

Gliazellen im Gehirn: Neue Eigenschaften und neue Funktionen

Gerald Seifert und Christian Steinhäuser

Zusammenfassung

Gliazellen im Nervensystem sind über Jahrzehnte als passive Stützelemente betrachtet worden. Inzwischen ist jedoch klar, dass Astrozyten und Oligodendrozyten über ein ähnlich breites Repertoire an Ionenkanälen und Membranrezeptoren verfügen wie Nervenzellen. Spektakuläre Befunde der letzten Jahre zeigen, dass Subtypen von Gliazellen von Nervenzellen direkt synaptisch innerviert werden. Gliazellen (insbesondere Astrozyten) sind andererseits aber auch in der Lage, Transmitter zu synthetisieren, freizusetzen und dadurch benachbarte Neurone zu aktivieren und die Durchblutung zu regulieren. Astrozyten benutzen bei der Freisetzung Mechanismen, die bisher als typisch neuronale Eigenschaft angesehen wurden. Vor diesem Hintergrund ist es verständlich, dass auch die Forschung nach den Ursachen neuronaler Erkrankungen die Gliazellen intensiver ins Visier nimmt. Funktionelle und molekulare Untersuchungen legen beispielsweise nahe, dass veränderten Eigenschaften von Astrozyten eine zentrale Rolle bei der Entstehung und Ausbreitung von Krampffaktivität im Gehirn von Patienten mit Temporallappen-Epilepsie zukommt.

Abstract

Glial cells in the brain: new properties and new functions.

For decades, glial cells of the nervous system have been considered passive supporting cells. However, in the meantime it has been found that astrocytes and oligodendrocytes express almost the same set of ion channels and membrane receptors as neurons. Spectacular recent findings now demonstrate that subtypes of glial cells receive direct synaptic input from neurons. Moreover glial cells, particularly astrocytes, are also in a position to synthesize and release transmitters to activate neighbouring neurons and regulate the tone of the vasculature. Obviously, astrocytes and neurons share similar mechanisms to accomplish transmitter release. Against this background it is clear that glia cells increasingly come into the focus of clinical research. For instance, evidence is accumulating to suggest that alterations of functional properties in astrocytes play a major role in the generation and spread of seizure activity in the brain of patients with temporal lobe epilepsy.

Key words: glial cell; neuron glia signalling; ion channels; receptors; epilepsy

Einleitung

Gliazellen werden in Makrogliazellen (Astrozyten, Oligodendrozyten sowie Schwann'sche Zellen) und Mikrogliazellen eingeteilt. Der Begriff ‚Glia‘ wurde von Rudolf Virchow (1821-1902) geprägt, stammt aus dem Griechischen und bedeutet soviel wie ‚Leim‘ oder ‚Kitt‘. Dementsprechend betrachtete man die Gliazellen im Nervensystem über viele Jahrzehnte als die rein ‚passiven‘ Partner der Neurone. So war von Oligodendrozyten und Schwann'schen Zellen bekannt, dass sie Myelin bilden, das die Axone im zentralen bzw. peripheren Nervensystem als Markscheide umhüllt. Mikrogliazellen gelten als die phagozytierenden, immunkompetenten Zellen im Gehirn. Astrozyten wurden Aufgaben im Zusammenhang mit der Regulation des Ionen-

und Transmittermilieus (Homöostase) und der Ernährung von Nervenzellen zugesprochen. Forschungsergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen in den letzten Jahren, die im Folgenden diskutiert werden, stellen die Gültigkeit der derzeit akzeptierten ‚neuronalen Sicht‘ der Informationsverarbeitung nun zunehmend in Frage.

Astrozytäre Kontrolle synaptischer Aktivität durch Regulation von Glukosemetabolismus und Mikrozirkulation im Gehirn

Der Glutamat-Glutamin Shuttle. Astrozytäre Glutamattransporter entfernen einen Großteil des synaptisch freigesetzten Glutamats aus dem synaptischen Spalt und verhindern so die Akkumulation des Neurotransmitters

im Extrazellulärraum. Die Transporter werden vom Na⁺-Gradienten und dem Potential über der Zellmembran angetrieben. Glutamat wird anschließend durch das gliale Enzym Glutaminsynthetase in Glutamin umgewandelt. Glutamin wird von Astrozyten in den Extrazellulärraum sezerniert, von Nervenendigungen aufgenommen und in den Nervenzellen in Glutamat umgewandelt. Das Glutamat wird schließlich wieder in die Vesikel der präsynaptischen neuronalen Terminale transportiert. Die mit dem Glutamat-Transport aufgenommenen Na⁺-Ionen werden durch die Na-K-ATPase aus den Gliazellen entfernt. Beide Enzyme, Glutaminsynthase und Na-K-ATPase, benötigen Energie in Form von ATP, die durch Glykolyse gewonnen wird. Im Gehirn werden Blutkapillaren, die Glukose transportieren, durch spezielle Endigungen der Astrozytenfortsätze, die Endfüße, umhüllt. Die Endfüße besitzen in großer Dichte Glukosetransporter, über die die Astrozyten Glukose aufnehmen können.

Durch den Energiebedarf, der durch Glutamat-Transport und Glutaminsynthese entsteht, ist die Glukoseaufnahme direkt an die synaptische Aktivität gekoppelt: Inhibition des Glutamattransportzyklus bringt auch die Glukoseaufnahme zum Erliegen. Bei der aktivitätsabhängigen Glykolyse entsteht außerdem Laktat, das von Astrozyten freigesetzt und von Neuronen aufgenommen wird und als Energiesubstrat nach Eintritt in den Zitronensäurezyklus zur ATP-Synthese zur Verfügung steht (Abbildung 1). Astrozyten und Nervenzellen besitzen spezielle Monocarboxylat-Transporter, die diesen ‚Energie-substrat-Shuttle‘ zwischen den zwei Zelltypen im Gehirn unterstützen. Durch Messungen der aktivitätsbedingten Geschwindigkeit des Zitronensäurezyklus und der Glutaminsynthese mittels funktioneller ¹³C-NMR-Spektroskopie konnte eine Stöchiometrie zwischen Glukosemetabolismus und Glutamat-Glutamin-Kreislauf von nahezu 1:1 ermittelt werden (Magistretti und Pellerin 1999). Es bleibt darauf hinzuweisen, dass sowohl die Inhibition der Glutaminsynthetase als auch des astrozytären Zitronensäurezyklus die Bereitstellung des Neurotransmitters Glutamat in Nervenzellen empfindlich reduziert.

Astrozyten regulieren die Durchblutung im Gehirn. Astrozyten kommunizieren mit Blutgefäßen nicht nur im Sinne eines Stoffaustauschs wie oben beschrieben, sondern regulieren auch die Stärke der Durchblutung (Abbildung 1). Neue Ergebnisse zeigen, dass nach neuronaler Aktivierung astrozytärer Rezeptoren und Ca²⁺-Freisetzung aus intrazellulären Speichern eine intrazelluläre Signalkaskade in Astrozyten ausgelöst wird, die über die Aktivierung der Phospholipase A2

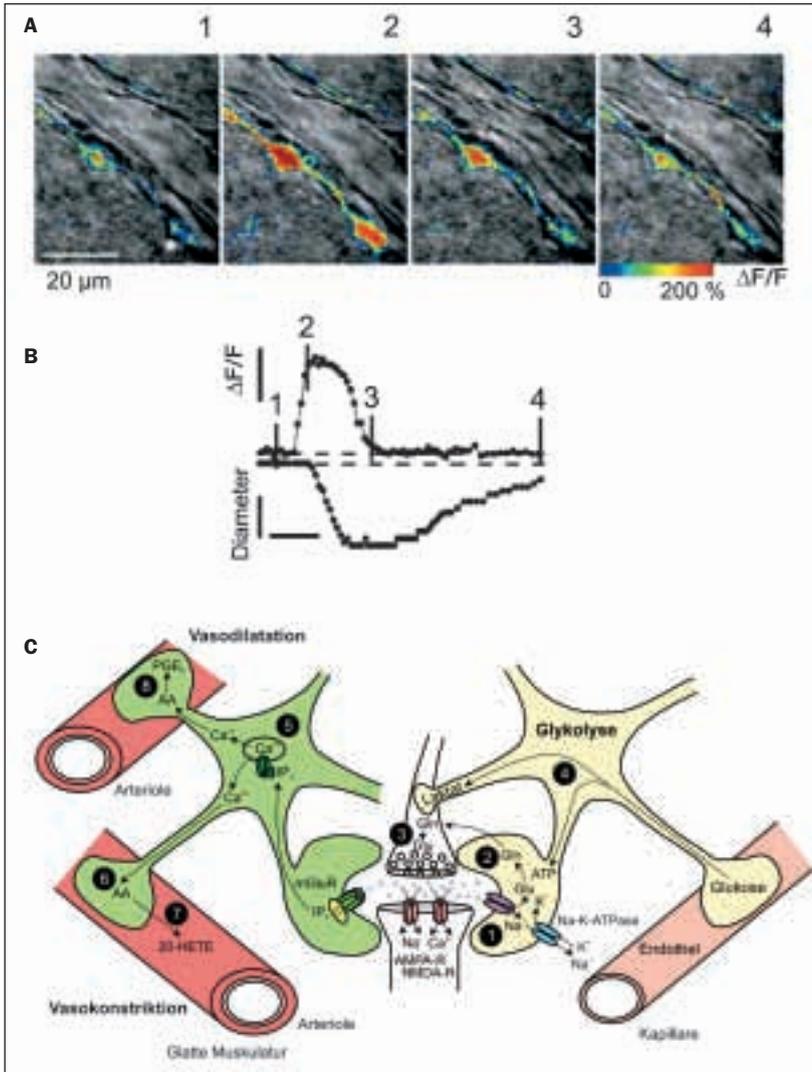


Abb. 1: Regulation von Glukoseaufnahme und Blutfluss durch Gliazellen im Gehirn. (A,B) Photo-lyse-induzierte Freisetzung von Ca^{2+} (gemessen als $\Delta F/F$) in astrozytären Endfüßen und anschließende Vasokonstriktion. (A) Bildserie einer von Astrozyten-Endfüßen kontaktierten Arteriole. Dargestellt sind Gefäßdurchmesser und $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in den Endfüßen, zunächst unter Normalbedingungen (1). Nach Stimulation erreicht die Ca^{2+} -Erhöhung in den Endfüßen ihren maximalen Wert (2), bevor die Verengung des Blutgefäßes einsetzt (3) und dieses wieder relaxiert (4). (B) Quantitative Darstellung von Ca^{2+} -Änderung und Blutgefäß-Durchmesser; die vier in (A) beschriebenen Zeitpunkte sind markiert. Der vertikale Messbalken entspricht 1 s, die horizontalen Balken 20 % Änderung des Durchmessers bzw. 100 % relative Änderung von $[\text{Ca}^{2+}]_i$. (C) Zusammenfassende schematische Darstellung. Glutamat wird durch Na^+ -abhängige Glutamattransporter von Astrozyten aufgenommen (1) und durch Glutaminsynthetase unter Verbrauch von ATP in Glutamin (Gln) umgewandelt (2). Glutamin wird sezerniert, von Nervenendigungen aufgenommen und Glutamat (Glu) wird resynthetisiert (3). Durch Glykolyse (4) entstehen ATP und Laktat in Astrozyten, Laktat wird als neuronales Energiesubstrat bereitgestellt. Gliale metabotrope Glutamat-Rezeptoren (mGluR) werden aktiviert, IP_3 generiert und anschließend Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern freigesetzt (5). Durch Aktivierung von Phospholipase A2 wird Arachidonsäure (AA) gebildet (6), das in der glatten Muskulatur der Arteriolen durch Zytochrom P450 in 20-Hydroxyeicosantetraensäure (20-HETE) umgewandelt wird (7). In einem alternativen Mechanismus wird durch Cyclooxygenase aus AA PGE_2 gebildet, das Gefäßerweiterung auslöst (8). (A, B) aus: Mulligan und MacVicar 2004.

zur Synthese von Arachidonsäure führt. Da die astrozytären Endfüße die Blutgefäße im Gehirn eng umhüllen, wird Arachidonsäure direkt an glatten Gefäßmuskulatur freigesetzt und löst eine Gefäßverengung (Vasokonstriktion) in der Arteriole aus. Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Brian MacVicar favorisieren einen Mechanismus, bei dem im Gefäßmuskel aus Arachidonsäure enzymatisch (Zytochrom p450) ein vasokonstriktives Fettsäurederivat (20-HETE) synthetisiert wird (Mulligan und MacVicar 2004). Giorgio Carmignoto und Mitarbeiter schlagen in einer anderen Arbeit einen ähnlichen Mechanismus vor, wobei in der Gliazelle allerdings aus Arachidonsäure durch Zyklooxygenase Prostaglandin E_2 (PGE_2) synthetisiert wird, das nach Freisetzung aus dem Endfuß eine Erweiterung (Dilatation) der Arteriole auslöst und den lokalen Blutstrom erhöht (Fellin und Carmignoto 2004). Welcher dieser beiden, gegenläufigen Mechanismen zu einem gegebenen Zeitpunkt überwiegt, hängt vermutlich vom

jeweils aktuellen Kontraktionszustand der glatten Gefäßmuskulatur ab. Diese Befunde zeigen eindrucksvoll, dass Astrozyten in Abhängigkeit von der synaptischen Aktivität die Blutzirkulation im Gehirn und damit die Versorgung von Nervenzellen mit Metaboliten zur Energiegewinnung und zur Synthese von Neurotransmittern kontrollieren.

Synaptische Aktivität als Trigger für Transmitterfreisetzung aus Astrozyten

Transmitter-induzierte Ca^{2+} -Wellen in Astrozyten. Aktivitätsbedingte Stimulation von Astrozyten führt nicht nur zur Regulierung der lokalen Durchblutung und des Energiehaushaltes im Gehirn, sondern kann auch direkt die neuronale Signalübertragung im Gehirn modulieren. Synaptisch freigesetzte Neurotransmitter aktivieren metabotrope, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren in Astrozyten, deren Fortsätze äußerst eng mit Synapsen assoziiert sind. Sowohl in der Zellkultur als

auch im akuten Hirnschnittpräparat konnte gezeigt werden, dass über metabotrope Rezeptoren eine vorübergehende Ca^{2+} -Erhöhung in Astrozyten ausgelöst wird, die nicht auf die Ursprungszelle beschränkt bleibt, sondern sich als Ca^{2+} -Welle im Astrozyten-Netzwerk ausbreitet. Astrogliale Ca^{2+} -Freisetzung konnte in verschiedenen Gehirnarealen nachgewiesen und durch unterschiedliche Neurotransmitter ausgelöst werden; als wichtigste seien Glutamat, GABA, Noradrenalin, ATP, Histamin, Bradykinin und Acetylcholin genannt. Die Mechanismen der Ausbreitung astrozytärer Ca^{2+} -Wellen sind noch nicht abschließend geklärt. Diskutiert werden sowohl die Diffusion von Inositoltriphosphat (IP_3) durch elektrische Synapsen (gap junctions) als auch die Freisetzung von ATP aus Astrozyten und Aktivierung metabotroper ATP Rezeptoren (P2Y-Typ) in benachbarten Zellen.

Ca^{2+} -induzierte Transmitterfreisetzung aus Astrozyten. Diese durch neuronale Aktivität ausgelösten astrozytären Er-

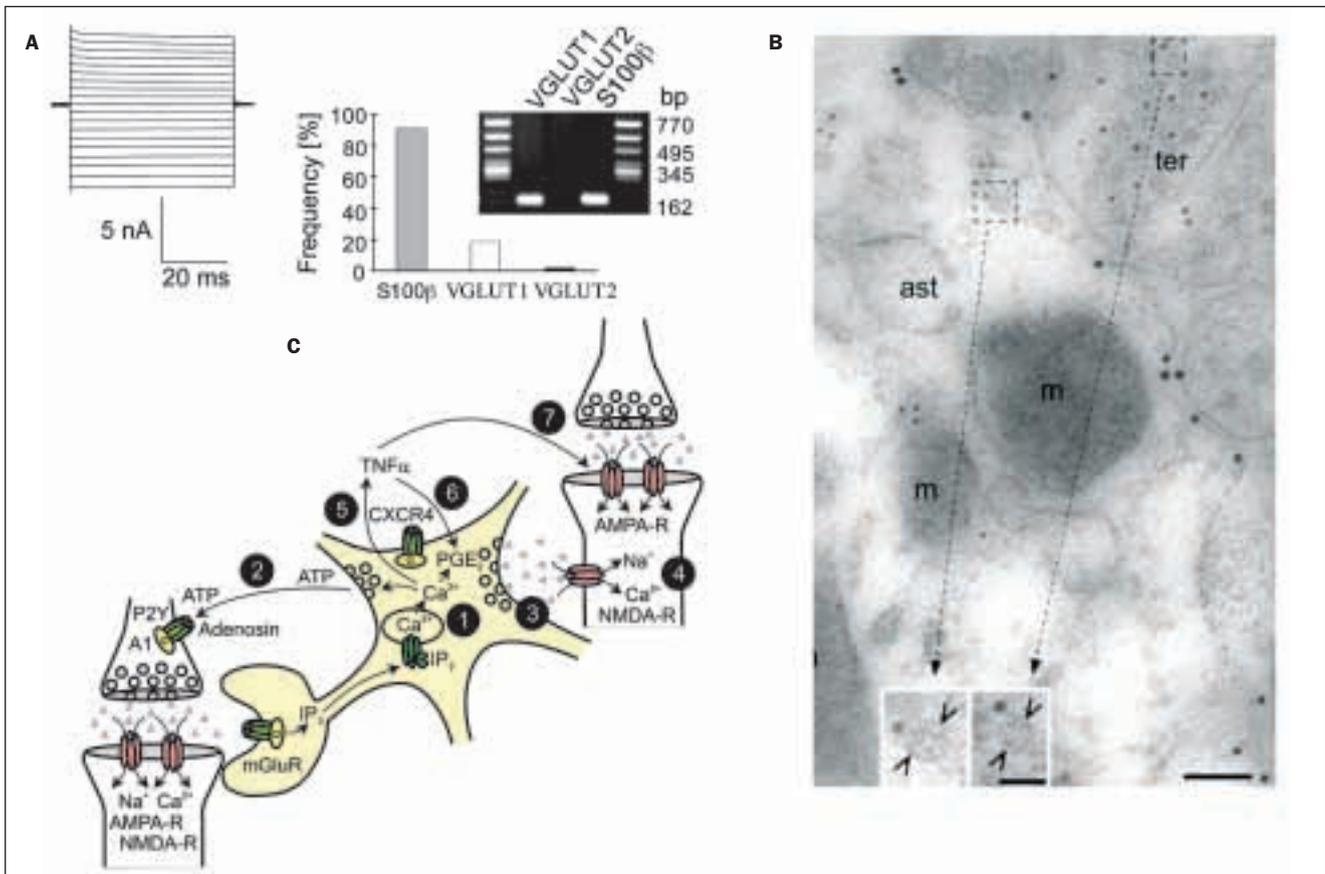


Abb. 2: Transmitterfreisetzung und Modulation synaptischer Aktivität durch Astrozyten. (A) Strommuster eines Astrozyten im Hippokampus der Ratte (Membranpotential zwischen +20 mV und -160 mV). In derselben Zelle wurden Transkripte des vesikulären Glutamattransporters VGLUT1 und des Astrozyten-Markers S100 β mittels Einzelzell-RT-PCR gefunden (Agarosegel). Im Balkendiagramm ist die Genexpression vieler Astrozyten zusammengefasst. **(B)** Elektronenmikroskopisch konnte VGLUT1-Protein (kleine Partikel) in Glutamattransporter (GLAST/GLT)-positiven Astrozyten (große Partikel) nach Immunogoldfärbung identifiziert werden. VGLUT1 ist in vesikulären Organellen im Astrozytenfortsatz (ast) lokalisiert; präsynaptische neuronale Terminale (ter) enthalten ebenfalls Vesikel und VGLUT1-Protein. Die Insets demonstrieren die ähnliche Morphologie glialer und neuronaler Vesikel. Skalierungsbalken: 100 nm und 50 nm (Inset). **(C)** Schematische Übersicht von Neuron-Glia-Wechselwirkungen. Synaptisch freigesetztes Glutamat aktiviert metabotrope Glutamat-Rezeptoren (mGluR) und setzt Ca $^{2+}$ frei, das ATP-Freisetzung aus Astrozyten triggert (1). ATP aktiviert metabotrope ATP-Rezeptoren (P2Y-Typ) oder, nach enzymatischem Abbau, Adenosin-Rezeptoren (A1-Typ), die die präsynaptische Glutamatfreisetzung inhibieren (homosynaptische oder heterosynaptische Hemmung, (2)). Nach [Ca $^{2+}$] $_i$ -Erhöhung wird PGE $_2$ synthetisiert, das unter Mitwirkung von Ca $^{2+}$ Glutamat über einen vesikulären Mechanismus freisetzt (3). Es werden extrasynaptische NMDA-Rezeptoren in Nervenzellen aktiviert, die zur Synchronisation neuronaler Aktivität führen (4). Aktivierung von Chemokinrezeptoren in Astrozyten löst einen [Ca $^{2+}$] $_i$ -Anstieg und intrazelluläre Signalkaskaden aus, die zur Freisetzung von TNF α führen (5). TNF α kann in einer Rückkopplungsschleife über PGE $_2$ die Glutamatfreisetzung steigern (6) und die AMPA Rezeptorexpression in der Postsynapse erhöhen (7). (A, B) aus: Bezzi et al. 2004.

höhungen der intrazellulären Ca $^{2+}$ -Konzentration ([Ca $^{2+}$] $_i$) können wiederum zur Freisetzung von Glutamat aus Astrozyten führen (Abbildung 2). Im Hippokampus, einer Hirnregion mit besonderer Bedeutung für Lern- und Gedächtnisvorgänge, ist die astrozytäre Glutamat-Freisetzung kritisch an die Synthese von PGE $_2$ gekoppelt, welches nach Glutamat-Rezeptor-vermittelter Ca $^{2+}$ -Freisetzung und Aktivierung intrazellulärer Enzyme synthetisiert wird (s. oben). Erst PGE $_2$ löst die notwendige, zusätzliche Ca $^{2+}$ -Freisetzung aus intrazellulären Speichern aus, die für die Freisetzung von Glutamat

aus Astrozyten erforderlich ist (Fellin und Carmignoto 2004).

Welche Bedeutung haben Ca $^{2+}$ -Wellen, die sich in Astrozyten-Netzwerken ausbreiten? Da die Fortsätze eines Astrozyten mehr als 100.000 Synapsen erreichen können, nimmt man an, dass diese Wellen der Modulation und Synchronisation größerer Nervenzellverbände dienen könnten (s.u.). Als gliale Transmitter, die Ca $^{2+}$ -abhängig aus Astrozyten freigesetzt werden, sind bisher Glutamat, L-Aspartat, D-Serin und ATP bekannt. In der Zellkultur breiten sich Ca $^{2+}$ -Welle und Glutamatwelle etwa mit der gleichen Geschwindigkeit (10-

30 μ m/s) über den Zellrasen aus; in akuten Hirnschnitten wandern Ca $^{2+}$ -Wellen über mehrere hundert μ m. Bedingt durch die beteiligten intrazellulären Signalkaskaden stellt die durch Ca $^{2+}$ -Wellen vermittelte ‚Gliotransmission‘ einen vergleichsweise langsamen Prozess dar.

Der genaue Mechanismus der Transmitterfreisetzung aus Astrozyten wird derzeit noch kontrovers diskutiert und intensiv untersucht. Unter physiologischen Bedingungen scheint vor allem die vesikuläre Freisetzung von Glutamat vorstellbar, ein Mechanismus, der im ZNS bisher nur in Nervenzellen

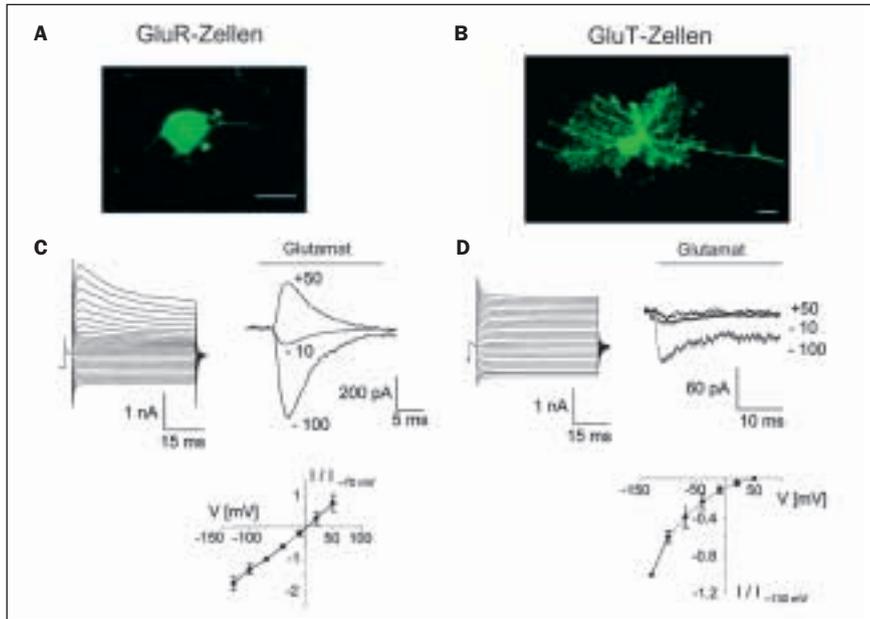


Abb. 3: Heterogenität von Zellen mit astroglialen Eigenschaften. (A, B) GluR- und GluT-Zellen sind morphologisch verschieden (isolierte Zellen aus dem Hippokampus transgener Mäuse, die EGFP unter der Kontrolle des humanen GFAP-Promotors exprimieren). (C) Das Ganzzell-Strommuster von GluR-Zellen (De- und Hyperpolarisation zwischen +70 und -160 mV) weist zeit- und spannungsabhängige Komponenten auf. Applikation von Glutamat (1 mM) an Membranpatches dieser Zellen führt zu Rezeptorantworten mit linearen Strom-Spannungskennlinien (unten) und einem Umkehrpotential von 0 mV. (D) Im Gegensatz dazu besitzen GluT-Zellen prominente zeit- und spannungsunabhängige Ströme. Glutamat aktiviert in diesen Zellen Transporterströme; nur bei negativen Membranpotentialen werden Antworten registriert. Die Skalierung in (A, B) entspricht 50 μm . Aus: Matthias et al. 2003.

beschrieben wurde. Tatsächlich wurden in Fortsätzen von Astrozyten Vesikel-ähnliche Strukturen, SNARE-Proteine und vesikuläre Glutamattransporter nachgewiesen (Abbildung 2), was als Voraussetzung für vesikuläre Freisetzungsmechanismen gilt. Zumindest in der Zellkultur sind diese Vesikel auch zur Fusion und Freisetzung von Glutamat durch Ca^{2+} -getriggerte Exozytose befähigt (Bezzi et al. 2004). Daneben werden auch andere Freisetzungsmechanismen diskutiert, beispielsweise vermittelt durch Zell-Schwellung, Connexin-Halbkkanäle oder Umkehrung der Transportrichtung der oben diskutierten transmembranalen Glutamat-Transporter. Ein Nachweis, dass die letztgenannten Prozesse unter normalen Bedingungen zur Freisetzung von Transmittern aus Astrozyten beitragen können, steht jedoch noch aus (Fellin und Carmignoto 2004).

Modulation von synaptischer Aktivität und Synchronisation von Nervenzellen

Astrozytäre Glutamatfreisetzung bewirkt neuronale Synchronisation und Modulation inhibitorischer Schaltkreise. Transmitterfreisetzung aus Astrozyten könnte in

einer Rückkopplungsschleife die Aktivität derselben Synapse oder entfernte Synapsen modulieren (Abbildung 2). Tatsächlich konnte sowohl in der Zellkultur als auch in akut präparierten Hirnschnitten gezeigt werden, dass die Aktivierung von Astrozyten einen $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -Anstieg in benachbarten Nervenzellen verursacht. Patch-Clamp Experimente gekoppelt mit pharmakologischen Untersuchungen wiesen nach, dass die astrozytären Ca^{2+} -Erhöhungen langsam aktivierende, anhaltende neuronale Einwärtsströme verursachen, die durch Glutamat-Rezeptoren vom NMDA-Typ vermittelt werden. Diese Rezeptoren befinden sich außerhalb der Synapse und zeigen besondere Eigenschaften, die ihre Aktivierung unter physiologischen Bedingungen erleichtern. Gleichzeitige Ableitung benachbarter Nervenzellen kombiniert mit Ca^{2+} -Imaging ermöglichte den Nachweis, dass die Astrozyten Nervenzellen zeitgleich stimulierten und somit eine Synchronisation neuronaler Aktivität bewirkten (Fellin und Carmignoto 2004).

Die Aktivierung von Astrozyten moduliert nicht nur glutamaterge Neurone, sondern auch hemmende neuronale Signalwege. Nach Aktivierung glialer metabotroper GABA_B

Rezeptoren wird eine Erhöhung von $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in Astrozyten beobachtet, die über Glutamat-Freisetzung die inhibitorische Transmission von Interneuronen auf Pyramidenzellen im Hippokampus verstärkt. Das astrozytäre Glutamat kann aber auch zur Aktivierung axonaler Kainatrezeptoren an Interneuronen führen und die Frequenz spontaner, hemmender postsynaptischer Ströme an Interneuron-Interneuron Synapsen erhöhen. Im Kleinhirn führt die Stimulation von Bergmann-Gliazellen zur langanhaltenden Reduzierung von spontanen inhibitorischen postsynaptischen Strömen in Purkinje-Zellen, vermutlich aufgrund von glialer Glutamat-Freisetzung und Aktivierung ionotroper Glutamat-Rezeptoren an präsynaptischen Nervenendigungen von Interneuronen.

Modulation synaptischer Aktivität durch ATP-Freisetzung aus Astrozyten. Astrozyten im Hippokampus setzen nach neuronaler Glutamat-Stimulation auch ATP frei, das nach enzymatischem Abbau zu Adenosin die präsynaptische Transmitterfreisetzung inhibiert. Die neuronale Transmitterfreisetzung kann sowohl an derselben Synapse (homosynaptisch) oder an benachbarten Synapsen (heterosynaptisch) aktivitätsabhängig moduliert werden. Dieser Mechanismus wird homo- oder heterosynaptische Suppression genannt und kann die Übertragung an einer Synapse verstärken, indem die Transmitterfreisetzung an benachbarten Synapsen gedämpft wird (Abbildung 2). Auch in der Retina führt die Freisetzung von ATP aus Gliazellen zur Reduktion neuronaler Aktivität.

Gliazellen tragen zur Bildung und Stabilisierung von Synapsen bei

Gliazellen umhüllen Synapsen im Gehirn sehr eng, und es ist naheliegend zu vermuten, dass die Bildung und Reifung von Synapsen im Gehirn von Gliazellen beeinflusst wird. In der Zellkultur bilden retinale Ganglienzellen in Abwesenheit von Gliazellen kaum Synapsen, während in gemischten Astrozyten-Nervenzellen-Kulturen fast alle Ganglienzellen spontane synaptische Aktivität aufweisen und erheblich größere postsynaptische Ströme zeigen. Es blieb lange unklar, worauf dieser Effekt beruht. Inzwischen konnten jedoch mit Cholesterin und Thrombospondin zwei offensichtlich wichtige ‚synaptogene‘ Faktoren identifiziert werden. Diese Substanzen werden von Gliazellen freigesetzt, erhöhen die Effektivität des präsynaptischen Freisetzungapparates und stabilisieren neugebildete Synapsen. Es ist davon auszugehen, dass weitere Faktoren den Prozess der Synaptogenese beeinflussen; in diesem Zusammenhang sei das Zytokin

TNF α erwähnt, das aus Gliazellen freigesetzt wird und die synaptische Transmission durch erhöhte Expression postsynaptischer Rezeptoren verstärkt (Abbildung 2).

Heterogenität von Zellen mit astroglialen Eigenschaften

Schon die ersten systematischen elektrophysiologischen Untersuchungen von Gliazellen in Hirnschnitten Anfang der 1990er Jahre zeigten, dass astrogliale Zellen hinsichtlich ihrer Membranströme und Antigen-Profile eine heterogene Zellpopulation darstellen. Diese Heterogenität wurde zuerst dem unterschiedlichen Reifegrad der Zellen zugeschrieben. Erst die Verfügbarkeit von transgenen Mäusen, die ein grün fluoreszierendes Protein (GFP) unter der Kontrolle des Promotors für das Astrozyten-spezifische gliale fibrilläre saure Protein (GFAP) exprimieren, ermöglichte den Nachweis, dass im ZNS verschiedene Populationen von Zellen mit astroglialen Eigenschaften koexistieren (Matthias et al. 2003). Eine Population GFP-positiver Zellen weist einen ausgeprägten Baum von fein verzweigten Fortsätzen auf, die Blutgefäße kontaktieren. Sie besitzen eine große K⁺-Ruheleitfähigkeit, funktionelle Glutamat-Transporter (aber keine ionotropen Glutamat-Rezeptoren) und sind mit Hunderten von Nachbarzellen über gap junctions gekoppelt. Diese ‚GluT-Zellen‘ bringen alle Voraussetzungen mit, die für die Regulation des Ionen- und Transmitterhaushalts (Homöostase) erforderlich sind. Ihre Eigenschaften entsprechen den typischen Eigenschaften protoplasmatischer Astrozyten, deren vielfältige Interaktionen mit Nervenzellen und Blutgefäßen oben diskutiert wurden.

Ein zweiter Zelltyp mit GFAP-Promotor-Aktivität besitzt dünne, weniger verzweigte Fortsätze ohne Blutgefäßkontakt. Glutamatapplikation löst in diesen Zellen Ströme durch Glutamat-Rezeptoren (AMPA-Typ), aber keine Transporter-vermittelte Antworten aus, sie wurden daher als ‚GluR-Zellen‘ bezeichnet. GluR-Zellen unterscheiden sich von GluT-Zellen durch eine Vielzahl spannungsaktivierter (Na⁺, K⁺, Ca²⁺) und einwärtsgerichteter K⁺-Ströme (Abbildung 3). Ein weiterer Unterschied betrifft die fehlende Zellkopplung, so dass GluR-Zellen kaum zur Regulation der Homöostase befähigt sein dürften. Auch hinsichtlich ihres Antigen-Profiles unterscheiden sich diese Zellen von GluT-Astrozyten: Sie exprimieren sowohl das astrozytäre Ca²⁺-bindende Protein S100 β , als auch NG2, ein Proteoglykan, das auch in Vorläuferzellen von Oligodendrozyten gefunden wird. Transkriptanalysen wiesen in GluR-Zellen zudem mehrere Gene

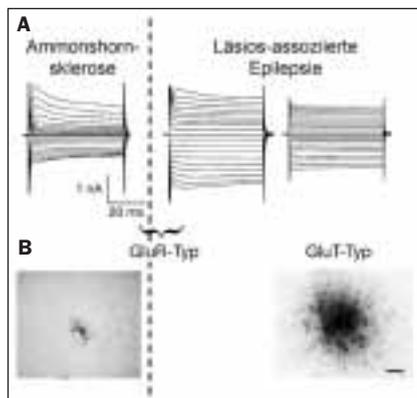


Abb. 4: Krankheitsbedingte Veränderungen von Astrozyten bei humaner TLE. (A) Bei Läsions-assoziiierter Epilepsie werden im Hippokampus Zellen vom GluR- und GluT-Typ gefunden, die anhand ihrer Ganzzell-Strommuster unterschieden werden können (Membranpotentiale zwischen +20 und -160 mV). Bei AHS kommt es zu einem selektiven Verlust von GluT-Zellen. (B) Analyse astrozytärer Kopplung durch Füllung der Zelle während der Ableitung mit einem gap junction-permeablen Marker (Biozytin). Füllung einer GluT-Zelle führt zur Ausbreitung von Biozytin in mehr als 100 Nachbarzellen. Im Gegensatz dazu bleibt bei der GluR-Zelle der Marker in der abgeleiteten Zelle, es wird keine Kopplung mit Nachbarzellen beobachtet (Hüttmann et al., unveröffentlicht). Skalierungsbalken: 50 μ m.

nach, die bisher als rein neuronal galten. Zusammenfassend kann man feststellen, dass GluR-Zellen Eigenschaften von astroglialen, oligodendroglialen und neuronalen Zellen aufweisen und sich einer einfachen Zelltyp-Klassifizierung entziehen.

Neue Ergebnisse zeigen nun, dass GluR-Zellen im Hippokampus direkt synaptisch innerviert werden. Elektronenmikroskopisch konnten Synapsen-ähnliche Strukturen zwischen Neuronen und GFAP-Promotor-positiven Zellen nachgewiesen werden, und funktionelle Analysen bestätigten die synaptische Aktivierung von GluR-Zellen durch glutamaterge und GABAerge Neurone. Eine direkte synaptische Aktivierung wurde auch für NG2-positive Zellen beschrieben, die als Vorläuferzellen von Oligodendrozyten bezeichnet wurden. Die Identität dieser Zellen bleibt unklar, da NG2 im Hippokampus vermutlich eine heterogene Population von Zellen markiert.

Astrozyten unter pathophysiologischen Bedingungen

Gestörte Regulation von Glutamat- und K⁺-Konzentration bei Epilepsie. Am Bonner Neu-

rozentrum haben wir Zugang zu lebendem Hirngewebe von Patienten, die unter Therapie-resistenter Temporallappen-Epilepsie (TLE) leiden. Bei einigen Patienten kann als letzte mögliche Maßnahme ein Teil des Hippokampus entfernt werden, um die Anfallshäufigkeit zu verringern. Nach Zustimmung des Patienten steht ein Teil dieses Gewebes für die Grundlagenforschung zur Verfügung. Es werden zwei TLE-Formen unterschieden: Die Ammonshornsklerose (AHS), die durch einen selektiven Nervenzellverlust sowie reaktive Gliose gekennzeichnet ist, und Läsions-assoziierte Epilepsie, die keine oder nur geringe morphologische Veränderungen im Hippokampus aufweist. Wir sind der Frage nachgegangen, ob auch im menschlichen Hippokampus Gliazellen vom GluR- und GluT-Typ existieren und ob funktionelle Veränderungen astroglialer Zellen an der Entstehung von Anfallsaktivität beteiligt sein könnten.

Im Gewebe von Patienten mit Läsions-assoziiierter Epilepsie existieren tatsächlich die beiden Zelltypen und weisen ähnliche Eigenschaften auf, wie in der Maus (s. oben): GluT-Zellen mit dominierenden zeit- und spannungsunabhängigen Strömen, funktionellen Glutamat-Transportern, ausgeprägter Kopplung und GluR-Zellen mit spannungsabhängigen und einwärtsgerichteten Strömen, die nicht gekoppelt sind und statt Glutamat-Transportern Glutamat-Rezeptoren vom AMPA-Subtyp exprimieren. Bemerkenswerterweise fehlen bei den AHS-Patienten jedoch die GluT-Zellen praktisch vollständig (Abbildung 4). Dieser Verlust von GluT-Zellen bei AHS bedingt eine Störung des Abtransports von synaptisch freigesetztem Glutamat. Wie oben erläutert, ist die astrozytäre Glutaminsynthese außerdem an die Glukoseaufnahme aus Blutkapillaren gekoppelt. Der Verlust von Astrozyten vom GluT-Typ könnte somit die Energieversorgung der umliegenden Nervenzellen verschlechtern und zum Ansteigen des Glutamins im Extrazellulärraum führen, was Übererregbarkeit und neuronalen Zelltod auslösen könnte. Es ist weiterhin bekannt, dass aufgrund der starken neuronalen Aktivität während eines epileptischen Anfalls die extrazelluläre K⁺-Konzentration erheblich ansteigen kann. Der Verlust von gekoppelten Astrozyten ist vermutlich die Ursache dafür, dass bei AHS die extrazellulären K⁺-Ionen nicht mehr effizient abtransportiert werden.

GluR-Zellen im Hippokampus von AHS Patienten besitzen veränderte Rezeptor-Eigenschaften. Uns hat weiterhin interessiert, ob die menschlichen GluR-Zellen im sklerotischen Hippokampus und bei Läsions-asso-



Exkurs

Gliaindex

Der Gliaindex bezeichnet das Verhältnis der Anzahl von Gliazellen zur Anzahl der Nervenzellen. Im Fadenwurm *Caenorabditis elegans* oder im medizinischen Blutegel *Hirudo medicinalis* übersteigt die Anzahl der Nervenzellen die der Gliazellen bei weitem; im Blutegel besteht ein Ganglion aus 25-30 Neuronen und nur einer Gliazelle (Gliaindex ~ 0.04), und im Fadenwurm ist die Zahl der Nervenzellen 6 mal so hoch im Vergleich zu den Gliazellen (Index ~ 0.2). Die Phylogenese geht einher mit einer Zunahme der Komplexität des Gehirns und des Anteils von Gliazellen. Im Kortex von Ratten und Mäusen beträgt der Gliaindex ~ 0,4 während in den Laminae der menschlichen Großhirnrinde die Zahl der Astrozyten die der Nervenzellen um das 2 fache übertrifft (Index ~ 2). Interessanterweise weisen die entsprechenden Areale im Gehirn von Albert Einstein einen höheren Index auf, was die Hypothese unterstützte, dass die Leistungsfähigkeit des Gehirns mit der Größe des Gliaindex korreliert. Diese Annahme ist vermutlich jedoch nicht haltbar: Die Großhirnrinde des Delfins weist beispielsweise einen noch größeren Gliaindex auf als die des Menschen.

ziierter Epilepsie funktionelle Unterschiede aufweisen, wobei wir uns zunächst für die Glutamat-Rezeptoren vom AMPA-Subtyp interessiert haben. Weder die Rezeptor-Stromdichte noch die Ca^{2+} -Permeabilität der Rezeptoren war in Zellen von AHS-Patienten und solchen mit Läsions-assoziiierter Epilepsie verschieden; in beiden Epilepsie-Formen wurde eine mittlere Ca^{2+} -Permeabilität gemessen, ähnlich wie in GluR-Zellen der Maus. Allerdings wiesen die Glutamat-induzierten Ströme von Zellen aus AHS-Gewebe eine langsamere Desensibilisierung auf, was durch eine veränderte Expression von Spleißvarianten der AMPA-Rezeptoren hervorgerufen werden kann. Diese Vermutung konnte durch pharmakologische Experimente und vergleichende Transkriptuntersuchungen an einzelnen Zellen bestätigt werden: In GluR-Zellen aus dem Hippokampus von AHS Patienten ist der Anteil der Rezeptor Untereinheit GluR1flip signifikant höher als in Zellen aus Läsions-assoziiertem Gewebe. Neuronal freigesetztes Glutamat führt folglich bei Sklerose zu einer verlängerten und erhöhten astroglialen Depolarisation.

Diese Veränderungen, zusammen mit dem oben diskutierten Verlust von GluT-Zellen, tragen wahrscheinlich zur Generierung und Ausbreitung von Anfallsaktivität im sklerotischen Hippokampus bei.

Fazit

Die Bedeutung von Gliazellen für die Informationsverarbeitung im Gehirn ist lange Zeit unterschätzt worden. Neue Forschungsergebnisse zeigen, dass diese Zellen für den Energie- und Transmitterhaushalt der Nervenzellen wichtig sind und die Durchblutung regulieren. Gliazellen, insbesondere Astrozyten, sind als aktive Partner der Neurone aber auch an der Bildung von Synapsen sowie an der Modulation und Synchronisation neuronaler Aktivität beteiligt. Dabei wirken sie sowohl als Empfänger neuronaler Signale als auch als Quelle von Signalmolekülen, z.B. Gliotransmittern, die über regulierte Exozytose freigesetzt werden können. Aufgrund dieser Eigenschaften rücken Gliazellen nun zunehmend in den Fokus von Untersuchungen zu Ursachen neurologischer Erkrankungen. Neue Konzepte der Informationsverarbeitung müssen erarbeitet werden, die diesen Erkenntnissen Rechnung tragen. Diesem Ziel dient u.a. auch das Schwerpunktprogramm 'Die Bedeutung der Neuroglia für die Bildung, Funktion und Plastizität von Synapsen', das seit 2004 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert wird. Es ist höchste Zeit, dass Gliazellen auch in den Standard-Lehrbüchern der Physiologie eine ihrer Bedeutung entsprechende Berücksichtigung finden.

Literatur

- Bezzi, P., Gunderson, V., Galbete, J.L., Seifert, G., Steinhäuser, C., Pilati, E. und Volterra, A. (2004): Astrocytes contain a vesicular compartment that is competent for regulated exocytosis of glutamate. *Nat Neurosci* 7: 613-620.
- Fellin, T. und Carmignoto, G. (2004): Neurone-astrocyte signalling in the brain represents a distinct multifunctional unit. *J Physiol* 559: 3-15.
- Magistretti, P.J. und Pellerin, L. (1999): Astrocytes couple synaptic activity to glucose utilization in the brain. *News Physiol Sci* 14: 177-182.
- Matthias, K., Kirchhoff, F., Seifert, G., Hüttmann, K., Matyash, M., Kettenmann, H. und Steinhäuser, C. (2003): Segregated expression of AMPA-type glutamate receptors and glutamate transporters defines distinct astrocyte populations in the mouse hippocampus. *J Neurosci* 23: 1750-1758.
- Mulligan, S.J. und MacVicar, B.A. (2004): Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. *Nature* 431: 195-199.

Eine vollständige Literaturliste kann von den Autoren angefordert werden.

Danksagung

Die Autoren danken allen Kollegen, mit denen im Rahmen der hier vorgestellten Projekte zusammengearbeitet wurde. Unsere Arbeiten werden gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB/TR3, SE 774/3, RJ 942/4) und den Fonds der Chemischen Industrie.

Kurzbiographien

Gerald Seifert: geboren 1962, 1983-1988 Studium der Chemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, 1988-1992 wissenschaftlicher Assistent am Institut für Organische und Makromolekulare Chemie der Universität Jena, 1993 Promotion an der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät, 1993-1997 Postdoc in der Arbeitsgruppe Membranphysiologie am Institut für Physiologie der Universität Jena, 1998 bis 2002 wissenschaftlicher Assistent in der Abteilung Experimentelle Neurobiologie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 2002 Habilitation für Physiologie, seit 2003 Oberassistent in der Abteilung Experimentelle Neurobiologie der Universität Bonn.

Christian Steinhäuser: geboren 1956, 1977-1982 Studium der Physik an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, 1982-1989 wissenschaftlicher Assistent am Institut für Neurobiologie und Hirnforschung Magdeburg, 1983-1985 Teilstudium Medizin, 1988 Promotion an der Biologischen Fakultät der Universität Jena, 1990-1997 Leiter einer Arbeitsgruppe Membranphysiologie am Institut für Physiologie der Universität Jena, 1995 Habilitation für Physiologie, 1995-1997 kommissarische Leitung des Instituts für Physiologie I der Universität Jena, 1997 Ruf auf eine Professur für Experimentelle Neurobiologie an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Christian Steinhäuser
 Experimentelle Neurobiologie
 Klinik für Neurochirurgie
 Universität Bonn
 Sigmund Freud Str. 25,
 D-53105 Bonn
 Tel: + 49 (0) 228 287 9028
 Fax: + 49 (0) 228 287 9121
 e-mail: christian.steinhaeuser@ukb.uni-bonn.de