

Institut für Neuroanatomie

■ Direktor: Prof. Dr. Claudia Grothe

Tel.: 0511 / 532-2896 • E-Mail: Grothe.Claudia@mh-hannover.de • www.mh-hannover.de/neuroanatomie.html

Forschungsprofil

Im Mittelpunkt unseres wissenschaftlichen Interesses steht die physiologische Rolle neurotropher Faktoren während der neuronalen Entwicklung und bei De- und Regenerationsvorgängen im Nervensystem sowie die potentielle Applikation neurotropher Faktoren bei neurodegenerativen Erkrankungen. Besonderes Interesse liegt dabei auf den zellulären und molekularen Interaktionen beim Morbus Parkinson, der Spinalen Muskelatrophie und der peripheren Nervenregeneration. Die verschiedenen Fragestellungen werden in vitro und in vivo unter Verwendung entsprechender Mausmutanten und geeigneter Tiermodelle bearbeitet. Erkenntnisse aus diesen Studien bilden die Grundlage für die Entwicklung alternativer therapeutischer Strategien. Die Effizienz der Applikation gentechnisch modifizierter Zellen evaluieren wir in entsprechenden Rattenmodellen des Morbus Parkinson und nach peripherer Nervenläsion im Hinblick auf die morphologische und funktionelle Integration der transplantierten Stamm-Zellen (Morbus Parkinson) und Schwann-Zellen (periphere Nerven).

Forschungsprojekte

Tissue engineering peripherer Nerven: Entwicklung innovativer Nerventransplantate zur Rekonstruktion peripherer Nerven

Nach einem Durchtrennungstrauma im Nervensystem ist das Längenwachstum von Nervenfasern (Axonen) essentiell für die Wiederherstellung funktioneller Kontakte zwischen Nervenzellen (Neuronen) und dem Zielgewebe. Im peripheren Nervensystem, anders als im zentralen Nervensystem, können Regenerationsprozesse, in Abhängigkeit von der räumlichen Ausdehnung der Defekte, erfolgreich ablaufen. Dabei liegt der Unterschied in der Regenerationsfähigkeit nicht allein in den verletzten Nervenfasern selbst, sondern auch in der, im peripheren und zentralen Nervensystem, sehr unterschiedlichen zellulären und molekularen Umgebung begründet. Der klinische Goldstandard zur Überbrückung großer Defektstrecken in peripheren Nerven (20 mm oder mehr beim Menschen), ist die Verwendung eines autologen sensiblen Nerventransplantates, das meist aus den, in den Unterschenkeln verlaufenden, Nervi surales der Patienten gewonnen wird. Leider ist aber, vor allem bei ausgedehnten Nervenverletzungen (z.B. Verletzungen des Arm-Nerven-Geflechtes), die Verfügbarkeit autologen Nervengewebes häufig nicht vollständig bedarfsdeckend. Außerdem ist, selbst bei bestmöglichem Ausgang, das Ausmaß der funktionellen Wiederherstellung nach Autotransplantation häufig insuffizient.

Daher erfordert eine optimierte Behandlung zur Verbesserung der peripheren Nervenregeneration nach Rekonstruktion großer Nervenunterbrechungen innovative Konzepte im Sinne des „Tissue engineering“. Das Tissue engineering verbindet die Verwendung von biomedizinischen Materialien und die Transplantation von Zellen zum Ersatz von verletztem Gewebe. Für die Rekonstruktion peripherer Nerven werden schlauchförmige Transplantate benötigt, die, zwischen getrennte Nervenstümpfe eingenäht, den sie durchwachsenden, regenerierenden Nervenfasern den Anschluss an den abgetrennten Nervenstumpf ermöglichen können. Die verwendeten Biomaterialien sollten darüber hinaus mit regenerationsfördernden Substanzen dekoriert werden können oder solche freisetzen. Die Besiedlung biosynthetischer Nerventransplantate mit gentechnisch veränderten Zellen bietet zudem die Möglichkeit, gentherapeutische Maßnahmen in der peripheren Nervenrekonstruktion und -regeneration anzuwenden. Ein „intelligentes“ Nerventransplantat

sollte nicht nur wiederauswachsenden Nervenfasern als richtungsgebende Leitstruktur dienen, es sollte vielmehr den Regenerationsprozess beschleunigen und synchronisieren.

Unsere Arbeitsgruppe bearbeitet seit einigen Jahren Fragestellungen zur Förderung der peripheren Nervenregeneration. Wir haben Protokolle etabliert und grundlegende in vivo Experimente durchgeführt, auf deren Basis die Transplantation von in vitro gentechnisch veränderten, autologen adulten Schwann-Zellen in verschiedene Spezies (Ratte, Hund, Mensch) möglich wird (z.B.; Haastert K et al., 2007, Nat Protoc 2:99-104 und Schmitte et al., 2010, J Neurosci Methods 186:202-8).

Im Ratten-Modell konnten wir darüber hinaus zeigen, dass die Überbrückung eines 10-15 mm großen Nervendefektes mit Silikon-Röhrchen dann zu einer sehr guten Wiederherstellung der geweblichen Kontinuität des betroffenen Nervens und einer weitreichenden Myelinisierung regenerierter Axone führt, wenn zeitgleich gentechnisch veränderte Schwann-Zellen transplantiert wurden, die Fibroblastenwachstumsfaktor - 2 (FGF-2) überexprimierten. Dies gilt insbesondere für Schwann-Zellen, welche die höhermolekularen Isoformen von FGF-2, FGF-2-21/23kD, überexprimieren (Haastert et al., 2006 Neurobiol Dis 21:138-53 und Haastert et al., 2008, Neurosci Lett 443:179-83).

Da aber in den oben genannten Untersuchungen die funktionelle Wiederherstellung der Nervenfunktion nur unzureichend blieb, haben wir die Rekonstruktion einer langstreckigen Nervenlücke mittels Autotransplantat oder Schwann-Zell-gefüllten Silikonröhrchen mit der intraoperativen elektrischen Stimulation des proximalen Nervenstumpfes kombiniert. Wie zuvor für kurze Defektstrecken, konnten wir in diesen Untersuchungen zeigen, dass eine solche physikalische Zusatzbehandlung die axonale und funktionelle Regeneration über lange Defektstrecken (13 mm in Nervus ischiadicus der Ratte) unterstützt (Haastert-Talini et al., 2011, J Neurotrauma Jan 25. [Epub ahead of print]).

Auch die Frage, welches Biomaterial für die Herstellung peripherer Nervenimplantate geeignet sein kann, wurde in jüngeren Studien adressiert. Wir haben exogene Polysialinsäure (PolySia) als mögliches Basismaterial in tubulären Nervenimplantaten mit der Schwann-Zell-Ersatztherapie kombiniert und zunächst gezeigt, dass PolySia keine negativen Effekte auf das Überleben transplantierte Schwann-Zellen und die periphere Nervenregeneration hat. Vielmehr zeigte sich ein förderlicher Effekt auf die axonale Regeneration (Haastert-Talini et al., 2010, Tissue Eng Part A 16:3085-98). Zukünftige Studien mit immobilisierter PolySia, z. B. als Baustein von Nanofasern im Inneren tubulärer Nervenimplantate werden zeigen, ob PolySia tatsächlich ein geeignetes Basismaterial sein kann.

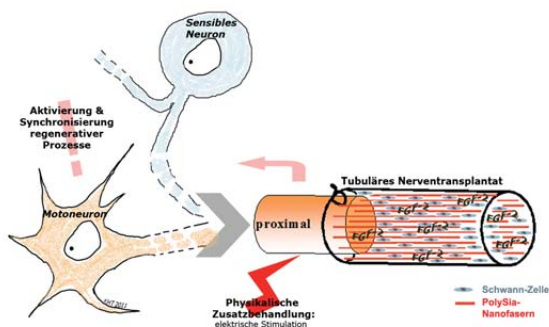


Abb. 1: Die Regenerationsprozesse in sensiblen und motorischen Neuronen, deren periphere Axone durchtrennt wurden, müssen zur Wiederherstellung langstreckiger Nervendefekte verstärkt und gelenkt werden. Dazu kann ein tubuläres Nervenimplantat aus geeigneten Biomaterialien in die Defektstrecke eingebracht werden. Dieses biodegradierbare Gerüst dient der Ansiedlung von therapeutischen Schwann Zellen, die zum Beispiel FGF-2 als regenerationsfördernde Substanz freisetzen. Die innere Ausgestaltung des Containers mit Nanofasern aus PolySia bietet den regenerierenden Fasern eine Leitstruktur und beschleunigt bestenfalls ihr Wachstum. Die zusätzliche elektrische Stimulation des proximalen Nervenstumpfes dient der verstärkten Aktivierung und Synchronisation regenerativer Prozesse in allen verletzten Neuronen zum Zeitpunkt der Rekonstruktion der Nervenlücke. Zukünftige Projekte befassen sich mit den Fragen, welche weiteren regenerationsfördernden Substanzen in die Nervenimplantate eingebracht werden sollten und welche Biomaterialien am besten geeignet sind, die äußere Hülle der Transplante zu bilden.

Damit lässt sich der konzeptionelle Rahmen („Tissue engineering“ peripherer Nerven) dieses Forschungsschwerpunktes des Institutes für Neuroanatomie mit dem folgenden Schema zusammenfassend darstellen:

■ Projektleitung: Haastert-Talini, Kirsten (PD Dr.), Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Förderung: Stiftung Sibylle Assmus; Förderpreis Neuroregeneration, Internationale Stiftung Neurobionik, DFG-Forschergruppe FOR-548/24-1

Weitere Forschungsprojekte

Etablierung Polysialinsäure-basierter Gerüste als Nervenimplantate - in vitro Evaluierung

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Förderung: DFG-Forschergruppe FOR-548/20-3

Molekulare Analyse des FGF-2-Systems während der Entwicklung dopaminerger Neurone

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Förderung: DFG-Normalverfahren

Zellbasierte Therapie im Rattenmodell des Morbus Parkinson - Morphologische und funktionelle Integration gentechnisch modifizierter neuronaler Stammzellen

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Förderung: MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover

Morphometrische und funktionelle Untersuchungen an Polysialinsäure-Mausmutanten nach peripherer Nervenläsion

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.), Jungnickel, Julia (Dr.); Kooperationspartner: Gerardy-Schahn, Rita (Prof. Dr.), Weinhold, Birgit (Dr.), Eckhardt, Matthias (PD Dr.); Förderung: DFG-Normalverfahren

Physiologische Rolle des basischen Fibroblastenwachstumsfaktors für die Wiederherstellung sensorischer und motorischer Funktionen nach Verletzung peripherer Nerven

■ Projektleitung: Jungnickel, Julia (Dr.), Grothe, Claudia (Prof. Dr.)

Pathogenese der Spinalen Muskelatrophie, einer neurodegenerativen Motoneuronen-Erkrankung

■ Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover

Entwicklung einer Therapie der Spinalen Muskelatrophie durch Inhibition der Rho-Kinase

■ Projektleitung: Claus, Peter (Prof. Dr.); Förderung: Philipp & Freunde - SMA Deutschland e.V.

Bedeutung des neurotrophen Faktors FGF-2 bei der Amyotrophen Lateralsklerose - Untersuchungen an Doppelmausmutanten

■ Projektleitung: Grothe, Claudia (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Petri, Susanne (Prof. Dr.); Förderung: Deutsche Gesellschaft für Muskelkranke e.V. (DGM)

Originalpublikationen

Haastert K, Joswig H, Jäschke KA, Samii M, Grothe C. Nerve repair by end-to-side nerve coaptation: histologic and morphometric evaluation of axonal origin in a rat sciatic nerve model. *Neurosurgery* 2010;66(3):567-76; discussion 576-7

Haastert-Talini K, Schaper-Rinkel J, Schmitte R, Bastian R, Mühlhoff M, Schwarzer D, Draeger G, Su Y, Scheper T, Gerardy-Schahn R, Grothe C. In Vivo Evaluation of Polysialic Acid as Part of Tissue-Engineered Nerve Transplants. *Tissue Eng Part A* 2010;16(10):3085-3098

Jungnickel J, Kalve I, Reimers L, Nobre A, Wesemann M, Ratzka A, Halfer N, Lindemann C, Schwabe K, Tollner K, Gernert M, Grothe C. Topology of intrastriatal dopaminergic grafts determines functional and emotional outcome in neurotoxin-lesioned rats. *Behav Brain Res* 2010;216(1):129-135

Nobre A, Kalve I, Cesnulevicius K, Ranganckova D, Ratzka A, Halfer N, Wesemann M, Krampfl K, Claus P, Grothe C. Characterization and differentiation potential of rat ventral mesencephalic neuronal progenitor cells immortalized with SV40 large T antigen. *Cell Tissue Res* 2010;340(1):29-43

Ratzka A, Mundlos S, Vorkamp A. Expression patterns of sulfatase genes in the developing mouse embryo. *Dev Dyn* 2010;239(6):1779-1788

Steinhaus S, Stark Y, Bruns S, Haile Y, Scheper T, Grothe C, Behrens P. Polysialic acid immobilized on silanized glass surfaces: a test case for its use as a biomaterial for nerve regeneration. *J Mater Sci Mater Med* 2010;21(4):1371-1378

Übersichtsarbeiten

Haastert-Talini K. Gene therapy approaches for neuroregeneration. *Curr Gene Ther* 2011;11(2):74

Buchbeiträge, Monografien

Haastert-Talini K. „Experimental approaches on tissue engineering repair of peripheral nerve gaps“. In: Fonseca DJ, Martins JL. [Hrsg.]: *The sciatic nerve : blocks, injuries, and regeneration*. Hauppauge, N.Y.: Nova Science, 2011.

Abstracts

2010 wurden 13 Abstracts publiziert.

Promotionen

Nölle, Anna (Dr. rer. nat.): Einfluß von SMN auf den Rho-Kinase Weg und axonale SMN-Proteinkomplexe.

Kreth, Janett (geb. Schaper-Rinkel) (Dr. rer. nat.): Förderung der peripheren Nervenregeneration durch „Tissue engineering“ - In vivo-Applikation von PolySia-basierten Biomaterialien.

Baillot, Gunther (Dr. med.): Einfluß von Fibroblastenwachstumsfaktor - 2 (FGF-2) und dem Survival of Motoneuron-Protein (SMN) auf die Genexpression.

Konitzer, Jens (Dr. med.): Die Beeinflussung der peripheren Nervenregeneration durch Überexpression von Fibroblastenwachstumsfaktor - 2 im Mausmodell.

Joswig, Holger (Dr. med.): End-zu-End- versus End-zu-Seit-Anastomose: Histologische und morphometrische Untersuchung der Regeneration durchtrennter peripherer Nerven im Rattenmodell.

Jäschke, Katharina-Anna (Dr. med.): Untersuchung zur Qualität der peripheren Nervenregeneration in zwei Rekonstruktionsmodellen: Bihybride Anastomose und End-zu-Seit-Koaptation.

Korte, Nele (Dr. med. vet.): Periphere Nervenregeneration über große Defektstrecken in der Ratte: Untersuchungen des therapeutischen Einflusses der intraoperativen Elektrostimulation nach Autotransplantation und Etablierung der elektrodiagnostischen Verlaufsuntersuchung.

Diplome

Förthmann, Benjamin (Dipl.-Biochem.): Nukleare Funktionen des Fibroblastenwachstumsfaktors - 2 (FGF-2).

Hensel, Niko (Dipl.-Biochem.): Neuronale Differenzierung und Dysregulation von messenger RNAs bei der Spinalen Muskelatrophie.

Stipendien

Nölle, Anna (Dipl.-Biol.): MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover.

Kalve, Ieva (Ärzt): MWK-Graduiertenförderung durch das ZSN Hannover.

Nölle, Anna (Dipl.-Biol.): Reisestipendium der Initiative SMA.

Baron, Olga (Dipl.-Biol.): Reisestipendium der GlaxoSmithKline-Stiftung.

Hettwer, Timo (cand. med.): Structmed MHH.

Wissenschaftspreise

Haastert-Talini, Kirsten (PD Dr.): Förderpreis zur Unterstützung wissenschaftlicher Arbeiten auf dem Gebiet der Neuroregeneration der Stiftung Sibylle Assmus in Kooperation mit dem NervClub.

Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Grothe, Claudia (Prof. Dr.): Mitglied im Kuratorium der Stiftung Sibylle Assmus; gutachterliche Tätigkeiten für Forschungsförderung (z. B. VolkswagenStiftung; Fachausschuss Lebenswissenschaften im Elitenetzwerk Bayern, Elitestudiengang „Experimental and Clinical Neurosciences“); Gutachter für diverse Fachjournale.

Claus, Peter (Prof. Dr.): Gutachter für die DFG und andere Organisationen der Forschungsförderung; gutachterliche Tätigkeiten für diverse Fachjournale.

Haastert-Talini, Kirsten (PD Dr.): Gutachterliche Tätigkeiten für Forschungsförderung und diverse Fachjournale.