

JOCHEN KLEIN, PHARMAKOLOGISCHES INSTITUT FÜR
NATURWISSENSCHAFTLER

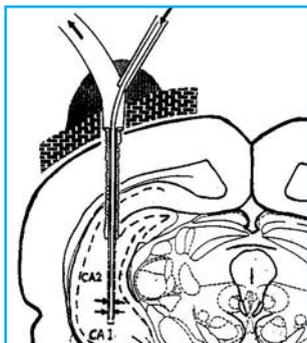
Der Untergang von Nervenzellen und seine medikamentöse Beeinflussung

Unser Arbeitskreis beschäftigt sich mit verschiedenen Projekten, die alle einen Bezug zur Neurodegeneration, d.h. dem Untergang von Nervenzellen im Gehirn, haben. Methodisch arbeiten wir auf mehreren Ebenen der biologischen Organisation: wir verwenden Zellkulturen, isolierte Organe und das Ganztier (Mäuse und Ratten) als Studienobjekte. Häufig wenden wir die Methode der Mikrodialyse an, die einen Zugang zum Extrazellulärraum des Gehirns erlaubt. Die analytischen Schwerpunkte liegen im Bereich der Bestimmung von Neurotransmittern sowie von Metaboliten des Cholin- und des Energiestoffwechsels; daneben verfolgen wir proteinchemische, zell- und molekularbiologische Ansätze.

1) Cholinerge Systeme. Wir beschäftigen uns gezielt mit den zentralen cholinergen Systemen, d.h. Nervenbahnen im Gehirn, die den Neurotransmitter Acetylcholin verwenden. Diese Nervenbahnen sind in fast alle Gehirnfunktionen eingebunden; besonders wichtig sind sie für Aufmerksamkeit, Lernen und Gedächtnisbildung. Die cholinergen Bahnen sind bei vielen Krankheitsbildern betroffen; sie spielen eine Rolle bei Schlafstörungen, motorischen Störungen, Delirium, Psychosen und bei der Entstehung von Suchtkrankheiten. Besonders eng ist der Bezug zur Demenz; bei der Alzheimerschen Erkrankung sterben cholinerge Neurone im Gehirn besonders früh ab und tragen wesentlich zum Zustandsbild bei, das von Verwirrtheit, Orientierungslosigkeit und Gedächtnisschwäche beim Patienten geprägt ist. In unserem Arbeitskreis messen wir die Aktivität cholinergischer Fasern mit verschiedenen Methoden *in vitro* und *in vivo*. Besonders aussagekräftig ist die Bestimmung der extrazellulären Konzentration von Acetylcholin in lebenden Tieren mittels Mikrodialyse. Solche Untersuchungen erlauben z.B. die gleichzeiti-

Abb. 1 Mikrodialyse. (A) Schematische Darstellung der Sondenplatzierung im Hippokampus. (B) Tier während der Mikrodialyse. Die Prozedur ist nicht belastend, weil das Gehirn keine Schmerzrezeptoren hat.

Fig. 1 Microdialysis. (A) Cartoon shows placement of probe in hippocampus. (B) Animal during microdialysis. The procedure is not stressful because brain tissue does not have pain receptors.



JOCHEN KLEIN, INSTITUTE OF PHARMACOLOGY

Neuronal degeneration and pharmacological approaches for drug treatment

Our group is concerned with various projects that center on neurodegeneration, i.e. the death of neurons in the brain. We target various levels of biological organization: we work with cell cultures, isolated organs, and animals (rats, mice). We frequently use microdialysis, a method that allows for the access to the extracellular space of the brain. Analytical endpoints include the measurement of neurotransmitters, metabolites of choline and of energy metabolism. We also employ methods in protein chemistry, cell and molecular biology.

1) Cholinergic systems. We focus on central cholinergic systems, i.e. neuronal pathways in the brain that use acetylcholine as neurotransmitter. These pathways are involved in almost all functions of the brain; they have special significance for attention, learning and memory formation. Dysfunction of central cholinergic pathways is relevant in a range of brain diseases including sleep disturbances, motor dysfunction, delirium, psychosis and drug addiction. They are closely associated with dementia; cholinergic neurons die early during the development and progression of Alzheimer's disease, a process that determines many clinical symptoms of the disease such as confusion, lack of orientation, and memory disorder. In our laboratory, we monitor central cholinergic

activity by measuring the extracellular levels of acetylcholine using microdialysis. The microdialysis technique is carried out in live animals and allows for simultaneous measurements of neural activity and behavior. Inhibitors of acetylcholinesterase are among the drugs that modulate cholinergic function and are therapeutically used to treat Alzheimer's disease; their effects on acetylcholine levels can be directly monitored with our methods. We investigate animal models with genetically induced changes of cholinesterase activities as well as transgenic



ge Messung von Nervenaktivität und Verhalten. Hemmstoffe der Cholinesterasen sind Beispiele für Arzneistoffe, die das cholinerge System beeinflussen und zur Behandlung von Demenzen verwendet werden; ihre Wirkung wird in unseren Modellen durch ihren Einfluss auf den Acetylcholin Spiegel direkt erfasst. Andere Tiermodelle, die wir untersuchen, sind z.B. Tiere mit genetischen Veränderungen der Cholinesterasen oder Tiere mit „Plaques“ und „Tangles“, die in der Arzneistoffforschung als Modelle der Alzheimerschen Krankheit gelten.

2) Schlaganfall. Ein anderer Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe ist der Schlaganfall. Hierbei tritt meist aufgrund eines Gefäßverschlusses eine Mangel durchblutung (Ischämie) im Gehirn auf, die zum Absterben von Nervenzellen führt, die nicht wieder nachwachsen können. Wie bei der Demenz ist auch der Schlaganfall eine häufige Todesursache, noch häufiger aber der Grund für eine Pflegebedürftigkeit der Patienten. Ebenfalls haben beide Erkrankungen gemeinsam, dass sie medikamentös bisher nur unzureichend zu behandeln sind; es fehlen „neuroprotektive“ Arzneistoffe, die das Absterben der Nervenzellen verhindern können. Bei unserer Methodik erleidet ein Versuchstier (Maus) einen Schlaganfall, während wir mittels der Mikro dialysetechnik die Veränderungen verschiedener Metabolite (z.B. Glukose, Laktat) im ischämischen Bereich des Gehirns verfolgen. Das gibt uns die Möglichkeit, die Wirkungen potentieller Arzneistoffe direkt im Schadensgebiet darzustellen und damit den Wirkmechanismus neuroprotektiver Stoffe zu verstehen. Die neurologischen Konsequenzen für das Tier können wir bestimmen, indem wir z.B. motorische Fähigkeiten prüfen. Den neuronalen Zelltod können wir post-mortem durch spezifische Färbeverfahren darstellen. Die jetzigen Arbeiten beschäftigen sich sehr intensiv mit einem neuroprotektiven Inhaltsstoff des Ginkgobaums, dem Bilobalid. Bei allen jetzigen und zukünftigen Studien ist es das Ziel unserer Arbeitsgruppe, Mechanismen der Krankheitsentstehung zu verstehen und potentielle Angriffspunkte für Arzneistoffe zu identifizieren. Dadurch leisten wir einen Beitrag zur verbesserten Therapie von Demenzen und Schlaganfällen am Patienten.

mice that serve as models of Alzheimer’s disease, e.g. mice displaying overexpression and mutations of plaque- and tangle-forming proteins.

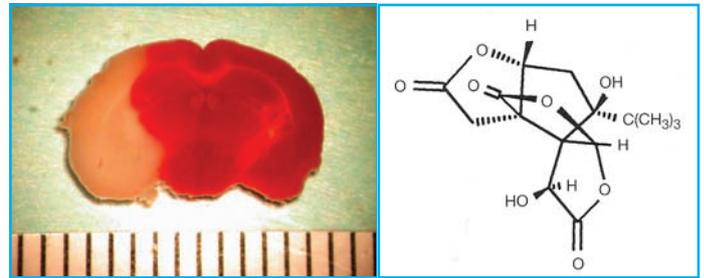


Abb. 2 Schlaganfall. (A) Sichtbarmachung des vom Schlaganfall betroffenen Hirnareals mittels TTC-Färbung. Gesundes Gewebe erscheint rot, geschädigtes Gewebe weiß. (B) Bilobalid, ein neuroprotektiver Wirkstoff von Ginkgo biloba.

Fig. 2 Stroke. (A) Visualization of the brain area affected by stroke using a TTC-based staining procedure. Healthy tissue is red, damaged tissue is white. (B) Bilobalide, a neuroprotective constituent of Ginkgo biloba.

2) Stroke. A second focus of our group is stroke, in which – usually after vessel occlusion – an ischemia occurs in the brain causing the death of neurons that cannot regenerate. Similar to dementia, stroke is a common cause of death, but even more frequently a cause for disability of patients. For both dementia and stroke, effective drugs are elusive; there is an urgent need for neuroprotective drugs that prevent neurons from dying. We use a mouse stroke model that we combine with microdialysis to monitor changes of metabolites (e.g. glucose, lactate) in ischemic areas of the brain. By means of this setup, we are able to describe the effects of potential drugs in situ which furthers our understanding of their neuroprotective mechanisms. The consequences of drug treatment can be tested in neurological procedures that reflect, for instance, motor function. Furthermore, neuronal cell death can be visualized by specific tissue staining procedures. We currently investigate bilobalide, a constituent of the Ginkgo tree with strong neuroprotective properties. Our current and future projects aim to understand mechanisms of disease etiology and to identify targets for successful drug treatment. We strongly believe that our work will contribute to an improved drug therapy of dementia and stroke in patients.

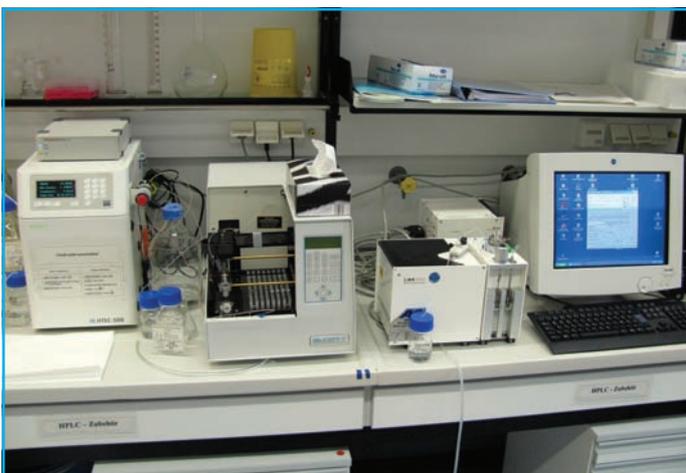


Abb. 3 Analytische Verfahren. (A) HPLC für die Bestimmung von Acetylcholin im femtomol-Bereich. (B) Mikroanalysator für die Messung von Metaboliten des Energiestoffwechsels.

Fig. 3 Analytical procedures. (A) HPLC for the determination of acetylcholine in the femtomol range. (B) Microanalyzer for the measurement of energy metabolites.



LITERATUR / REFERENCES

- [1] A. Mdzinarishvili, C. Kiewert, V. Kumar, M. Hillert and J. Klein (2007) Bilobalide prevents ischemia-induced edema formation in vitro and in vivo. *Neuroscience* 144, 217-222.
- [2] J. Klein (2007) Phenserine. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 16, 1087-1097.
- [3] J. Hartmann, C. Kiewert, E.G. Duysen, O. Lockridge, N.H. Greig and J. Klein (2007) Excessive hippocampal acetylcholine levels in acetylcholinesterase-deficient mice are moderated by butyrylcholinesterase activity. *J. Neurochem.* 100, 1421-1429.
- [4] J. Hartmann, C. Kiewert, E.G. Duysen, O. Lockridge and J. Klein (2008) Choline availability and acetylcholine synthesis in the hippocampus of acetylcholinesterase-deficient mice. *Neurochem. Int.* 52, 972-978.
- [5] C. Kiewert, V. Kumar, O. Hildmann, J. Hartmann, M. Hillert and J. Klein (2008) Role of glycine receptors and glycine release for the neuroprotective activity of bilobalide. *Brain Res.* 1201, 143-150.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Jochen Klein

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29366

Fax: ++49 (0)69 798-29277

E-Mail: Klein@em.uni-frankfurt.de

<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/mitarbeiter/klein/index.html>



Die Welt ist voll von Halbwissen.

 **Thieme RÖMPP.com**

Nur 100% sind 100%

Wenn man sich in unbekannte Gefilde begibt, sollte man auf alles vorbereitet sein. Besonders im so sensiblen beruflichen Umfeld wie der Chemie ist Halbwissen fehl am Platz. Aus diesem Grund arbeiten wir seit 1947 mit aller Leidenschaft und Akribie daran, dass evaluierte Daten und Fakten rund um das Themenfeld Chemie

zur Verfügung stehen. Immer. Und ohne Ausnahme. So wurde „Der RÖMPP“ Synonym für inzwischen über 60.000 Stichwörter und über 200.000 Querverweise auf die man sich verlassen kann. Welche Möglichkeiten sich für unser Angebot im Internet dazu addiert haben, sollten Sie sich am besten selbst anschauen.

 **Thieme**

