

Mitochondriale Dysfunktion bei Alzheimer-Demenz

Das Zusammenspiel von Hirnalterung und genetischen Risikofaktoren



1 Mäuse, die menschliche Gene mit Veränderungen tragen, die für die Alzheimer'sche Krankheit typisch sind, unterscheiden sich rein äußerlich nicht von ihren normalen Artgenossen. Allerdings lassen sich im Gehirn der Tiere deutliche Veränderungen nachweisen.

Typische neuropathologische Befunde bei der Alzheimer-Demenz (AD) sind die Bildung von Beta-Amyloid-Plaques, die Akkumulation von intrazellulären neurofibrillären Bündeln (Tangles) und ein ausgeprägter Verlust der Nervenzellen im Gehirn (siehe Estifanos Ghebremedhin und Thomas Deller »Risikofaktoren der Alzheimer-Krankheit. Was verraten uns die Gene?«, Seite 90). Insbesondere die Anhäufung von Beta-Amyloid-Peptid (A β) scheint eine zentrale Rolle in der Pathogenese zu spielen und kausal für den Zelluntergang verantwortlich zu sein. Befunde unserer Arbeitsgruppe deuten darauf hin, dass A β zu mitochondrialer Dysfunktion in den Nervenzellen führt. Wir untersuchen die Kaskade der Mechanismen, die von der Bildung von A β über mitochondriale Dysfunktion letztlich zu Synapsenverlust und Zelltod führen, mithilfe von Zelllinien und Mäusestämmen mit Alzheimer-typischen Merkmalen.^{1,2/} Ziel ist, einen Angriffspunkt für die medikamentöse Behandlung der Alzheimer-Demenz zu finden. Als vielversprechend hat sich die Wirkung von Statinen erwiesen, die als Cholesterinhemmer eingesetzt werden.

Mitochondrien – Schaltstellen zwischen Leben und Tod

Die Mitochondrien stellen der Zelle über die Atmungskette Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) zur Verfügung. Die meisten Mitochondrien befinden sich in Zellen, die viel Energie verbrauchen, wie den Nervenzellen. Dabei wird die Menge der Mitochondrien einer Zelle ihrem Energiebedarf angepasst. Eine Zelle, die alle ihre Mitochondrien verliert, ist nicht in der Lage, diese zu regenerieren und stirbt ab. Mitochondrien sind aber nicht nur als Kraftwerke der Zelle lebensnotwendig, sie sind auch am programmierten Zelltod, der Apoptose, beteiligt (siehe »Apoptose bei der Alzheimer-Krankheit« Seite 88). Intakte Mitochondrien sorgen dafür, dass die Apoptose nur in begründeten Fällen ausgelöst wird, etwa um zu verhindern, dass entartete Zellen zu wuchern beginnen und Krebs verursachen. Bei Morbus Alzheimer ist der massenhafte Verlust von Nervenzellen im Gehirn teilweise durch apoptotisches Absterben bedingt. Das lässt darauf schließen, dass die Mitochondrien

ihre schützende Funktion nicht mehr korrekt ausüben können. Uns interessiert, inwieweit Alterungsprozesse und genetische Risikofaktoren für die Dysfunktion der Mitochondrien verantwortlich sind.

Viele experimentelle Daten belegen, dass der normale Hirnalterungsprozess bei Tier und Mensch zu spezifischen Einschränkungen der mitochondrialen Funktion führen kann. Infolgedessen wird weniger ATP synthetisiert, und es kommt zu einer vermehrten oxidativen Schädigung von ungesättigten Fettsäuren, Proteinen und Nukleinsäuren. Von diesen Veränderungen sind die Komplexe I und IV der Atmungskette besonders betroffen, während die Komplexe II und III weniger durch den Alterungsprozess beeinträchtigt sind^{3/} (siehe Jürgen Bereiter-Hahn und Ulrich Brandt »Störfall im Kraftwerk der Zelle«, Seite 82). Auch die, allerdings begrenzten, neuro-degenerativen Veränderungen im Rahmen des normalen Hirnalterungsprozesses lassen sich über Einschränkungen der mitochondrialen Funktion und eine Aktivierung des intrinsischen apoptotischen Weges erklären. Solche Veränderungen haben wir auch in dem von uns häufig benutzten Modell der gealterten NMRI-Maus auf verschiedenen Ebenen nachweisen können.^{13/}

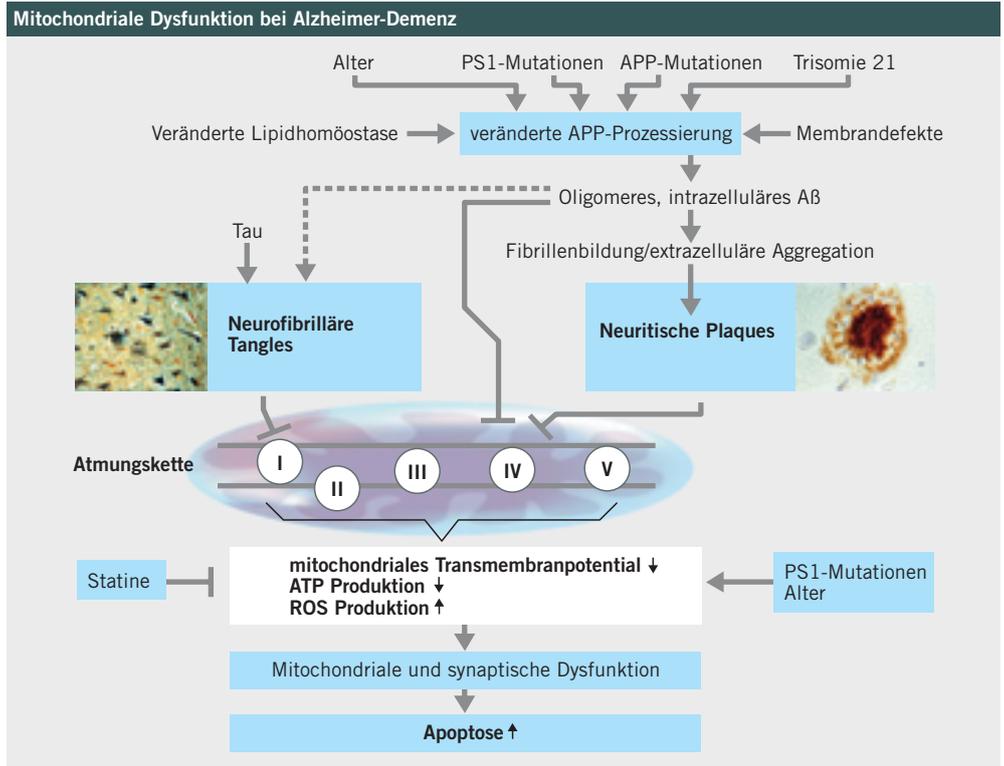
Interessanterweise können aber auch die spezifischen histologischen Veränderungen der Alzheimer-Pathologie (vermehrte Ablagerung von A β und hyperphosphoryliertem Tau) zu Störungen der mitochondrialen Funktion führen, die den Störungen durch Alterungsprozesse sehr ähnlich sind. Das konnten wir durch Experimente mit transgenen Zelllinien beziehungsweise transgenen Mäusen zeigen. Den Tieren, die in freier Wildbahn nicht an Alzheimer-Demenz erkrankten, wurden für die Krankheit spezifische Gene eingepflanzt: Es handelte sich um Mutationen des Amyloid-Vorläuferproteins beziehungsweise des Präsenilin1-Gens.^{14-16/} Auch die gentechnisch ausgelöste Überexpression von hyperphosphoryliertem Tau

fürte zu analogen Dysfunktionen der Mitochondrien.¹⁷⁷

Zusammenspiel von Alter und genetischen Faktoren

Die Hypothese lag nahe, dass Hirnalterungsprozesse auf der einen Seite und Alzheimer-typische, aber altersunabhängige, Veränderungen auf der anderen Seite synergistisch auf der Endstrecke einer mitochondrialen Dysfunktion zusammenwirken. Diese Endstrecke, die schließlich mit dem programmierten Zelltod endet, ist durch einen eingeschränkten Energiestoffwechsel und vermehrten oxidativen Stress gekennzeichnet. Wir konnten diese Hypothese bestätigen, indem wir unterschiedliche Tiermodelle verwendeten. Eingesetzt haben wir hier Mäuse mit einer Alzheimer-relevanten APP-Mutation sowie Mäuse, die vermehrt hyperphosphoriertes Tau bilden.^{17, 131} Tatsächlich ließen sich die sehr unterschiedlichen Aspekte der Alzheimer-Erkrankung, wie frühe Störungen des Energiestoffwechsels, synaptische Dysfunktion, Synapsenverlust und die eigentlichen neurodegenerativen Veränderungen durch mitochondriale Defizite erklären.

Aber nicht nur in den Nervenzellen des Gehirns, sondern auch auf peripheren Blutzellen transgener Tiere sind Alzheimer-typische mitochondriale Veränderungen nachweisbar.¹⁸¹ Interessanterweise treten analoge Veränderungen auch an Lymphozyten von Patienten mit sporadischer AD auf, wo sie mit der Schwere der Erkrankung immer ausgeprägter werden. Im Moment überprüfen wir in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Jo-



2 Die mitochondriale Dysfunktion repräsentiert einen frühen, gemeinsamen Signalweg der Hirnalterung, der Tau Pathologie und anderen noch nicht bekannten Risikofaktoren sporadischer und genetischer Formen der Alzheimer-Krankheit. Letztere sind durch Mutationen in Genen charakterisiert, die unter anderem für das Präsenilin 1 (PS1) oder das Beta-Amyloid-Vorläuferprotein (APP) codieren. Möglicherweise stören das Altern und PS1-Mutationen direkt die mitochondriale Funktion, unabhängig von der Beta-Amyloid-Kaskade. Adenosinriphosphat (ATP), ROS (Reaktive Sauerstoffspezies).

hannes Pantel von der Psychiatrischen Universitätsklinik, Frankfurt, inwieweit sich diese lymphozytären Veränderungen auch als biologische Marker für die Früherkennung der AD einsetzen lassen.¹⁹¹

Statine – mehr als nur Cholesterinsenker

Epidemiologische Beobachtungen weisen darauf hin, dass Menschen, die über lange Zeit Statine, eine bestimmte Wirkstoffgruppe von Cholesterin senkenden Medikamenten,

einnehmen, ein geringeres Risiko aufweisen, an der AD zu erkranken. Die Statine hemmen ein im Organismus an der Synthese des Cholesterins beteiligtes Schlüsselenzym, das vor allem in der Leber vorkommt. Dadurch sinkt im Blutkreislauf die Konzentration des Cholesterins. Das Cholesterin im Gehirn ist aber von dem im Blut unabhängig, da es an Ort und Stelle synthetisiert wird. Ob die Statine die Blut-Hirn-Schranke überwinden und die Cholesterinsynthese im Gehirn beeinflussen können, war lange nicht bekannt. Aktuelle Untersuchungen am Tier belegen, dass Statine die Cholesterinkonzentration im Gehirn senken können, aber nur bei sehr hohen Dosen. Wie aktuelle molekularbiologische Untersuchungen zeigen, beruht die segensreiche Wirkung der Statine im

3 Um die Entstehung der Alzheimer-Krankheit zu verstehen und neue Medikamente zu entwickeln, reicht es nicht aus, nur an Zellen zu forschen. Um eine bessere Übertragbarkeit auf den Menschen zu gewährleisten, müssen wichtige Experimente auch an Tiermodellen durchgeführt werden, die speziell für ihren Einsatz im Labor gezüchtet werden.





4 Die Untersuchungen zur mitochondrialen Dysfunktion werden unter anderem an Zellen durchgeführt, die in speziellen Schalen in Nährmedium wachsen. Neben den Nährstoffen enthält das Medium auch einen roten Indikatorfarbstoff, der anzeigt, wann das Medium gewechselt werden muss.

Gehirn vermutlich eher darauf, dass sie zur Expression von Genen führen, die unter anderem bei der Apoptose eine Rolle spielen.^{110/} Ein besonders wichtiges anti-apoptotisches Protein, das unter Statinbehandlung hochreguliert wird, ist Bcl-2.^{110/}

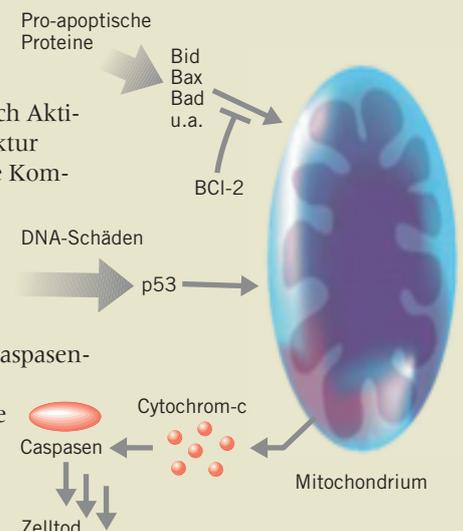
Der Mechanismus, über den Statine zu Veränderungen von pro- und anti-apoptischen Faktoren führen, ist bisher nicht bekannt. Unsere weiterführenden Untersuchungen haben sehr eindeutig gezeigt, dass diese Effekte unabhängig von der Bildung von Cholesterin im

Gehirn sind.^{111/} Die durch Statine hervorgerufene vermehrte Bildung von Bcl-2 schützt Mitochondrien in dissoziierten Hirnzellen und beugt der Apoptose vor.^{111/} Weiterhin konnten wir kürzlich zeigen, dass Statine Zellen vor der toxischen Wirkung von Aβ schützen.^{112/} Die Freisetzung von Bcl-2 und anderer Proteine, die die Funktion von Mitochondrien steuern, wird über verschiedene Signalwege reguliert. Unter anderem scheint hier die Signalsubstanz Stickstoffmonoxid (NO) eine entscheidende Rolle zu spielen.^{6/} Inwieweit eine Hochregulierung der NO-bildenden Enzyme durch Statine deren neuroprotektive Effekte erklären kann, wird derzeit untersucht. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang unsere Befunde an Zel-

Apoptose bei der Alzheimer-Krankheit

Apoptose spielt bei vielen pathologischen, aber auch bei physiologischen Prozessen eine wichtige Rolle. 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 Zerstörung der Mitochondrien, zum gezielten Zerschneiden der DNA, wobei ein Apoptose-spezifisches 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 (dem örtlichen Gewebestod) keine Entzündungsreaktionen hervor. Wenn das System der Apoptose aus den Fugen gerät, sind die Auswirkungen fatal: Ein »Zuwenig« an Apoptose erleichtert zum Beispiel die Entstehung von Krebszellen, ein »Zuviel« kann zu pathologischen Zellverlusten führen, vor allem bei nicht mehr teilungsfähigen, ausdifferenzierten Zellen. Gehen Zellen in differenziertem Gewebe zugrunde, 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 bei Morbus Alzheimer ist zum Teil durch apoptotisches Absterben der Neuronen bedingt. In Gehirnen von verstorbenen Alzheimer Patienten lässt sich Apoptose nachweisen. Eine Zelle kann den Befehl zur Apoptose durch äußere Faktoren (Signalmoleküle) erhalten.

Die Zelle kann diese Entscheidung nach einer starken Schädigung – zum Beispiel der Erbsubstanz – aber auch selbst treffen, um etwa zu verhindern, dass sie zu einer Krebszelle entartet. Man spricht in diesem Fall vom intrinsischen Apoptoseweg. Der intrinsische Apoptoseweg vollzieht sich innerhalb der Zelle und wird häufig auch als mitochondrialer Apoptoseweg bezeichnet, da hier eine Störung der mitochondrialen Funktion im Mittelpunkt steht. Die Proteine der Bcl-2-Familie übernehmen eine entscheidende Funktion in der Regulation des intrinsischen Apoptosewegs. Sie regulieren vor allem die Freisetzung pro-apoptotischer Faktoren aus den Mitochondrien. Zellulärer Stress und die Schädigung der Erbsubstanz rufen die Faktoren Bax und p53 auf den Plan. Nach Aktivierung ändert Bax seine Struktur und bildet membranassoziierte Komplexe, die die Durchlässigkeit der Mitochondrienmembran unter anderem für Cytochrom C erhöhen. Der pro-apoptotische Faktor Cytochrom C aktiviert wiederum Caspasen-Enzyme. Nach Aktivierung schneiden Caspasen spezifische Substrate, die Prozesse auslösen, welche letztendlich zum Untergang der Zelle führen.



5 In den Arbeitsgruppen von Dr. Kristina Leuner und Dr. Gunter Eckert arbeiten Pharmazeuten, Biologen und Biochemiker eng zusammen. Die Interdisziplinärität ihrer Forschung wird durch umfangreiche Kooperationen innerhalb der Universität, insbesondere über das ZAFES Expertencluster Alzheimer und Parkinson Forschung Frankfurt (APFF), gefördert.

len, die viel oder wenig neurotoxisches A β -Protein bilden. Interessanterweise kommt es in Zellen, die viel A β -Protein bilden, zu einem erhöhten Angebot von NO, das zunächst neuroprotektiv zu sein scheint. Bei höheren Konzentrationen wirkt es allerdings neurotoxisch, weil es den Komplex IV der mitochondrialen Atmungskette hemmt.⁶⁷ Auch hier haben wir eine Verschiebung der relativen Konzentrationen pro- und anti-apoptischer Faktoren beobachten können.

Zusammenfassend spielt die mitochondriale Schädigung in unterschiedlichen Modellen mit reduzierter ATP Produktion, erhöhtem Stress und vermehrter Apoptose als gemeinsame Endstrecke vieler allgemeiner und genetischer Risikofaktoren der Alzheimer-Demenz eine wichtige Rolle. Mitochondriale Dysfunktion stellt daher ein aussichtsreiches Ziel für pharmakologische Interventionen dar. ◆



Die Autoren

Dr. Gunter P. Eckert, 38, ist Lebensmittelchemiker, Umwelttoxikologe und Fachpharmakologe der Deutschen Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie und wurde bei Prof. Müller in Frankfurt promoviert. Nach Forschungsaufenthalten in Brasilien und den USA beschäftigt sich Dr. Eckert im Rahmen seiner Habilitationsarbeit mit Hirnalterungsvorgängen und neuroprotektiven Mechanismen. Er ist als Akademischer Oberrat am Pharmakologischen Institut für Naturwissenschaftler der Universität Frankfurt tätig.

Dr. Kristina Leuner, 31, studierte Pharmazie an der Freien Universität Berlin und promovierte anschließend am Pharmakologischen Institut für Naturwissenschaftler bei Prof. Müller. Seit 2006 ist sie Fachapothekerin für Arzneimittelinformation und arbeitet als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Pharmakologi-

schen Institut für Naturwissenschaftler. Im Rahmen ihrer Post Doc-Zeit beschäftigt sich Dr. Leuner mit der mitochondrialen Fehlfunktion im Rahmen von neurodegenerativen Erkrankungen.

Prof. Dr. Walter E. Müller, 59, studierte Pharmazie und beendete seine Ausbildung zum Fachpharmakologen in Mainz und an der Johns Hopkins University, Baltimore. 1980 habilitierte er sich für das Fach Pharmakologie und Toxikologie in Mainz. Ab 1983 leitete Professor Müller das Psychopharmakologische Labor am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit in Mannheim und wurde dort 1989 zum Professor für Psychopharmakologie und Abteilungsleiter berufen. Seit 1997 ist er als Ordinarius und Direktor des Pharmakologischen Instituts für Naturwissenschaftler am Biozentrum der Universität Frankfurt tätig.

Literatur

- ^{11/} Keil U., Hauptmann S., Bonert A., Scherping I., Eckert A., Müller W.E., (2006), Mitochondrial dysfunction induced by disease relevant AbetaPP and tau protein mutations, *J. Alzheimers Dis.* 9, S. 139–146.
- ^{12/} Hauptmann S., Keil U., Scherping I., Bonert A., Eckert A., Müller W.E., (2006), Mitochondrial dysfunction in sporadic and genetic Alzheimer's disease, *Exp. Gerontol.* 41, S. 668–673.
- ^{13/} Leuner K., Hauptmann S., Abdel-Kader R., Scherping I., Keil U., Strosznajder J. B., Eckert A., Müller W. E., Mitochondrial dysfunction: the first domino in brain aging and Alzheimer's disease?, *Antioxidant and Redox Signaling* accepted, 2007.
- ^{14/} Marques C. A., Keil U., Bonert A., Steiner B., Haass C., Müller W. E., Eckert A. (2003), Neurotoxic mechanisms caused by the Alzheimer's disease-linked Swedish amyloid precursor protein mutation – Oxidative stress, caspases, and the JNK pathway, *J. Biol. Chem.* 278, S. 28294–302.
- ^{15/} Schüssel K., Frey C., Jourdan C., Keil U., Weber C. C., Müller-Spahn F., Müller W. E., Eckert A., (2006), Aging sensitizes toward ROS formation and lipid peroxidation in PS1M146L transgenic mice, *Free Radic. Biol. Med.* 40, S. 850–62.
- ^{16/} Keil U., Bonert A., Marques C. A., Scherping I., Weyeremann J., Strosznajder J. B., Müller-Spahn F., Haass C., Czech C., Pradier L., Müller W. E., Eckert A., (2004a), Amyloid beta-induced changes in nitric oxide production and mitochondrial activity lead to apoptosis, *J. Biol. Chem.* 279, S. 50310–20.
- ^{17/} David D. C., Hauptmann S., Scherping I., Schuessel K., Keil U., Rizzu P., Ravid R., Drose S., Brandt U., Müller W. E., Eckert A., Götz J., (2005), Proteomic and functional analyses reveal a mitochondrial dysfunction in P301L tau transgenic mice, *J. Biol. Chem.* 280, S. 23802–14.
- ^{18/} Schindowski K., Kratzsch T., Peters J. W., Steiner B., Leutner S., Touchet N., Maurer K., Czech C., Pradier L., Frölich L., Müller W. E., Eckert A., (2003), Impact of aging: sporadic, and genetic risk factors on vulnerability to apoptosis in Alzheimer's disease, *Neuromolecular Med.* 4, S. 161–78.
- ^{19/} Leuner K., Pantel J., Frey C., Schindowski K., Schulz K., Wegat T., Maurer K., Eckert A., Müller W. E., (2007), Potential role of apoptosis, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in lymphocytes as biomarkers for Alzheimer's disease, *Journal of Neural Transmission*, accepted.
- ^{110/} Johnson-Anuna L. N., Eckert G. P., Keller J. H., Igbavboa U., Franke C., Fechner T., Schubert-Zsilavec M., Karas M., Müller W. E., Wood WG, (2005), Chronic administration of statins alters multiple gene expression patterns in mouse cerebral cortex, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 312, S. 786–93.
- ^{111/} Franke C., Nöldner M., Abdel-Kader R., Johnson-Anuna L. N., Wood W. G., Müller W. E., Eckert G. P., Bcl-2 Upregulation and Neuroprotection in Guinea Pig Brain Following Chronic Simvastatin Treatment, (2007), *Neurobiol. Dis.* 25, S. 438–45.
- ^{112/} Johnson-Anuna L. N., Eckert G. P., Franke C., Igbavboa U., Müller W. E., Wood W. G., (2007), Simvastatin Protects Neurons from Cytotoxicity by Upregulating Bcl-2 mRNA and Protein, *J. Neurochem.*, 101, S. 77–86.
- ^{113/} Hauptmann S., Scherping I., Dröse S., Brandt U., Leuner K., Eckert A. and Müller W. E., (2007), Mitochondrial dysfunction: an early event in Alzheimer pathology accumulates with aging, submitted.