

Neuronale Zeroidlipofuszinosen (NCL) im Tiermodell

Die neuronalen Zeroidlipofuszinosen (NCL) sind fatale Erkrankungen, für die im Interesse der betroffenen Patienten und Familien jede Anstrengung unternommen werden sollte, eine Therapie zu finden. Aufgrund der Seltenheit dieser Erkrankungen wird es immer schwer sein, Therapiestudien durchzuführen, die den gängigen Evidenzkriterien entsprechen. Zur Entwicklung von Hypothesen für rationale therapeutische Strategien sind Untersuchungen an Tiermodellen unerlässlich. Aus augenärztlicher Sicht wäre es von besonderem Interesse, Modelle zur Verfügung zu haben, welche die in der Regel beim Menschen schwer verlaufende Netzhautdegeneration aufweisen. Dieses ist jedoch aus bisher nicht geklärten Gründen oftmals nicht der Fall.

Die molekulargenetische Forschung der letzten Jahre und mittlerweile Jahrzehnte hat nicht nur zu einer Revolutionierung in der Diagnostik erblicher Erkrankungen geführt, sondern spielt eine immer größere Rolle für die Entwicklung von Therapieverfahren. Von besonderer Bedeutung sind dabei Mausmodelle, da die Methodik zur Entwicklung dieser Modelle und die Haltung und Untersuchung der Maus gut etabliert sind.

Der Phänotyp der neuronalen Zeroidlipofuszinosen ist vielgestaltig und erfordert sowohl bei der Betreuung der betroffenen Patienten als auch bei der Phänotypisierung der Tiermodelle multidisziplinäre Anstrengungen. Im Vordergrund der

Erkrankungen stehen in der Regel epileptische Anfälle und ein progredienter geistiger Abbau, der z. T. nach vielen Jahren zum Tod führt. Eine wesentliche Manifestation ist die Verschlechterung des Sehens, die innerhalb relativ kurzer Zeit zur Erblindung führt und auf einer Degeneration der Netzhaut beruht. Tiermodelle mit einer vergleichbaren Netzhauterkrankung sind aus zwei Gründen von besonderer Bedeutung:

1. Die Erforschung therapeutischer Strategien zur Verlangsamung oder Verhinderung der Netzhautdegeneration ist sinnvoll, da das oftmals am Beginn der Erkrankung stehende drastisch verminderte Sehvermögen eine besondere Beeinträchtigung darstellt und die ohnehin schwierige Betreuung der Patienten erheblich erschwert.
2. Da die Netzhaut sowohl morphologisch als auch funktionell im Vergleich zu anderen Hirnfunktionen erheblich besser zu untersuchen ist, kann sie dazu dienen, einen etwaigen therapeutischen Effekt einer systemischen Intervention abzulesen (Netzhautfunktion als Surrogatmarker).

Mittlerweile sind 10 Unterformen (CLN1–CLN10) der NCL bekannt, wobei einige Varianten sehr selten sind (s. dazu den Beitrag von F. Stehr). Im Folgenden werden die für die einzelnen Unterformen mittlerweile etablierten Tiermodelle skizziert.

CLN1

Der CLN1 liegt eine Defekt der Palmitoyl-Protein-Thioesterase1 (PPT1) zugrunde. Die exakte physiologische Rolle der PPT1 ist noch nicht bekannt. Es wird vermutet, dass PPT1 unter anderem eine Funktion beim programmierten Zelltod (Apoptose) besitzt [4]. Dabei spielt PPT1 eine apoptoseprotektive Rolle. CLN1 führt klinisch zur infantilen neuronalen Zeroidlipofuszinose (INCL), wobei Veränderungen im *CLN1*-Gen auch bei sich später manifestierenden Formen der NCL beschrieben wurden [6]. Die INCL ist eine schwer verlaufende Form der NCL; sie manifestiert sich im 1. Lebensjahr, und die Kinder versterben oftmals im Alter von ca. 10 Jahren.

Es wurden zwei Mausmodelle für CLN1 beschrieben (Deletion von Exon 9 [13] bzw. 4 [15]). Im Exon-9-Deletionsmodell (*CLN1^{-/-}*) konnte gezeigt werden, dass intrazerebral im Alter von 10 Wochen 20 Gene signifikant verändert sind [9]. Betroffen sind u.a. der Fettstoffwechsel, Zelltransportmechanismen, Gliaktivierung und die Calciumhomöostase. Diese Veränderungen im Mausmodell passen gut zu den für die CLN1 postulierten Pathomechanismen. Genexpressionsstudien im Exon-4-Deletionsmodell (*Ppt1^{Δex4}*) zeigten im Alter von 6 Monaten Veränderungen bei 234 Genen [15]. Nach genauer Analyse dieser weitreichenden Veränderungen geht man davon aus, dass insbesondere das Immunsystem dieser Mäuse verändert ist. Dieses passt zu der Beob-

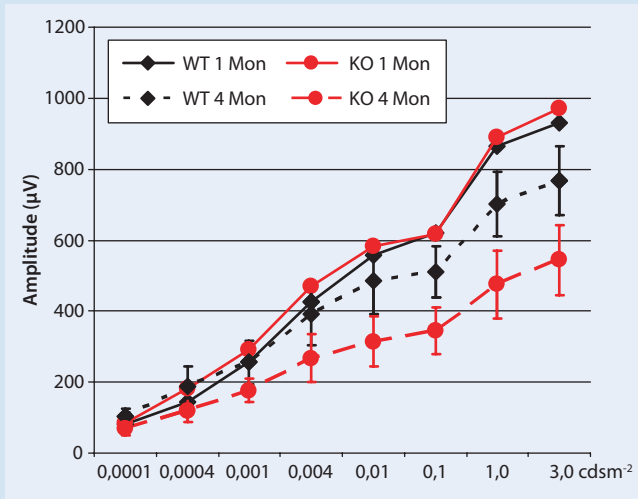


Abb. 1 ▲ Scotopisches ERG von PPT-Knock-out-Mäusen und Kontrollen mit ansteigender Blitzstärke. Zwar zeigt sich im Alter von 4 Monaten eine Verminderung der Potenziale bei betroffenen Mäusen, jedoch ist eine Amplitude des skotopischen 3,0-ERG von ca. 600 µV noch sehr hoch. Auf die Standardabweichungen bei den Einmonatsdaten wurde zugunsten der Übersichtlichkeit verzichtet. Anzahl der untersuchten Tiere: WT 7, KO 8. KO PPT-Knock-out-Mäuse, WT Kontrollen, Mon Monate

achtung, dass Entzündungsprozesse der Neurodegeneration vorausgehen.

Phänotypisch finden sich in beiden Modellen motorische Störungen und Anfälle, eine thalamokortikale Atrophie sowie eine progressive Gliaaktivierung. Ein Sehverlust wird im Alter von 3–4 Monaten beschrieben. Eigene Untersuchungen der Netzhautfunktion zeigen allerdings, dass zumindest im Alter von 4 Monaten zwar eine im Vergleich zu Kontrollen verminderte Funktion der Stäbchen und Zapfen zu beobachten ist, jedoch zumindest die retinalen Antworten keine Erblindung begründen würden (s. skotopische Ableitung in **Abb. 1**). Eine solche eher milde Netzhautdegeneration wird auch von anderen Autoren beschrieben [11]. Daher ist im CLN1-Mausmodell davon auszugehen, dass der retinale Phänotyp milder ist als beim Menschen, wobei entsprechende Netzhautfunktionsdaten beim Menschen bisher nicht veröffentlicht wurden.

Griffey et al. konnten durch eine intravitreal durchgeführte Gentherapie nicht nur die morphologischen Veränderungen der Netzhaut positiv beeinflussen, sondern es zeigten sich überraschenderweise angrenzend an die Sehbahn auch positive Effekte auf die zerebrale Morphologie. Dieses ist umso bemerkenswerter, als die direkte, also intrazerebral applizierte

Gentherapie auch nur lokale Effekte aufwies, die Anfallshäufigkeit und die Überlebenszeit jedoch nicht positiv beeinflusst werden konnten [12].

Andere Tiermodelle als die Maus haben bei CLN1 bisher keine über das Mausmodell hinausgehenden wesentlichen Erkenntnisse geliefert. Beschrieben wurden bisher *Drosophila* und *C. elegans* [16].

CLN2

Das durch das *CLN2*-Gen kodierte Protein ist die Tripeptidyl-Peptidase 1 (TPP1), eine lysosomale Hydrolase. Das Substrat *in vivo* ist bisher nicht abschließend geklärt. *CLN2*-Gen-Defekte führen zur spätinfantilen neuronalen Zeroidlipofuszinose (LINCL). Die TPP1-Aktivität ist bei Betroffenen stark vermindert oder fehlt ganz. Die Krankheit manifestiert sich zwischen dem 2. und 4. Lebensjahr. Zu Beginn der Erkrankung kommt es zu epileptischen Anfällen und Ataxie, gefolgt von progressiven kognitiven und motorischen Ausfällen [16]. Sehstörungen in Folge einer Netzhautdystrophie werden erst im weiteren Verlauf bemerkt.

Für CLN2 existieren zwei Tiermodelle, ein *CLN2*^{-/-}-Mausmodell [38] und ein natürlich vorkommendes Hundemodell [2]. Die Knock-out-Maus weist eine deutliche

und schnelle Neurodegeneration auf, die durchaus Parallelen zur humanen spätinfantilen NCL besitzt. Besonders betroffen sind die thalamokortikalen Bahnen sowie das Kleinhirn. Später zeigt sich eine progressive reaktive Astrozytose im Motorkortex, Hippocampus, Striatum und Kleinhirn. Die Netzhaut hingegen ist zumindest morphologisch intakt [38]; Netzhautfunktionsuntersuchungen (ERG) wurden bisher nicht publiziert.

Das Hundemodell zeigt ebenfalls mit dem Menschen vergleichbare neurologische Defizite, wurde aber bisher nicht systematisch untersucht.

Im Mausmodell wurden Gentherapieversuche unter Verwendung von adenoassoziierten Viren durchgeführt [30]. Dabei geht man so vor, dass das genetische Material durch stereotaktische Injektionen in die von der Erkrankung v. a. betroffenen Regionen eingebracht wird (Motorkortex, Thalamus, Kleinhirn). Es konnte gezeigt werden, dass das Gen exprimiert wird und dass die Menge des pathologischen Speichermaterials vermindert werden konnte. Durch Optimierung des Vektors konnte über die Verminderung des Speichermaterials hinaus auch eine Besserung des neurologischen Phänotyps sowie eine Verlängerung der Lebenserwartung erreicht werden [39]. Bemerkenswert, auf dem Hintergrund des fatalen Krankheitsverlaufs und der infausten Prognose jedoch nachvollziehbar, ist die Tatsache, dass kurze Zeit später bereits vergleichbare Therapieverfahren bei Kindern angewendet wurden [44]. Aus nicht ganz geklärten Gründen starb ein Kind 49 Tage nach der Injektion, bei den anderen wurde jedoch eine Abschwächung der klinischen Symptomatik beobachtet. Dies ist jedoch bei fehlender Kontrollgruppe sicher schwer zu beurteilen.

Am Beispiel der CLN2 zeigt sich jedoch, dass die Mausmodelle bei den neuronalen Zeroidlipofuszinosen einen anderen Stellenwert besitzen als z. B. bei den Netzhautdystrophien. Die Schwelle, ein Therapieverfahren von der Maus auf den Menschen zu übertragen, ist aufgrund des Schweregrads dieser Erkrankungen wesentlich niedriger.

CLN3

Das *CLN3*-Gen kodiert ein Transmembranprotein und ist in der Zelle in Endosomen und Lysosomen lokalisiert, jedoch auch in der Synapsenregion [25]. Die Funktionen des Proteins sind vielfältig und beinhalten z. B. die Aufrechterhaltung des pH-Werts in den Lysosomen, den Aminosäuretransport in die Zelle, den intrazellulären vesikulären Transport und Membranfusionen [16].

Mutationen im *CLN3*-Gen führen zur juvenilen neuronalen Zeroidlipofuszinose (JNCL), auch Spielmeier-Vogt- oder Batten-Mayou-Erkrankung genannt. Es sind mehr als 40 Mutationen beschrieben worden; am häufigsten scheint jedoch die Deletion der Exone 7 und 8 zu sein. *CLN3* ist zwar selten, stellt jedoch die häufigste neuronale Zeroidlipofuszinose und auch die häufigste neurodegenerative Erkrankung des Kindesalters dar. Für die Ophthalmologie ist sie bedeutsam, da die Netzhauterkrankung oftmals das Erstsymptom ist und damit dem Augenarzt eine wichtige Funktion zur Klärung des Krankheitsbilds zukommt (s. auch Beitrag von Krohne in diesem Heft). Die Symptome beginnen typischerweise zwischen dem 5. und 10. Lebensjahr. Nach der schnellen und schweren Progression der Netzhautdegeneration folgt die Minderung der kognitiven Leistungen und epileptische Anfälle. Einschränkungen der Motorik und psychiatrische Symptome komplettieren das Krankheitsbild.

Es existieren 4 Mausmodelle für die JNCL: Deletion der Exons 1–6 [28], Deletion der Exons 7–8 [5], Deletion 1–8 plus β -Galactosidase-Reporter-Gen [8] und ein Knock-out-Modell [18]. Allen Modellen gemeinsam ist ein im Vergleich zum Menschen milder retinaler Phänotyp [35]. Da das Gen durchaus in der Retina exprimiert wird und auch autofluoreszentes Speicher material gefunden wird, bleibt die Ursache für diese Differenz zum humanen Phänotyp unklar. Ansonsten findet man durchaus die neuronalen Veränderungen, wie sie vom Patienten bekannt sind. Interessant ist darüber hinaus, dass auch der Sehnerv möglicherweise in den Erkrankungsprozess einbezogen ist [42]. Auch wenn eine Involvierung des Sehnerven bei JNCL-Patienten nicht auszu-

schließen ist, korreliert der Visus- und Gesichtsfeldverlust doch sehr genau mit der Netzhautdysfunktion, sodass diese als primär anzusehen ist.

Außer Mausmodellen gibt es lediglich *CLN3*-knock-outs bei Würmern (*C. elegans*), die jedoch keinen entsprechenden Phänotyp aufweisen [7].

CLN4

CLN4 (adulte NCL, Morbus Kufs) ist sehr selten und durch den Beginn im Erwachsenenalter gekennzeichnet. Ein Tiermodell für diese Unterform wurde bei unbekanntem Gendefekt bisher nicht publiziert.

CLN5

Das durch das *CLN5*-Gen kodierte aus 407 Aminosäuren bestehende Polypeptid zeigt keinerlei Homologie zu bekannten Proteinen, seine Funktion ist unklar [16]. *CLN5*-Mutationen führen zur finnischen Variante der spätinfantilen neuronalen Zeroidlipofuszinose (*vLINCL*_{Fin}). Der klinische Phänotyp der bisher bekannten 13 unterschiedlichen Mutationen unterscheidet sich kaum. Die Erkrankung beginnt zwischen dem 4. und 7. Lebensjahr meist mit motorischen Störungen, gefolgt von Sehstörungen. Später stellen sich die von anderen NCL-Formen bekannten klinischen Veränderungen ein (Anfälle, Demenz, Tod).

Für *CLN5* gibt es mehrere Tiermodelle. Neben der Knock-out-Maus [23] gibt es natürlich vorkommende Modelle (Hund [26], Rind [14], Schaf [10]). Das neurologische Krankheitsbild bei der Maus ist relativ mild, wobei im Unterschied zu anderen NCL-Mausmodellen der neuronale Verlust im Kortex beginnt und dann erst den Thalamus betrifft [33]. In der Netzhaut konnte autofluoreszentes Speicher material gefunden werden (Ganglienzellschicht, innere und äußere Körnerschicht), jedoch wurden bisher keine elektroretinographischen Untersuchungen veröffentlicht. Die Pathologie der Großtiermodelle ist noch nicht hinreichend untersucht, der klinische Phänotyp zumindest bei Hund und Rind scheint jedoch der menschlichen Erkrankung zu ähneln.

Zur Infektabwehr

Dexagent®-Ophtal®



- Bei Entzündungen des vorderen Augenabschnittes mit bakterieller Beteiligung
- 2-in-1 Lösung für eine bessere Patientenakzeptanz
- Zusätzliche Reizminderung durch befeuchtende Inhaltsstoffe*

Auch als Kombi-Packung erhältlich



*Hyromellose, Povidon, Glycerol in Dexagent®-Ophtal® AT

Dexagent®-Ophtal® Augensalbe / Dexagent®-Ophtal® Augentropfen
Dexagent®-Ophtal® Augentropfen: Wirkstoffe: Gentamicinsulfat und Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (Ph.Eur.). 1 ml Augentropfen enthält Gentamicinsulfat 5 mg (entspr. Gentamicin 3 mg); Dexamethasondihydrogenphosphat-Dinatrium (Ph.Eur.) 1 mg. Sonstige Bestandteile: Cetrimid; Natriummonohydrogenphosphat-Dodecahydrat (Ph.Eur.); Kaliumdihydrogenphosphat; Natriummetabisulfat (Ph.Eur.); Glycerol 85 %; Povidon (K-25); Hyromellose; Natriumacetat (Ph.Eur.); Wasser für Injektionszwecke. Dexagent®-Ophtal® Augensalbe: Wirkstoffe: Gentamicinsulfat und Dexamethason. 1 g Augensalbe enthält Gentamicinsulfat 5 mg (entspr. Gentamicin 3 mg); Dexamethason 0,3 mg. Sonstige Bestandteile: Chlorbutanol-Hemihydrat; Tetradecan-1-ol; Wollwachs; Dickflüssiges Paraffin; Weißes Vaseline; α -Tocopherol (Ph.Eur.); Butylhydroxytoluol (Ph.Eur.); Palmitoylascorbinsäure (Ph.Eur.); Citronensäure-Monohydrat; Glycerolmonostearat; Propylenglycol. **Anwendungsgebiete:** Infektionen des vorderen Augenabschnittes mit Gentamicin-empfindlichen Erregern, z. B. bakterielle Entzündungen von Bindehaut, Hornhaut – ohne Epitheldefekt – und des Lidrandes, die eine stark entzündliche Reaktion aufweisen. Allergische super-infizierte Entzündungen der Bindehaut und des Lidrandes. **Gegenanzeigen:** akute eitrige Erkrankungen des vorderen Augenabschnittes; oberflächliche Herpesinfektionen der Hornhaut (Herpes corneae superficialis); Verletzungen und geschwürige Prozesse der Hornhaut; Augentuberkulose; Pilzinfektionen des Auges; Eng- und Weitwinkelglaukom; Überempfindlichkeit (Allergie) gegen Gentamicin und/oder Dexamethason oder einen der sonstigen Bestandteile. **Nebenwirkungen:** Bei längerfristiger Behandlung: erhöhter Augeninnendruck (Glaukom), Trübung der Augenlinse (Katarakt). Kurz nach Applikation: lokale Irritationen wie Brennen und Stechen. Überempfindlichkeitsreaktionen (u. a. Lid- und Bindehautödem, Juckreiz, Hyperämie der Bindehaut, Kontaktkeizem). Einzelfälle: Erweiterung der Pupille. Nach Verletzungen der Hornhaut: Wundheilungsstörungen. **Warnhinweise:** Arzneimittel für Kinder unzugänglich aufbewahren. Packungsbeilage beachten! Dexagent®-Ophtal® Augensalbe: Enthält Wollwachs, Butylhydroxytoluol und Propylenglycol. Verschreibungspflichtig. Dr. Robert Winzer Pharma GmbH, Brunsbütteler Damm 165-173, 13581 Berlin. (Stand: Mai 2010)

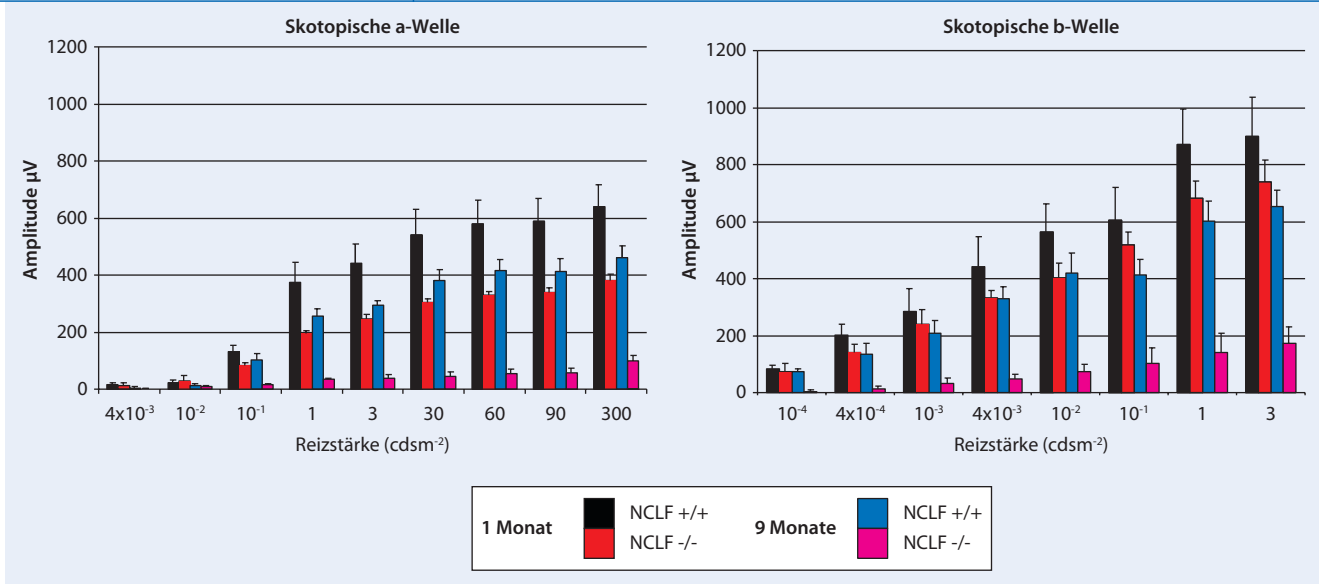


Abb. 2 ▲ Amplituden des skotopischen ERG bei NCLF-Mäusen, einem Modell für CLN6. Im Alter von 9 Monaten zeigt sich eine deutliche Amplitudenminderung bei den KO-Tieren. Die a-Welle ist etwas mehr beeinträchtigt. Anzahl der untersuchten Tiere: WT 5 (Kontrollen), KO 5 (NCLF-Mäuse)

CLN6

CLN6 ist ein aus 311 Aminosäuren bestehendes Membranprotein, das im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert ist [16]. Auch für dieses Protein ist die Funktion noch nicht bekannt, und somit fehlen Vorstellungen zur Pathophysiologie. Mutationen im *CLN6*-Gen verursachen ebenfalls eine Variante der spätinfantilen NCL (vLINCL). Die Erkrankung beginnt zwischen dem 2. und 8. Lebensjahr mit motorischen Defiziten, Dysarthrie und Ataxie. Es folgen Anfälle und Sehstörungen.

Für die CLN6 gibt es natürlich vorkommende Tiermodelle, deren Krankheitsphänotyp Parallelen zur menschlichen Erkrankung aufweist: NCLF-Maus [43] und Schaf [17]. Bei der Maus finden sich Netzhautdegeneration, motorische Einschränkungen und eingeschränkte Lebenserwartung. Eigene Untersuchungen der Netzhautfunktion zeigen eine typische Stäbchen-Zapfen-Degeneration, bei der die skotopische a-Welle eher und mehr als die skotopische b-Welle beeinträchtigt ist (■ **Abb. 2**) und im Alter von 12 Monaten noch Zapfenantworten vorhanden sind, während skotopische Antworten nicht mehr abgeleitet werden können.

Beim Schaf wurde erstmalig die Untereinheit c der mitochondrialen ATP-Synthase als wesentlicher Bestandteil des Speichermaterials identifiziert, was auch

für andere Formen der NCL zutrifft. Vor dem neuronalen Zelluntergang ist im Schafmodell eine Aktivierung der Astrozyten und Mikroglia, z. T. pränatal, beobachtet worden [20], während neuronale Zellen noch intakt waren. Es muss somit ein durch die CLN6-Mutationen bedingtes Signal neuronaler Zellen geben, das zu dieser Aktivierung nichtneuronaler Zellen führt. Wie bei CLN3 wird im Schafmodell auch eine Veränderung des intrazellulären Aminosäurebestands beobachtet.

CLN7

Für CLN7, die türkische Variante der spätinfantilen NCL (vLINCL), existiert kein Tiermodell.

CLN8

CLN8 ist ein aus 286 Aminosäuren bestehendes Membranprotein und ist insbesondere im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert. Seine Funktion ist unbekannt, jedoch gehört es zu einer Proteinfamilie mit Funktionen im Lipidstoffwechsel und -transport [16]. Mutationen im *CLN8*-Gen führen zur nordischen Epilepsie und zu relativ schwer verlaufenden Formen der spätinfantilen Zeroidlipofuszinose (vLINCL, [45]). Die c.70C>G-Mutation des *CLN8*-Gens verursacht meis-

tens die nordische Epilepsie, bei der die epileptischen Anfälle bei den betroffenen Kindern (ab ca. 5. Lebensjahr) und Jugendlichen zunächst im Vordergrund stehen. Erst dann treten die weiteren Manifestationen der Zeroidlipofuszinosen wie motorische Störungen und kognitive Defizite auf, allerdings fehlt die Netzhautdystrophie. Die Patienten können 50 bis 60 Jahre alt werden [24]. Andere CLN8-Mutationen führen zu typischen Fällen von vLINCL mit Netzhautdystrophie.

Es existiert ein natürlich vorkommendes Mausmodell, die Motor-Neuron-Degeneration- (*mnd*-)Maus. Die Maus weist eine Netzhautdystrophie und eine schwere spastische Paralyse auf [31, 36]; elektroretinographische Daten sind nicht publiziert. Der Phänotyp hängt vom genetischen Hintergrund der Maus ab und variiert daher [27]. In *mnd*-Mäusen konnten Veränderungen des Lipidstoffwechsels und des zerebralen Glutamatstoffwechsels sowie Anzeichen erhöhten oxidativen Stresses und mitochondriale Veränderungen nachgewiesen werden [3].

Neben dem Mausmodell für CLN8 gibt es noch ein natürlich vorkommendes Hundemodell, das einen NCL-Phänotyp aufweist [19].

CLN9

CLN9 tritt bei einer geringen Anzahl von Patienten auf, deren Phänotyp CLN3 ähnelt, die jedoch keine Veränderungen im CLN3-Gen aufweisen. Es handelt sich um einen Defekt der Dihydroceramid-Synthase. CLN9-defiziente Fibroblasten zeichnen sich durch einen spezifischen Phänotyp mit schnellem Wachstum, gesteigerter Apoptose und vermindertem Gehalt an Ceramid, Dihydroceramid und Sphingomyelin aus [34]). Das dafür verantwortliche Gen ist unbekannt, sodass es auch keine Tiermodelle gibt bzw. keine bekannt sind.

CLN10

Das CLN10-Gen kodiert die lysosomale Aspartat-Protease Cathepsin D, ein 412-Aminosäuren-Protein. Die Substrate des Enzyms sind in vivo noch nicht bekannt. Man nimmt an, dass Cathepsin D über seine enzymatische Aktivität hinaus noch weitere Wirkungen ausübt (Apoptose, Cholesterinstoffwechsel etc.). Mutationen im CLN10-Gen führen zu der kongenitalen Form der NCL oder einer schwer verlaufenden NCL im Schulalter [37, 40]. Die von der kongenitalen Form der NCL betroffenen Kinder werden schwer erkrankt geboren, leiden unter epileptischen Anfällen und Ateminsuffizienz und sterben innerhalb von Stunden, Tagen oder Wochen nach der Geburt.

Bereits vor der Identifikation von CLN10-Gendefekten beim Menschen waren natürlich vorkommende Tiermodelle bekannt (Schaf [41], amerikanische Bulldogge [1]). Während die Tiere des Schafmodells einen schweren Krankheitsverlauf aufweisen und wenige Tage postnatal versterben, zeigen die des Hundemodells mit Rest-Cathepsin D-Funktion einen milderen Phänotyp mit Netzhautbeteiligung. Ebenfalls sehr mild ist der Krankheitsverlauf bei CLN10-Knock-out-Drosophila melanogaster, die lediglich in älteren Lebensstadien neurodegenerative Veränderungen erkennen lässt.

Schließlich gibt es eine Knock-out-Maus, die einen sehr schwer erkrankten Phänotyp mit Beteiligung nicht nur des Gehirns, sondern auch anderer Organe aufweist [32]. Infolge einer Atrophie

Ophthalmologie 2010 · 107:621–627 DOI 10.1007/s00347-009-2108-9
© Springer-Verlag 2010

K. Rütter

Neuronale Zeroidlipofusinosen (NCL) im Tiermodell

Zusammenfassung

Neuronale Zeroidlipofusinosen (NCL) sind schwer verlaufende und zum vorzeitigen Tod führende neurodegenerative Erkrankungen. Sie gehören zu der Gruppe der lysosomalen Speichererkrankungen. Epileptische Anfälle, Demenz und motorische Defizite sind häufige Symptome, die vor dem gänzlichen Persönlichkeitsabbau und Tod anzutreffen sind. Man unterscheidet zurzeit 10 Unterformen; bei 8 Varianten ist die genetische Grundlage bekannt. Bei den involvierten Proteinen handelt es sich um zytoplasmatische oder Membranproteine, deren Funktion jedoch in den meisten Fällen noch unklar ist. Die Erforschung der Pathologie und Pathophysiologie

der NCL ist in hohem Maße von Tiermodellen abhängig, wobei Mausmodelle, die es für alle Unterformen mit bekanntem Gendefekt gibt, eine herausragende Rolle spielen. Leider ist der retinale Phänotyp bei einigen Mausmodellen nicht so ausgeprägt wie beim Menschen, was die Beurteilung eines positiven Therapieeffekts erschwert. Aufgrund des Schweregrads der NCL werden schon heute lediglich im Mausmodell untersuchte Therapiestrategien beim Menschen angewendet.

Schlüsselwörter

Neuronale Zeroidlipofusino-se · NCL · Tiermodell · Mausmodell · Netzhautdegeneration

NCL in animal models

Abstract

Neuronal ceroid lipofuscinoses (NCL) are severe neurodegenerative diseases leading to early death. They belong to the group of lysosomal storage diseases. Epileptic seizures, dementia and motor deficits are frequent symptoms which are to be found prior to a total dismantling of personality and death. At present 10 subtypes of NCL can be distinguished from which the genetic defect is known in eight. The encoded proteins are soluble or membrane proteins whose function is still unclear in most cases. The investigation of the pathology and pathophysiology of NCL is highly dependent on animal models.

Mouse models existing for all forms with a known genetic defect play a prominent role. Unfortunately, the retinal phenotype of some mouse models is milder than in humans rendering the appreciation of a positive therapeutic effect more difficult. Because of the severity of NCL, therapy strategies only established in a mouse model will be transferred to humans very quickly.

Keywords

Neuronal ceroid lipofuscinoses · NCL · Animal models · Mouse models · Retinal degeneration

der Ileummukosa kommt es zum anorektischen Tod der Mäuse in der 4. postnatalen Woche. Neuropathologisch zeigen sich auch hier vor allem Veränderungen in den thalamokortikalen Bahnen, insbesondere im Bereich der Synapsen sowie eine Astrozytose und aktivierte Mikroglia [29]. Möglicherweise hängt der Zelluntergang in diesem Modell mit autophagosom-/autolysosomähnlichen Körpern zusammen [21]. An der Netzhaut zeigt sich eine schnell verlaufende Degeneration, bei der gezeigt werden konnte, dass die Photorezeptoren durch Apoptose zugrunde gehen, während die Zellen der inneren Körnerschicht sekundär durch die Mikroglia abgebaut werden [22].

Fazit für die Praxis

Für die Erforschung der Pathophysiologie und Therapie der neuronalen Zeroidlipofuszinosen spielen Tiermodelle eine zentrale Rolle. Die Aktivierung und Deaktivierung von Genen in den jeweiligen Krankheitsstadien sowie die Analyse der involvierten Proteine sind sinnvoll nur im Tiermodell möglich. Eine zentrale Rolle spielen Mausmodelle. Wurm und Fliege spielen bei den NCL eine untergeordnete Rolle. Große Tiermodelle (Hund, Rind etc.) gibt es für einige Unterformen. Sie können für die Grundlagenforschung nur in begrenztem Maße herangezogen werden, sind aber für Therapiestudien interessant. Allerdings zeigt das Beispiel CLN2, dass man aufgrund der Schwere des Krankheitsbilds bei auch nur ansatzweise positiven Therapieeffekten im Mausmodell sehr rasch das Verfahren auf den Menschen überträgt. Die Netzhautdegeneration ist theoretisch ein hervorragender Surrogatmarker für die Evaluation von Therapiever suchen, ist aber bei einigen Mausmodellen nur sehr mild ausgeprägt.

Korrespondenzadresse

K. Rütther

Arbeitsbereich Strabologie/Neuroophthalmologie, Augenklinik, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin Klaus.ruether@charite.de

Interessenkonflikt. Keine Angaben.

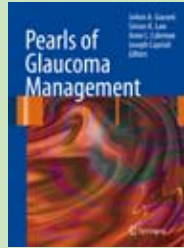
Literatur

- Awano T, Katz ML, O'Brien DP et al (2006a) A mutation in the cathepsin D gene (CTSD) in American bulldogs with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Genet Metab* 87:341–348
- Awano T, Katz ML, O'Brien DP et al (2006b) A frame shift mutation in canine TPP1 (the ortholog of human CLN2) in a juvenile Dachshund with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Genet Metab* 89:254–260
- Bertamini M, Marzani B, Guarneri R et al (2002) Mitochondrial oxidative metabolism in motor neuron degeneration (mnd) mouse central nervous system. *Eur J Neurosci* 16:2291–2296
- Cho S, Dawson PE, Dawson (2000) Antisense palmitoyl protein thioesterase 1 (PPT1) treatment inhibits PPT1 activity and increases cell death in LAN-5 neuroblastoma cells. *J Neurosci Res* 62:234–234
- Cotman SL, Vrbancic V, Lebel LA et al (2002) Cln3(Deltaex7/8) knock-in mice with the common JNCL mutation exhibit progressive neurologic disease that begins before birth. *Hum Mol Genet* 11:2709–2721
- Das AK, Becerra CH, Yi W et al (1998) Molecular genetics of palmitoyl-protein thioesterase deficiency in the U.S. *J Clin Invest* 102:361–370
- Voer G de, Bent P van der, Rodrigues AJ et al (2005) Deletion of the caenorhabditis elegans homologues of the CLN3 gene, involved in human juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis, causes a mild progeric phenotype. *J Inher Metab Dis* 28:1065–1080
- Eliason SL, Stein CS, Mao Q et al (2007) A knock-in reporter model of Batten disease. *J Neurosci* 27:9826–9834
- Elshatory Y, Brooks AI, Chattopadhyay S (2003) Early changes in gene expression in two models of Batten disease. *FEBS Lett* 538:207–212
- Frugier T, Mitchell NL, Tammen I et al (2008) A new large animal model of CLN5 neuronal ceroid lipofuscinosis in Borderdale sheep is caused by a nucleotide substitution at a consensus splice site (c.571+1G>A) leading to excision of exon 3. *Neurobiol Dis* 29:306–315
- Griffey M, Macauley SL, Ogilvie JM, Sands MS (2005) AAV2-mediated ocular gene therapy for infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Ther* 12:413–421
- Griffey MA, Wozniak D, Wong M et al (2006) CNS-directed AAV2-mediated gene therapy ameliorates functional deficits in a murine model of infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Ther* 13:538–547
- Gupta P, Soyombo AA, Atashband A et al (2001) Disruption of PPT1 or PPT2 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:13566–13567
- Houweling PJ, Cavanagh JA, Palmer DN et al (2006) Neuronal ceroid lipofuscinosis in Devon cattle is caused by a single base duplication (c.662dupG) in the bovine CLN5 gene. *Biochim Biophys Acta* 1762:890–897
- Jalanko A, Vesa J, Manninen T et al (2005) Mice with Ppt1Deltaex4 mutation replicate the INCL phenotype and show an inflammation-associated loss of interneurons. *Neurobiol Dis* 18:226–241
- Jalanko A, Bräulke T (2009) Neuronal ceroid lipofuscinosis. *Biochim Biophys Acta* 1793:697–709
- Jolly RD, Shimada A, Dopfner I et al (1989) Ceroid lipofuscinosis (Batten's disease): pathogenesis and sequential neuropathological changes in the ovine model. *Neuropathol Appl Neurobiol* 15:371–383
- Katz ML, Shibuya H, Liu PC et al (1999) A mouse gene knockout model for juvenile ceroid-lipofuscinosis (Batten disease). *J Neurosci Res* 57:551–556
- Katz ML, Khan S, Awano T et al (2005) A mutation in the CLN8 gene in English Setter dogs with neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Biochem Biophys Res Commun* 327:541–547
- Kay GW, Palmer DN, Rezaie P, Cooper JD (2006) Activation of non-neuronal cells within the prenatal developing brain of sheep with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Brain Pathol* 16:110–116
- Koike M, Nakanishi H, Saftig P et al (2000) Cathepsin D deficiency induces lysosomal storage with ceroid lipofuscin in mouse CNS neurons. *J Neurosci* 20:6898–6906
- Koike M, Shibata M, Ohsawa Y et al (2003) Involvement of two different cell death pathways in retinal atrophy of cathepsin D-deficient mice. *Mol Cell Neurosci* 22:146–161
- Kopra O, Vesa J, Schantz C von et al (2004) A mouse model for Finnish variant late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN5, reveals neuropathology associated with early aging. *Hum Mol Genet* 13:2893–2906
- Lang AH, Hirvasniemi A, Siivola J (1997) Neurophysiological findings in the northern epilepsy syndrome. *Acta Neurol Scand* 95:1–8
- Liu K, Kopra O, Lehtovirta M, Jalanko A (2001) CLN3 protein is targeted to neuronal synapses but excluded from synaptic vesicles: new clues to Batten disease. *Hum Mol Genet* 10:2123–2131
- Melville SA, Wilson CL, Chiang CS et al (2005) A mutation in canine CLN5 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in border collie dogs. *Genomics* 86:287–294
- Messer A, Plummer J, MacMillen MC, Frankel WN (1995) Genetics of primary and timing effects in the mnd mouse. *Am J Med Genet* 57:361–364
- Mitchison HM, Bernard DJ, Greene ND et al (1999) Targeted disruption of the Cln3 gene provides a mouse model for Batten disease. *The Batten mouse model consortium. Neurobiol Dis* 6:321–334. Erratum in. *Neurobiol Dis* 2000 7(2):127
- Partanen S, Haapanen A, Kielar C et al (2008) Synaptic changes in the thalamocortical system of cathepsin D-deficient mice: a model of human congenital neuronal ceroid-lipofuscinosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 67:16–29
- Passin MA, Dodge JC, Bu J et al (2006) Intracranial delivery of CLN2 reduces brain pathology in a mouse model of classical late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *J Neurosci* 26:1334–1342
- Ranta S, Zhang Y, Ross B et al (1999) The neuronal ceroid lipofuscinosis in human EPMR and mnd mutant mice are associated with mutations in CLN8. *Nat Genet* 23:233–236
- Saftig P, Hetman M, Schmahl W et al (1995) Mice deficient for the lysosomal proteinase cathepsin D exhibit progressive atrophy of the intestinal mucosa and profound destruction of lymphoid cells. *EMBO J* 14:3599–3608
- Schantz C, Kielar C, Hansen SN et al (2009) Progressive thalamocortical neuron loss in Cln5 deficient mice: Distinct effects in Finnish variant late infantile NCL. *Neurobiol Dis* 34:308–319
- Schulz A, Mousallem T, Venkataramani M et al (2006) The CLN9 protein, a regulator of dihydrooramidase synthase. *J Biol Chem* 281:2784–2794
- Seigel GM, Lotery A, Kummer A et al (2002) Retinal pathology and function in a Cln3 knockout mouse model of juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis (Batten disease). *Mol Cell Neurosci* 19:515–527

36. Seigel GM, Wagner J, Wronska A et al (2005) Progression of early postnatal retinal pathology in a mouse model of neuronal ceroid lipofuscinosis. *Eye (Lond)* 19:1306–1312
37. Siintola E, Partanen S, Strömme P et al (2006) Cathepsin D deficiency underlies congenital human neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Brain* 129:1438–1445
38. Sleat DE, Wiseman JA, El-Banna M et al (2004) A mouse model of classical late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis based on targeted disruption of the CLN2 gene results in a loss of tripeptidyl-peptidase I activity and progressive neurodegeneration. *J Neurosci* 24:9117–9126
39. Sondhi D, Hackett NR, Peterson DA et al (2007) Enhanced survival of the LINCL mouse following CLN2 gene transfer using the rh.10 rhesus macaque-derived adeno-associated virus vector. *Mol Ther* 15:481–491
40. Steinfeld R, Reinhardt K, Schreiber K et al (2006) Cathepsin D deficiency is associated with a human neurodegenerative disorder. *Am J Hum Genet* 78:988–998
41. Tynnelä J, Sohar I, Sleat DE et al (2000) A mutation in the ovine cathepsin D gene causes a congenital lysosomal storage disease with profound neurodegeneration. *EMBO J* 19:2786–2792
42. Weimer JM, Custer AW, Benedict JW et al (2006) Visual deficits in a mouse model of Batten disease are the result of optic nerve degeneration and loss of dorsal lateral geniculate thalamic neurons. *Neurobiol Dis* 22:284–293
43. Wheeler RB, Sharp JD, Schultz RA et al (2002) The gene mutated in variant late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis (CLN6) and in nclf mutant mice encodes a novel predicted transmembrane protein. *Am J Hum Genet* 70:537–542
44. Worgall S, Sondhi D, Hackett NR et al (2008) Treatment of late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis by CNS administration of a serotype 2 adeno-associated virus expressing CLN2 cDNA. *Hum Gene Ther* 19:463–474
45. Zelnik N, Mahajna M, Iancu TC et al (2007) A novel mutation of the CLN8 gene: is there a mediterranean phenotype? *Pediatr Neurol* 36:411–413

Giaconi JA, Law SK, Coleman AL, Caprioli J **Pearls of Glaucoma Management**

Springer-Verlag GmbH 2010, 400 S., 200 Abb., (ISBN 978-3-540-68238-7), 106.00 EUR



Der schöne Titel des neuen Lehrbuches, dass 2010 im Springer-Verlag erschienen ist, klingt verheißungsvoll. Schauen wir einmal genauer hin:

Das von amerikanischen Kollegen editierte Buch umfasst über 450 Seiten mit 61 Beiträgen, die man grob in Diagnostik und Interpretation, Risikofaktoren für Glaukom, medikamentöse Therapie, operative Prozeduren, besondere Glaukomformen, und postoperative Komplikationen einteilen kann. Das sehr ansprechende Design und der Aufbau der einzelnen Kapitel ist im gesamten Buch konstant gehalten. So beginnt jeder Beitrag mit einer „core message“, die das gesamte Kapitel mitsamt der Unterkapitel zusammenfasst und damit übersichtliche, aber prägnante Information liefert. Zusätzlich beinhaltet jedes Unterkapitel eine „Summary for the clinician“, die neben der attraktiven Farbgestaltung die wichtigsten Punkte noch einmal darstellt. Da diese Zusammenfassungen recht ausführlich und im Buch zahlreich vertreten sind, ist dem Leser die Möglichkeit gegeben, nach dem Durchlesen immer wieder einmal eine „Auffrischung“ in Kürze vorzunehmen, ohne das gesamte Kapitel erneut zu lesen. Sehr nett sind die Titel der einzelnen Kapitel. Diese sind nämlich in der Frageform gehalten. Ein Titel lautet zum Beispiel: „What exactly is neuroprotection?“ Oder „Why has central corneal thickness become so important?“ Hierzu muss man das Anliegen verstehen, aus welchem heraus dieses Buch entstanden ist: Das Buch wurde basierend auf den Fragen, die klinisch tätige Augenärzte und (Jung-)Assistenten in der Ausbildung an ihre Ausbilder, die Glaukomspezialisten stellen, entwickelt. Daher ist das Buch weniger als Grundlagenbuch über die Glaukomerkrankung zu verstehen als vielmehr als ein aktueller Begleiter bei der Beantwortung gegenwärtiger Fragen. So werden zum Beispiel im Kapitel „IOP fluctuation“ Ergebnisse von Konsensus-Meetings be-

richtet, die hochaktuell sind und viele Fragen der klinisch tätigen Augenärzte beantworten. Die Beiträge zur klinischen Glaukomdiagnostik und deren Interpretation beinhalten die Darstellung neuer Technologien und spiegeln auch hier die jetzigen Meinungen bzw. Ergebnisse von Konsensus-Treffen und großen Glaukommeetings wider. Das Buch ist sehr empfehlenswert für alle, die sich mit aktuellen, klinischen Fragen bei der Glaukomerkrankung auseinandersetzen möchten, und einmal keine übertriebene Anzahl an Literaturzitate lesen möchten und sich mit den Grundlagen des Glaukoms bereits auskennen. Der Titel des Buches macht seinem Namen alle Ehre. Ein schönes Buch, das mit einem Preis von ca. 100 Euro bei allen „Glaukom-Spezialisten“, oder solchen, die es noch werden wollen, vorhanden sein sollte. Glückwunsch an die Autoren.

E.M. Hoffmann (Mainz)