

## **Projekt „Funktionelle und morphologische Untersuchung der Netzhaut des CLN3-Knock-in Mausmodells“**

**Klaus Rüter – Charité Berlin**

Von Juni 2007 bis Ende April 2008 unterstützt die Ernst und Elfriede Griebel's Förderungs- und Unterstützungsstiftung in Kooperation mit der NCL-Stiftung die in der Charité-Augenklinik, Campus Virchow-Klinikum, durchgeführten Untersuchungen am Mausmodell für die CLN3 (Juvenile Neuronale Ceroidlipofuscinose). Die Arbeiten bauen auf Untersuchungen aus dem Jahre 2006 auf, die ebenfalls durch beide Stiftungen unterstützt wurden. Im 2006-Projekt wurden verschiedene Mausmodelle der NCL untersucht (CLN1, CLN3, CLN6), die jetzige Projektphase konzentriert sich auf die CLN3.

### **Bedeutung der Augenheilkunde für die Erforschung der NCL**

Soweit bekannt und untersuchbar, kommt es bei allen Formen der NCL zu Veränderungen der Augen. Im Zentrum steht dabei ein Untergang der Photorezeptoren (Sehzellen) der Netzhaut, es resultiert eine sog. Netzhautdegeneration. Diese Veränderung führt zu einer raschen Minderung der Sehfähigkeit – bei der juvenilen NCL innerhalb von Monaten – und schließlich zur Erblindung der Patienten. Dieser Aspekt der Grunderkrankung ist aus 2 Gründen von großer Relevanz:

1. Der Verlust des Sehvermögens hat eine große Bedeutung für die Situation des Patienten, insbesondere bei der juvenilen NCL.
2. Die Netzhautdegeneration ist ein Bestandteil der Degeneration des Nervensystems und steht damit als relativ gut überprüfbarer Bestandteil der Erkrankung zur Einschätzung der Krankheitsprogression und später ggf. eines Therapieeffektes zur Verfügung.

### **Bedeutung der Mausmodelle**

Die molekulargenetische Forschung hat es ermöglicht, von beim Menschen auftretenden Erkrankungen durch Nachahmung der genetischen Veränderung Mausmodelle für diese Erkrankung zu schaffen. Diese Modelle sind zum einen wichtig, um die Erkrankung besser untersuchen zu können, z.B. hinsichtlich ihres spontanen Verlaufs; zum anderen sind nur auf diese Weise systematische Therapieversuche durchführbar. Beim Menschen können nicht alle denkbaren Therapieverfahren getestet werden, da die Nebenwirkungen bzw. ungünstige Effekte zu Beginn nicht bekannt sind. Darüber hinaus dauert die Erkrankung beim Menschen aber auch zu lange, um systematische Therapieversuche durchführen zu können. Schließlich gibt es auch nicht genügend Patienten, so dass die Möglichkeit einer statistischen Überprüfung von Behandlungsversuchen sehr begrenzt ist.

### **Was wird bei den Mäusen untersucht?**

Zunächst sei darauf hingewiesen, dass die Untersuchungen für die Mäuse nach menschlichem Ermessen sehr gut verträglich sind. Dieses wissen wir aus eigenen, über 10-jährigen Erfahrungen, aber auch von anderen Untersuchern. Die Messungen der Netzhautfunktion werden, wenn nötig, in Vollnarkose durchgeführt, die von den Mäusen sehr

gut vertragen wird und die dazu führt, dass die ohnehin geringe Beeinträchtigung durch die Untersuchungen von den Mäusen nicht wahrgenommen wird. Es werden grundsätzlich ohnehin nur Untersuchungen durchgeführt, die wir vom Menschen her kennen.

Im Zentrum der Untersuchungen steht das Elektoretinogramm (ERG). Mit dieser Untersuchung kann die Funktion der Netzhaut gemessen werden, ungefähr vergleichbar mit der Herzfunktionsprüfung durch das Elektrokardiogramm (EKG). Mit dem ERG ist es möglich, das Vorhandensein und ggf. den Verlauf einer Netzhautdegeneration bei der Maus zu beobachten. Liegt eine solche Degeneration vor, vermindern sich die Potentiale dieser Untersuchung zunehmend.

Es stehen aber auch andere Verfahren zur Verfügung. So kann der Augenhintergrund mittels einer Laser-Kamera untersucht werden, mit der auch Gefäßdarstellungen möglich sind (Angiographien). Die Sehfunktion kann indirekt auch über die Lichtreaktion der Pupille untersucht werden: Je besser die Netzhautfunktion, desto lebhafter die Pupillenlichtreaktion.

### **Was wurde bisher gemacht?**

Die größte Herausforderung war bisher die Etablierung eines Modells für die juvenile NCL. Leider hat es sich nämlich herausgestellt, dass in der Linie des genetischen Modells zufällig zwei weitere genetische Veränderungen der Netzhaut vorhanden waren. Dieses war nicht so leicht zu erkennen und musste dann durch langwieriges Kreuzen geeigneter Tiere behoben werden. Schließlich stellte sich heraus, dass die genetische Veränderung im Sinne einer NCL auch bei der Maus zu einer Beeinträchtigung der Netzhautfunktion geführt hat, allerdings erst sehr spät im Leben der Mäuse und zudem vergleichsweise mild. Dieses Problem hat uns veranlasst, die genetische Veränderung auch bei 2 weiteren Mausstämmen zu untersuchen. Die bisherigen Ergebnisse sind viel versprechend.

### **Was wird zurzeit getan und was ist das Ziel?**

Es ist klar, dass das wichtigste Ziel bei der Erforschung der Neuronalen Zeroidlipofuscinosen die Entwicklung von Therapieverfahren darstellt. Die wichtigste Voraussetzung – ein aussagekräftiges Modell – ist mittlerweile realisiert worden, muss jedoch noch weiter verfolgt werden. Für die Entwicklung von Therapievorstellungen ist es zum einen wichtig, alle Erkenntnisse der Wirkmechanismen (Pathophysiologie) der Erkrankung zu kennen und zu berücksichtigen. Auf dieser Basis ist es möglich, denkbare Therapieansätze zu formulieren. Zum anderen ist es erforderlich, Erkenntnisse bei anderen degenerativen Erkrankungen zu kennen und sich zu fragen, ob sie bei der NCL sinnvoll einsetzbar sind. Die erste Strategie steht im Rahmen unserer Untersuchungen noch am Anfang, die zweite wird bereits verfolgt. Konkret wird versucht, durch die Neutralisation von schädlichen Stoffwechselprodukten den Degenerationsprozess zu verlangsamen, zum anderen kommen Stammzellen zum Einsatz, deren Potenzial in anderen Bereichen bereits gezeigt werden konnte.

Es ist damit zu rechnen, dass im Verlauf des Jahres 2008 erste Ergebnisse der Therapieforschung veröffentlicht werden können.