



MEDIZINISCHE  
FAKULTÄT

# Forschungsbericht 2014

Institut für Physiologie

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

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

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (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 Amyg-da-la 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

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

**Förderer:** Deutsche Forschungsgemeinschaft (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:** Jun.-Prof. Dr. Tanja Brigadski

**Projektbearbeiter:** Prof. Dr. Volkmar Leßmann

**Förderer:** Fördergeber; 01.01.2011 - 30.06.2015

**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 Hirnschnitt-Kulturen mit Hilfe BrdU-Färbung untersucht werden (Heck et al., 2007). Eine Charakterisierung der neu gebildeten Neurone erfolgt mittels immunhisto-chemischer 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:** Dr. Thomas Endres

**Projektbearbeiter:** Laura Psotta

**Kooperationen:** PD. Dr. Jörg Bock; Prof. Dr. Elmar Kirches

**Förderer:** Fördergeber; 01.07.2011 - 30.06.2014

**Oxidativer Stress und mitochondriale Dysfunktion in Abhängigkeit von protektiven Paradigmen bei M. Alzheimer**

Unter den neurodegenerativen Veränderungen des Zentralnervensystems ist die Alzheimer'sche Erkrankung die häufigste. Da das Erkrankungsrisiko mit fortschreitendem Lebensalter anwächst, ist davon auszugehen, dass die zunehmende Lebenserwartung in den nächsten Jahrzehnten zu einem dramatischen Anstieg der Fallzahlen in Europa und anderen Teilen der Welt führen wird. Neben dem erheblichen Leidensdruck verursacht die Erkrankung auch erhebliche volkswirtschaftliche Schäden durch den hohen Grad der Pflegebedürftigkeit. Obwohl die Wissenschaft eine zentrale Rolle der Überproduktion des  $A\beta$ -Peptids für die Pathogenese favorisiert, verliefen erste Versuche der therapeutischen Ausnutzung dieses Mechanismus' enttäuschend und die molekularbiologischen Details der Pathogenese sind weiterhin unklar. Dieses Neuronetzwerk untersucht an neuartigen Mausmodellen die Rolle eines zuvor bei Patienten gefundenen chronischen Mangels des neurotrophen Faktors BDNF bei der Genese des Morbus Alzheimer, unter besonderer Berücksichtigung der Gedächtnisleistung in vielfältigen Verhaltenstests und unter Berücksichtigung einer potenziellen Rolle mitochondrialer Störungen, die mit oxidativem Stress einhergehen. Nach hinreichender Charakterisierung bieten die Krankheitsmodelle später die Basis zur Evaluierung von Protektionsstrategien, wie körperliche oder kognitive Stimulation, BDNF-Substitution, Rezeptor-Agonisten oder tiefe Hirnstimulation.



## 7. Veröffentlichungen

### ***Begutachtete Zeitschriftenaufsätze***

#### **Brigadski, Tanja; Leßmann, Volkmar**

BDNF - a regulator of learning and memory processes with clinical potential  
In: e-Neuroforum. - Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, Bd. 5.2014, 1, S. 1-11;

#### **Edelmann, Elke; Leßmann, Volkmar; Brigadski, Tanja**

Pre- and postsynaptic twists in BDNF secretion and action in synaptic plasticity  
In: Neuropharmacology. - Amsterdam [u.a.]: Elsevier Science; Bd. 76, Part C.2014, S. 610-627;  
[Imp.fact.: 4,114]

#### **Kolarow, Richard; Kuhlmann, Christoph R. W.; Munsch, Thomas; Zehendner, Christoph; Brigadski, Tanja; Luhmann, Heiko J.; Leßmann, Volkmar**

BDNF-induced nitric oxide signals in cultured rat hippocampal neurons - time course, mechanism of generation, and effect on neurotrophin secretion  
In: Frontiers in cellular neuroscience. - Lausanne: Frontiers Research Foundation; Bd. 8.2014, Art.-Nr. 323, insges. 12 S.;  
[Imp.fact.: 4,175]

#### **Nocke, Helmut; Meyer, Frank; Lessmann, Volkmar**

Aspekte der Gefäßphysiologie im klinisch-operativen Alltag: Grundbegriffe der Gefäßmechanik  
In: Zentralblatt für Chirurgie. - Stuttgart [u.a.]: Thieme, Bd. 138.2013, insges. 9 S.;  
[Imp.fact.: 0,691]