entwicklung erfüllt BDNF wichtige Funktionen als interzellulärer Botenstoff bei der synaptischen Plastizität (die Grundlage für Lern- und Gedächtnisprozesse ist) und bei der Pathophysiologie neurodegenerativer Erkrankungen.

Um diese Funktionen besser zu verstehen, ist es von zentraler Bedeutung, den Transport des Proteins entlang von Axonen und Dendriten und die lokale (synaptische) Sekretion des Faktors in situ und in vivo sichtbar zu machen. Zu diesem Zweck wird in dem vorliegenden Projekt die Generierung einer Mausmutante angestrebt, die funktionelles BDNF-YFP (yellow fluorescent protein) unter Kontrolle der endogenen regulatorischen Elemente des BDNF-Genlokus exprimiert. Dieses Mausmodell wird es erstmalig erlauben, die BDNF-Synthese und -Ausschüttung unter physiologischen Expressionsbedingungen mit Hilfe hochauflösender Fluoreszenz-Mikroskopie zu verfolgen und mit synaptischen Plastizitätsvorgängen zu korrelieren. Die Mausmodelle sollen dann mit Mauslinien gekreuzt werden, die humane Pathophysiologien modellieren (z.B. Morbus Alzheimer, Morbus Huntington). In den resultierenden doppelt-transgenen Mäusen können dann krankheitsrelevante Veränderungen des BDNF-Stoffwechsels live analysiert werden.

---

**Projektleiter:** Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Projektbearbeiter:** Dr. Thomas Munsch, Prof. Dr. Volkmar Leßmann;

**Förderer:** DFG; 01.04.2010 - 30.09.2014

**Molekulare Regulation der Neuropeptid-Freisetzung aus sekretorischen Granula**

In diesem Projekt werden mit Hilfe von Live cell imaging-Experimenten die molekularen Mechanismen der Neuropeptid-Freisetzung in Neuronen des ZNS untersucht. Durch siRNA-vermittelten knockdown sekretorisch relevanter Proteine (z.B. CAPS 1/2, Munc 13/18 und Complexin) in kultivierten Hirnschnitten und dissoziierten Neuronen des Hippocampus soll geklärt werden, welche Funktionen diese Proteine bei der Bildung und bei der Dilatation der Fusionspore von Neuropeptid-Vesikeln und bei der Ausschüttung der Peptide (z.B. BDNF) spielen. Darüber hinaus soll die Modulation dieser sekretionsrelevanten Proteine durch die Proteinkinase A und die CaMK II, die beide essentiell für die Neuropeptid-Sekretion sind, geklärt werden.

**Projektleiter:** Dr. Thomas Endres

**Projektbearbeiter:** Laura Psotta, Dr. Thomas Endres, Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Förderer:** Haushalt; 01.04.2010 - 31.03.2012

**In vivo Untersuchungen zur protektiven Wirkung von BDNF (brain-derived neurotrophic factor) auf die A $\beta$ -Toxizität bei Morbus Alzheimer**

In diesem Projekt wird in einem Mausmodell des Morbus Alzheimer untersucht, wie sich die Reduktion des Neurotrophins BDNF hinsichtlich des Auftretens und des Fortschreitens des Gedächtnisverlustes bei dieser Erkrankung auswirkt.

Die häufigste Ursache für eine Demenzerkrankung ist die Alzheimersche Krankheit (AK). Ein wesentlicher Teil der Alzheimerpathologie besteht in der Bildung von Plaques, die durch den inkorrekten Abbau des Amyloid-Vorläuferproteins (APP) zu zelltoxischem A $\beta$ 42 entstehen. Während die histologisch nachweisbaren Plaques postum ein äußerlich sichtbares Zeichen der AK beim Menschen und in Tiermodellen darstellen, werden die degenerativen Effekte bereits durch Vorläufer der Plaques (A $\beta$ -Dimere und -Oligomere) ausgelöst. Die Mechanismen, wie die A $\beta$ -Oligomere und -Plaques zum Zelltod von Nervenzellen führen sind bislang noch weitgehend unbekannt. Allerdings vermutet man, dass es eine Reihe von Proteinen gibt, die Neurone vor der A $\beta$ -Toxizität schützen können. Eines dieser möglichen Proteine ist BDNF (brain-derived neurotrophic factor), ein von Nervenzellen endogen synthetisiertes und sekretiertes Peptid, das das Überleben und die Differenzierung von Neuronen sowie synaptische Plastizität fördert. Erste Studien in Tiermodellen zeigen, dass eine Erhöhung von exogen hinzugefügtem BDNF die toxischen Eigenschaften von A $\beta$  reduzieren und somit auch die Alzheimerpathologie verzögern kann. In wie weit ein chronischer Mangel an endogenem BDNF die Ausbildung der AK beschleunigen kann, wurde bislang noch nicht untersucht. Dieser Ansatz ist klinisch hoch relevant, da der endogene BDNF-Gehalt im Hirngewebe durch äußere Faktoren und Training (z.B. Sport, Lernen) sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell gesteigert werden kann. In dem hier vorliegenden Projekt möchten wir die Auswirkungen eines chronischen BDNF-Mangels in heterozygoten BDNF-k.o.-Mäusen auf die Entstehung der Alzheimerpathologie und deren kognitive Folgen im Tiermodell untersuchen. Nach Abschluss der jeweiligen Verhaltensexperimente werden die für die jeweiligen Lernaufgaben relevanten Gehirnareale (z.B. Amygdala, Hippokampus) entnommen und auf Plaqueablagerungen und BDNF-Gehalt hin untersucht.

## 7. Veröffentlichungen

### **Begutachtete Zeitschriftenaufsätze**

**Endres, Thomas; Lessmann, Volkmar**

Age-dependent deficits in fear learning in heterozygous BDNF knock-out mice

In: Learning & memory. - Plainview, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Bd. 19.2012, 12, S. 561-570;

... [weitere Infos](#); 2012

[Imp.fact.: 4,219]

**Klueva, Julia; Lima, Ana D. de; Meis, Susanne; Voigt, Thomas; Munsch, Thomas**

Hyperpolarization-activated cation current contributes to spontaneous network activity in developing neocortical cultures

In: Neurosignals. - Basel: Karger, Bd. 20.2012, 1, S. 35-47; ... [weitere Infos](#); 2012

[Imp.fact.: 2,111]

**Laudes, Thomas; Meis, Susanne; Munsch, Thomas; Lessmann, Volkmar**

Impaired transmission at corticothalamic excitatory inputs and intrathalamic GABAergic synapses in the ventrobasal thalamus of heterozygous BDNF knockout mice

In: Neuroscience. - Oxford: Elsevier, Bd. 222.2012, S. 215-227; ... [weitere Infos](#); 2012

[Imp.fact.: 3,380]

**Meis, Susanne; Endres, Thomas; Leßmann, Volkmar**

Postsynaptic BDNF signalling regulates long-term potentiation at thalamo-amygdala afferents

In: The journal of physiology. - Oxford: Blackwell, Bd. 590.2012, 1, S. 193-208; ... [weitere Infos](#); 2012

[Imp.fact.: 4,718]