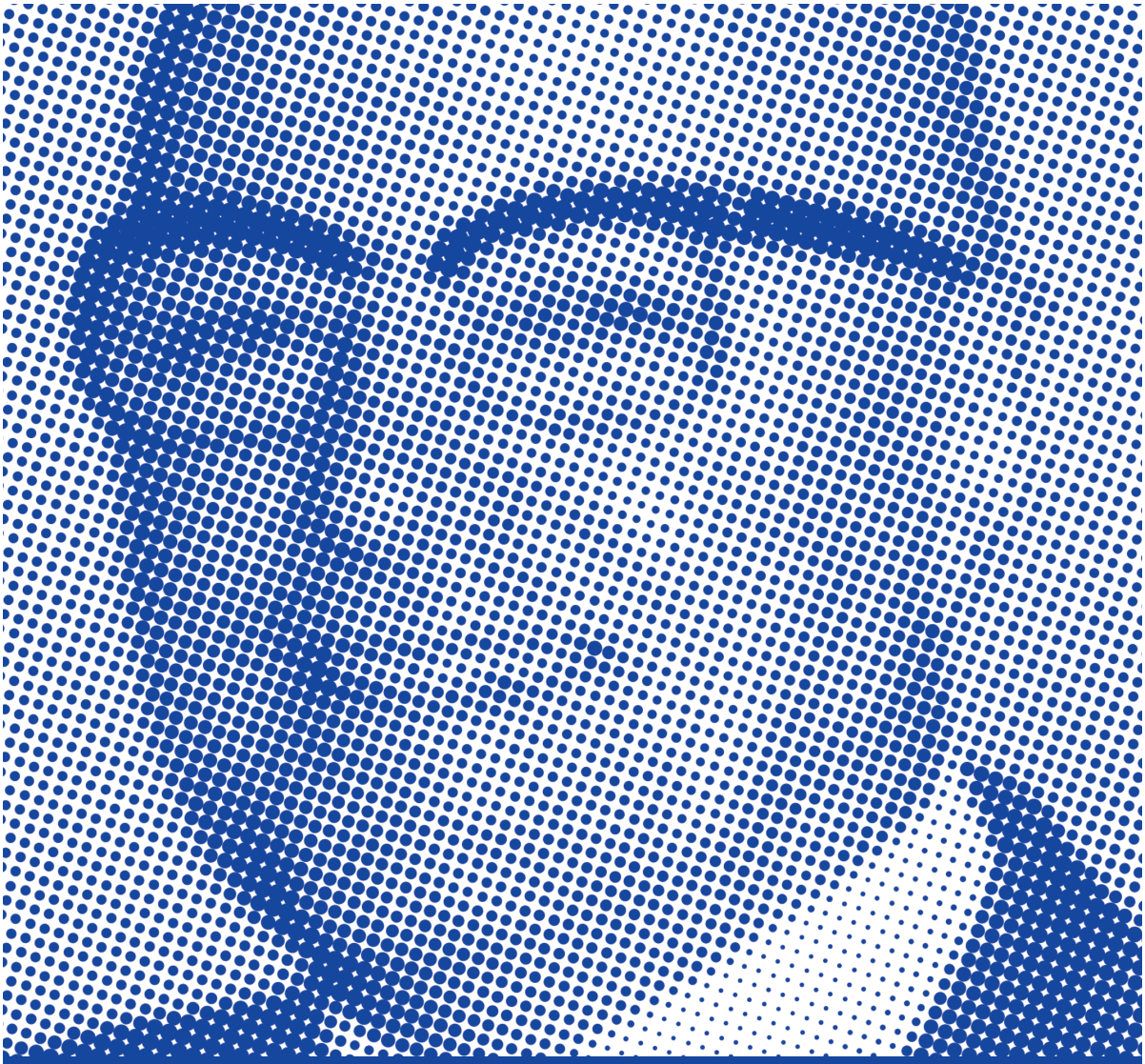
Universität Zürich[UZH]

Georg Friedrich Götz-Stiftung
Medizinische Fakultät der Universität Zürich



Georg Friedrich Götz-Preis

2021

Festschrift
Georg Friedrich Götz-Preis 2021

aus Anlass der Verleihung des Georg Friedrich Götz-Preises 2021

Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek
«Rationales Therapiedesign gegen Prionenkrankheiten»

Prof. Dr. med. Susanne Wegener
«Stau in der Mikrozirkulation: dem Reperfusions-Versagen beim ischämischen Schlaganfall auf der Spur»

19. Mai 2022

Inhaltsverzeichnis

Tagungsprogramm 7

Georg Friedrich Götz 9

Laudationes 10

Die Preisträger 2021 15

Bisherige Preisträger 16

Karl J. Frontzek – Rationales Therapiedesign gegen Prionenkrankheiten 31

Susanne Wegener – Stau in der Mikrozirkulation: dem Reperfusions-Versagen beim ischämischen Schlaganfall auf der Spur 43

Tagungsprogramm

Götz-Preisverleihung vom 19. Mai 2022
Grosser Hörsaal Ost, Universitätsspital Zürich

Die **Georg Friedrich Götz-Preisverleihung** findet dieses Jahr am späten Nachmittag des *Day of Clinical Research (DOCR)* statt.

16.30 Uhr Begrüssung der Gäste durch Prof. Dr. med. Beatrice Beck Schimmer, Direktorin Universitäre Medizin Zürich und ehemalige Stiftungsrats-Präsidentin und Förderbeirätin a. i.

16.35 Uhr Einführung und Würdigung des Preisträgers
Herr Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek
durch Prof. Dr. Dr. med. Frank J. Rühli, Dekan

16.40 Uhr Kurzreferat von Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek
«Rationales Therapiedesign gegen Prionenkrankheiten»
Institut für Neuropathologie, Universitätsspital Zürich

17.00 Uhr Preisverleihung durch Prof. Dr. med. Beatrice Beck Schimmer, Direktorin Universitäre Medizin Zürich und ehemalige Stiftungsrats-Präsidentin und Förderbeirätin a. i.

17.10 Uhr Einführung und Würdigung der Preisträgerin
Frau Prof. Dr. med. Susanne Wegener
durch Prof. Dr. Dr. med. Frank J. Rühli, Dekan

17.15 Uhr Kurzreferat von Prof. Dr. med. Susanne Wegener
«Stau in der Mikrozirkulation: dem Reperfusions-Versagen beim ischämischen Schlaganfall auf der Spur»
Klinik für Neurologie, Universitätsspital Zürich

17.35 Uhr Preisverleihung durch Prof. Dr. med. Beatrice Beck Schimmer, Direktorin Universitäre Medizin Zürich und ehemalige Stiftungsrats-Präsidentin und Förderbeirätin a. i.

17.40 Uhr Abschluss

Georg Friedrich Götz
und die Gründung einer Stiftung für den Fortschritt in der Medizin

Georg Friedrich Götz wurde am 28. April 1893 in Frankfurt am Main geboren. Er war in mehreren Bereichen erfolgreich geschäftlich tätig, so bereits in jungen Jahren als Führer eines Tabakgeschäftes.

Später betrieb er seine Firma MDF (Mittel-Deutsche-Fahrscheinfabrik) bei Frankfurt, wo Fahrscheine für Busse und Strassenbahnen gedruckt wurden. Vermögend geworden, zog Georg Friedrich Götz sich in den Fünfziger Jahren aus dem aktiven Geschäftsleben zurück.

1960 siedelte er gemeinsam mit seiner späteren Ehefrau Heidi Hergenröther in die Schweiz nach Ascona. Zwei Jahre später erkrankte er an einem Lungenkarzinom und wurde zur Operation nach Zürich ins Bethanien-Krankenhaus überwiesen, wo Dr. Karl Mülly ihn erfolgreich operierte. Mit dem Arzt verband Georg Friedrich Götz anschliessend eine herzliche Freundschaft und gemeinsam entwickelten sie die Idee einer Stiftung, die hervorragende medizinische Leistungen belohnen sollte.

Am 22. Mai 1964 wurde die «Georg Friedrich Götz-Stiftung» in Zürich offiziell gegründet. 1968 musste Georg Friedrich Götz sich wieder ins Krankenhaus begeben, diesmal wegen einer schweren Darmerkrankung. Er wurde wieder von Dr. Karl Mülly operiert. Auf diese erneute Operation hin beschloss Georg Friedrich Götz, die Stiftung bereits im darauffolgenden Jahr in Kraft zu setzen.

Der erste «Georg Friedrich Götz-Preis» wurde 1969 an Professor Lindenmann vom Institut für Medizinische Mikrobiologie für seine Grundlagenforschungen über den Krebs verliehen.

1972 erkrankte Georg Friedrich Götz an Prostatakrebs, wovon er sich nicht mehr erholte. Am 21. November desselben Jahres starb er in der Klinik St. Agnese in Muralto und wurde auf seinen Wunsch im elterlichen Grab in Frankfurt-Griesheim beigesetzt.

Laudationes

Die Götz-Preis-Kommission, bestehend aus

Prof. Dr. Adriano Aguzzi, Direktor Institut für Neuropathologie USZ
Prof. Dr. Dirk Bassler, Direktor Klinik für Neonatologie USZ
Prof. Dr. Alexandra Trkola, Direktorin Institut für Medizinische Virologie UZH

schlägt für den Götz-Preis 2021 folgenden Kandidaten vor:

Herrn Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek

Begründung
Herr Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek ist Oberarzt am Institut für Neuropathologie des Universitätsspitals Zürich. Der sichtbarste und beeindruckendste Beitrag von Dr. Karl Frontzek zur biomedizinischen Forschung ist zweifellos die Aufklärung des anatomischen Substrats der Anosmie bei Personen, die mit SARS-CoV-2 infiziert sind. Anosmie kann bei jungen Menschen auftreten und ist oft das einzige klinische Anzeichen von COVID. Karl Frontzek hat eine wichtige Forschungsarbeit geleitet, bei der er zusammen mit Daniel Kirschenbaum die *Lamina cribrosa* einer Reihe von Patienten untersucht hat, die an COVID gestorben sind. Dort stellte er eine Infiltration der *Fila olfactoria* durch Lymphozyten fest. Die daraus resultierende Zerstörung von Nervenfasern im Riechepithel bietet eine plausible Erklärung für die sensorischen Defizite, die bei diesen Patienten auftreten. Gleichzeitig gibt die fehlende Beteiligung des zentralen Nervensystems Anlass zur Hoffnung und ist der Grund dafür, dass die Anosmie in den meisten Fällen reversibel ist. Die oben beschriebenen Ergebnisse wurden von Dr. Karl Frontzek als letztem und korrespondierendem Autor in *The Lancet* veröffentlicht. Das Hauptforschungsgebiet von Karl Frontzek sind jedoch neurodegenerative Krankheiten. Hier hat er zahlreiche Beiträge zur pathologischen Anatomie, Biochemie, Immunologie und Molekularbiologie von Prionen geleistet.
Seine beeindruckendste jüngste Errungenschaft wurde in *bioRxiv* vorveröffentlicht und wird demnächst in einer Fachzeitschrift mit Peer-Review veröffentlicht werden. In dieser Arbeit hat er entdeckt, dass eine einzige, durch rationales Design erzeugte Punktmutation eines neurotoxischen Antikörpers gegen das Prionprotein die Polarität des Antikörpers vollständig verändert und ihn neuroprotektiv macht.

In dieser Arbeit weist Karl Frontzek schlüssig nach, dass dieser Antikörper mit der Bezeichnung POM1 (der vor 20 Jahren von Magda Polymenidou entwickelt wurde, die heute ausserordentliche Professorin an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät unserer Universität ist) an die Oberfläche des normalen Prionproteins bindet, die eine Kontaktstelle für die Aggregation und Polymerisation zu pathologischen, infektiösen Prionaggregaten darstellt. Während der Wildtyp-Antikörper eine Konformationsänderung auslöst, die schliesslich zur Neurodegeneration führt, blockiert die mutierte Form die Schnittstelle mit dem pathologischen Prion und schützt so sowohl vor Infektion als auch vor Neurodegeneration.

Besonders beeindruckend ist, dass Karl Frontzek ein strukturelles Merkmal identifiziert hat, das als *hydrogen latch* bezeichnet wurde und das, wenn es aktiviert wird, Neurodegeneration auslöst. Durch ausgefeilte Methoden der Strukturbiologie und Molekulardynamik konnte er in Zusammenarbeit mit Luca Varani zeigen, dass die Unterdrückung der Bildung der Wasserstoffverriegelung die Kette von Ereignissen, die zum Absterben von Neuronen bei Prionenkrankheiten führen, wirksam verhindert.

Die Arbeit von Karl Frontzek ist rigoros, kreativ, wirkungsvoll und elegant. Aus diesen Gründen ist Dr. Karl Frontzek ein höchst würdiger Nominierter und Empfänger des Götz-Preises der Medizinischen Fakultät.

Laudatio
Der Georg Friedrich Götz-Preis 2021 wird an Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek verliehen in Anerkennung und Würdigung seiner höchst beeindruckenden Forschung auf dem Gebiet der neurodegenerativen Krankheiten.

Prof. Dr. Dr. Frank J. Rühli
Dekan

Prof. Dr. Adriano Aguzzi
Preis-Kommission

Die Götz-Preis-Kommission, bestehend aus

Prof. Dr. Adriano Aguzzi, Direktor Institut für Neuropathologie USZ
Prof. Dr. Dirk Bassler, Direktor Klinik für Neonatologie USZ
Prof. Dr. Alexandra Trkola, Direktorin Institut für Medizinische Virologie UZH

schlägt für den Götz-Preis 2021 folgende Kandidatin vor:

Frau Prof. Dr. med. Susanne Wegener

Begründung
Frau Prof. Dr. med. Susanne Wegener ist Leitende Ärztin an der Klinik für Neurologie des Universitätsspitals Zürich. Sie ist Leiterin der Schlaganfall-Ambulanz, des Ultraschall-Labors sowie der Kopfschmerzeinheit mit einem klinischen Pensum von 50 Prozent. Ich kenne sie seit 2009, als sie von einem Forschungsaufenthalt an der *University of California San Diego*, USA, nach Europa zurückkehrte, um ihre Facharztausbildung fortzusetzen. Seitdem hat sie mich mit ihrem Ehrgeiz und ihrer Zielstrebigkeit beeindruckt, klinische Arbeit und translationale Forschung auf dem Gebiet des Schlaganfalls zu verbinden. Seit September 2017 leitet Prof. Wegener mit Unterstützung ihrer SNF-Förderungsprofessur ambitionierte klinische und experimentelle Projekte im Bereich der translationalen Schlaganfallforschung. Der Schwerpunkt ihrer Forschung liegt auf dem Verständnis der Mechanismen, die die Integrität des Gewebes während des Schlaganfalls und der Reperfusion ermöglichen, und gleichzeitig auf der Entwicklung von Ergebnisvorhersagen für die Behandlung von Patienten mit akutem Schlaganfall. Sie hat in ihrer wissenschaftlichen Arbeit beeindruckende Fortschritte erzielt und ihre Forschungsgruppe mit klinischen und grundlagenwissenschaftlichen Teammitgliedern (wie beispielsweise Klinikern, Biologen, Biostatistikern) aufgebaut und konsolidiert.

In ihrer klinischen Forschung entwickelt sie Algorithmen zur Vorhersage des Ergebnisses von Schlaganfallbehandlungen unter Verwendung fortgeschrittener Bildanalyseverfahren in Kombination mit klinischen Parametern. Weitere klinische Schwerpunkte sind die Anwendung neuartiger nicht-invasiver Technologien zur Charakterisierung von Karotisplaques und entzündlichen Gefässveränderungen (optoakustische Bildgebung) und die Erforschung der weiblichen Determinanten des Schlaganfallergebnisses (kardiovaskuläre Gesundheit von Frauen).

In ihrer präklinischen Forschung hat ihre Gruppe ein elegantes Schlaganfallmodell entwickelt, das die Analyse von Reperfusionstherapien wie der Thrombolyse ermöglicht. In Verbindung mit fortschrittlichen In-vivo-Bildgebungsverfahren (z. B. intravitaler Zwei-Photonen-Bildgebung) entdeckte die Arbeitsgruppe, dass die Gefässkollateralen den Schweregrad des Schlaganfalls, die Reperfusion und das Ergebnis entscheidend beeinflussen. Darüber hinaus fand sie heraus, dass die Reperfusion selbst bei erfolgreicher Entfernung des obstruktiven Gerinnsels häufig versagt. In der Veröffentlichung *Neutrophils Obstructing Brain Capillaries Are a Major Cause of No-Reflow in Ischemic Stroke* (*Cell Reports*, 2020) wies Frau Wegener mit ihrer Gruppe nach, dass neutrophile Granulozyten die Kapillaren unmittelbar nach Auslösung des Schlaganfalls verstopfen und so die Reperfusion behindern. Durch eine Antikörper-vermittelte Depletion der Neutrophilen in diesem Modell wurde der Blutfluss wiederhergestellt und das Ergebnis verbesserte sich. Somit könnten Therapien, die auf das Versagen der Reperfusion und die Kapillarobstruktion abzielen, neue, vielversprechende Strategien zur Verbesserung der Schlaganfallergebnisse darstellen.

Zweifellos ist die Forschung von Prof. Wegener höchst innovativ und kreativ. Sie befasst sich mit einem klinisch relevanten Problem und ihre Arbeit hat ein grosses Potenzial zur Verbesserung der derzeitigen Behandlungsstrategien.
Sie hat wissenschaftliche Sitzungen auf internationalen und lokalen Tagungen organisiert und war sehr aktiv, um ihre Forschungs- und klinischen Aktivitäten in wissenschaftlichen Vorträgen an ihre Fachkollegen und die Öffentlichkeit weiterzugeben. Ein grosser Erfolg war, dass Prof. Wegener 2019 ein *Clinical Research Priority Program (CRPP)* der Universität Zürich (UZH) zur Schlaganfallforschung (co-PI mit Prof. Andreas Luft) mit einem Gesamtfördervolumen von 1'470'000 Schweizer Franken einwerben konnte, das kürzlich bis 2024 verlängert wurde. Darüber hinaus hat sie bedeutende Fördermittel für andere Schlaganfall-Projekte eingeworben (z. B. USZ Innovationspool, FreeNovation, SNF-Projektförderung).

Mit ihrer herausragenden klinischen Arbeit und wissenschaftlichen Leistung auf dem Gebiet der translationalen Schlaganfallforschung sowie ihren Aktivitäten in der Lehre und als Mentorin ist sie unserer Meinung nach eine hervorragende Kandidatin für den Götz-Preis.

Laudatio
Der Georg Friedrich Götz-Preis 2021 wird an Prof. Dr. med. Susanne Wegener verliehen in Anerkennung und Würdigung ihrer herausragenden klinischen Arbeit und wissenschaftlichen Leistung auf dem Gebiet der translationalen Schlaganfallforschung.

Prof. Dr. Dr. Frank J. Rühli
Dekan

Prof. Dr. Adriano Aguzzi
Preis-Kommission

Die Preisträger 2021

Dr. med. Dr. sc. nat. Karl J. Frontzek
Institut für Neuropathologie
Universitätsspital Zürich

Prof. Dr. med. Susanne Wegener
Klinik für Neurologie
Universitätsspital Zürich

Bisherige Preisträger
des Georg Friedrich Götz-Preises

Die Jahreszahlen entsprechen jeweils dem Jahr der Preisverleihung.

1969 *Prof. Dr. Jean Lindenmann*
Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich
«Grundlagenforschung über den Krebs»

1974 *Prof. Dr. F. G. J. Hayhoe*
Departement of Medicine, Cambridge University, England
«Leukämie und Lymphoma»

Prof. Dr. Werner Straub
Departement für Innere Medizin der Universität Zürich
«Entstehung und Vermeidung von Thrombosen»

Krankenhaus Bethanien, Zürich – einmaliger Beitrag

1975 *Prof. Dr. Willhelm Rutishauser*
Departement für Innere Medizin der Universität Zürich
«Angiographische Analyse der Herzfunktion»

Prof. Dr. Hans Peter Krayenbühl
Departement für Innere Medizin der Universität Zürich
«Beziehung zwischen Parametern der Ventrikelkontraktilität und dem chronisch belasteten Myokard»

PD Dr. Marko Turina
Chirurgische Klinik A der Universität Zürich
«Entwicklung einer Herz-Lungenmaschine für Säuglinge und Kleinkinder»

1977 *Prof. Dr. Alexander A. Borbély*
Pharmakologisches Institut der Universität Zürich
«Schlaf- und Schlafrhythmen: Parallelen zwischen Ratte und Mensch»

PD Dr. Dominik Felix
Institut für Hirnforschung der Universität Zürich
«Peptide als mögliche Ueberträgersubstanzen im Nervensystem»

PD Dr. Volker Henn
Neurologische Klinik der Universität Zürich
«Bewegungswahrnehmung und neuronale Organisation der vestibulo-oculomotorischen Kontrollvorgänge»

PD Dr. Herbert M. Keller
Neurologische Klinik der Universität Zürich
«Doppler-Ultraschall-Verfahren zur nichtinvasiven Abklärung zerebraler Durchblutungsstörungen»

PD Dr. Gerd Niemeyer
Augenklinik der Universität Zürich
«Beiträge zum Verständnis der Netzhautfunktion»

1978 *Prof. Dr. P. Deyhle*
Departement für Innere Medizin der Universität Zürich
«Grundlegende Beiträge zur endoskopischen Diagnostik und Elektrochirurgie»

PD Dr. Andreas Grüntzig
Departement für Innere Medizin der Universität Zürich
«Rekanalisation von Arterienstenosen mittels Dilatationskatheter – Erfahrungen mit Beinarterien und Herzkranzgefässen»

1979 *Dr. Ernst Rinderknecht*
Biochemisches Institut der Universität Zürich
«Isolierung und Strukturaufklärung von zwei insulinähnlichen Wachstumshormonen»

PD Dr. Jürgen L. Zapf
Departement für Innere Medizin der Universität Zürich
«Wirkungsweise von zwei insulinähnlichen Wachstumshormonen und Entdeckung des spezifischen Trägereiweisses dieser Hormone»

1980 *Prof. Dr. Jan A. Fischer*
Orthopädische Klinik der Universität Zürich
«Nachweis der differenziert regulierenden Wirkung von extrazellulärem Kalzium und Magnesium auf die Sekretion von Parathyreoidhormon»

Prof. Dr. Marcus C. Schaub
Pharmakologisches Institut der Universität Zürich
«Beiträge zum Verständnis der Funktionen der Regulationseiweisse und der Ca-Ionen bei der Muskelkontraktion»

PD Dr. P. Rüegsegger
Institut für Biomedizinische Technik der Universität und der ETH Zürich
«Erleichterung der Osteoporoseforschung durch Entwicklung computertomographischer Verfahren für die Erfassung von graduellen Veränderungen in der Knochenmineralisation»

1981 *Ass. Prof. Dr. med. H. Binz*
Institut für Immunologie und Virologie der Universität Zürich
«Beiträge zur Charakterisierung des T-Zell-Rezeptors und zum Verständnis der Regulation der Immunantwort»

PD Dr. med. Peter Grob
Departement für Innere Medizin, Klinische Immunologie
der Universität Zürich
«Zahlreiche Beiträge zur klinischen Immunologie»

1982 *PD Dr. med. Beat Steinmann*
Stoffwechselabteilung Universitäts-Kinderklinik Zürich
«Erbkrankheiten des Bindegewebes – Modelle für das Verständnis erworbener Störungen»

PD Dr. med. Rainer Otto
Röntgendiagnostisches Zentralinstitut Universitätsspital Zürich
«Krebsdiagnostik im Abdomen mittels Ultraschall und Computertomographie»

PD Dr. med. Gino Pedio
Abt. Zytologie, Institut für Pathologie Universitätsspital Zürich
«Die Wertigkeit der Feinnadelbiopsie in der Krebsdiagnostik»

PD Dr. med. Felix Walz
Gerichtlich-Medizinisches Institut der Universität Zürich
«Fussgängerverletzungen in Zürich bei Tempo 60 und während des Versuchs ‹Tempo 50› »

PD Dr. sc. techn. Peter Niederer
Institut für Biomedizinische Technik der Universität und ETH Zürich
«Kollisionsablauf und Schweregrad der Fussgängerunfälle bei 35 und 25 km/h Aufprallgeschwindigkeit»

PD Dr. med. Viktor Meyer
Abteilung Chirurgie der Hand und peripheren Nerven
Universitätsspital Zürich
«Heutiger Stand der mikrochirurgischen Rekonstruktion peripherer Nerven»

1983 *PD Dr. med. Adriano Fontana*
Departement für Innere Medizin, Klinische Immunologie
der Universität Zürich
«Wegweisende Beiträge zur Neuroimmunologie»

PD Dr. med. Ruedi Lüthy
Abteilung für Infektionskrankheiten
Medizinische Poliklinik Universitätsspital Zürich
«Wissenschaftliche und klinische Beiträge zur Chemotherapie von Infektionskrankheiten»

1984 *PD Dr. med. Helmut L. Haas*
Neurochirurgische Klinik Universitätsspital Zürich
«Die epileptische Nervenzelle»

PD Dr. phil. Manuel Hulliger
Institut für Hirnforschung der Universität Zürich
«Zur Bedeutung der Fussmotorik bei natürlichen Bewegungen»

Prof. Dr. med. Alex M. Landolt
Neurochirurgische Klinik Universitätsspital Zürich
«Hypophysenadenome – zellbiologische Modelle zwischen Endokrinologie und Neurochirurgie»

1985 *Prof. Dr. sc. nat. Thomas Bächi*
Institut für Immunologie und Virologie der Universität Zürich
«Strukturelle und funktionelle Charakterisierung von Viren»

Prof. Dr. med. Peter St. Groscurth
Anatomisches Institut, Abteilung Zellbiologie der Universität Zürich
«Morphologie der durch T-Lymphozyten und Makrophagen vermittelten Zytolyse»

1986 *PD Dr. sc. nat. Hans Hengartner*
Institut für Pathologie der Universität Zürich
«Die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunantwort: Antigenerkennung und Effektormechanismus»

PD Dr. med. Reinhard A. Seger
Medizinische Klinik, Kinderspital Zürich
«Kongenitale Erkrankungen des Phagozytose-Systems: Ihr Beitrag zum Verständnis der Infektabwehr»

1987 *PD Dr. med. dent. Werner-Hans Mörmann*
Zahnärztliches Institut der Universität Zürich
«Computer-unterstützte Zahnrestaurationen mit Keramik- und Kunststoffmaterialien»

1988 *PD Dr. phil. II Peter Bösiger*
Institut für Biomedizinische Technik und Medizinische Informatik der Universität und ETH Zürich
«Kernspintomographische Erfassung von Gewebeveränderungen und Organfunktionen»

Prof. Dr. med. Anton Valavanis
Leiter der Abteilung für Neuroradiologie,
Departement Medizinische Radiologie des Universitätsspitals Zürich
«Fortschritte in der Diagnostischen und Interventionellen Neuroradiologie»

1990 *Prof. Dr. med. Otto M. U. Hess*
Departement für Innere Medizin Medizinische Poliklinik,
Kardiologie des Universitätsspitals Zürich
«Koronare Vasomotorik und Myokardperfusion»

PD Dr. med. Peter Josef Meier-Abt
Abteilung für Klinische Pharmakologie Medizinische Klinik des Universitätsspitals
«Hepatozelluläre Transportsysteme und deren Bedeutung für die Ausscheidung von Arzneimitteln in die Galle»

1991 *PD Dr. med. Ludwig Karl von Segesser*
Departement für Chirurgie, Universitätsspital Zürich
«Gefahrlose Herz-Lungenmaschine?»

Prof. Dr. med. Peter Sonderegger
Biochemisches Institut, Universität Zürich
«Molekulare Analyse des Axonwachstums»

1992 *Prof. Dr. med. Charlotte Elisabeth Remé*
Augenklinik, Universitätsspital Zürich
«Wo viel Licht, da viel Schaden: Lichtwirkungen und Lichtschäden in der Netzhaut»

Dr. sc. nat. ETH Hanspeter Pircher
Departement Pathologie, Universitätsspital Zürich
«Immunologische Reaktivität und Toleranz von T-Lymphozyten analysiert in transgenen Tiermodellen»

1993 *PD Dr. med. Leena Bruckner-Tudermann*
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
«Genetisch bedingte Hautblasen: Ein Naturexperiment zum Zusammenwirken zwischen Epithel und Mesenchym»

Prof. Dr. med. Manfred Frey
Klinik für Wiederherstellungschirurgie Universitätsspital Zürich
«Das Lächeln: Chirurgische Rekonstruktion und Quantifizierung»

1994 *PD Dr. Ulrich Klaus Franzeck*
Departement für Innere Medizin, Abteilung Angiologie, Universitätsspital Zürich
«Transkutane Sauerstoffpartialdruckmessungen bei peripheren Durchblutungsstörungen»

PD Dr. Christoph Schmid
Departement für Innere Medizin, Abteilung Endokrinologie und Stoffwechsel, Universitätsspital Zürich
«IGF I als endokrin und parakrin gesteuerter und wirksamer Wuchs- und Differenzierungsfaktor des Knochens»

1995 *PD Dr. rer. nat. Graeme McKinnon*
Magnetresonanz-Zentrum, Universitätsspital Zürich
«Temperature Monitoring and Interventional Device Positioning in Magnetic Resonance Imaging»

PD Dr. med. Andrea Superti-Furga
Abteilung für Stoffwechsel- und Molekularkrankheiten Universitäts-Kinderklinik
«Es muss nicht immer Kollagen sein: Chondrodysplasien und Sulfatstoffwechsel»

1996 *PD Dr. Christine Bandtlow*
Institut für Hirnforschung, Universität Zürich
«Wirkungsmechanismen von Hemmstoffen des Nervenfaserwachstums im Gehirn: ein Blick hinter die Kulissen»

PD Dr. Norbert Dillier
Klinik für Ohren-, Nasen-, Hals- und Gesichtschirurgie, Universitätsspital Zürich
«Auf der Suche nach der optimalen Sprachcodierung für Cochlear Implants»

1997 *PD Dr. Paul Komminoth*
Departement Pathologie, Universitätsspital Zürich
«Pluriglanduläre, genetisch bedingte, endokrine Neoplasien: von der Morphologie zur Molekulargenetik»

PD Dr. Jean-Marc Fritschy
Institut für Pharmakologie, Universität Zürich
«Struktur und Regulation von Neurotransmitter-Rezeptoren»

1998 *PD Dr. Martin Meuli*
Kinderspital Zürich
«Fetal Surgery for Myelomeningocele»

PD Dr. Dominik Straumann
Neurologische Klinik, Universitätsspital Zürich
«When Nerve Cells Bounce out of Control ...
Instability of the Saccadic Systems after Deafferentiation from the Omnipause Neurons»

1999 *PD Dr. Thomas Kündig*
Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
«Verfahren zur Steigerung der Immunogenität von Impfstoffen»

2000 *PD Dr. med. vet. Max Gassmann*
Physiologisches Institut, Universität Zürich
«Sauerstoffmangel und Erythropoietin»

Prof. Dr. med. Hans-Uwe Simon
Pharmakologisches Institut, Universität Bern
«Regulation of eosinophil and neutrophil apoptosis – similarities and differences»

PD Dr. med. Franz Vollenweider
Psychiatrische Universitätsklinik Zürich
«Halluzinationen und Gehirn»

2001 *Dr. phil. nat. Thierry Hennet*
Physiologisches Institut, Universität Zürich
«Kongeniale Defekte der Glykolysierung: von den Hefen zum Menschen»

Prof. Dr. med. Reinhard Dummer
Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
«Hauttumore verstehen und gezielt behandeln»

PD Dr. med. Uwe Rudolph
Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Zürich
«Eine neue Pharmakologie für Benzodiazepine»

2002 *PD Dr. rer. nat. Jürgen Götz*
Psychiatrische Universitätsklinik Zürich,
Abteilung für Psychiatrische Forschung
«Die Alzheimer'sche Krankheit Wechselwirkung zwischen Tau und beta-Amyloid»

PD Dr. med. Farhad Hafezi
Augenklinik, Universitätsspital Zürich
«Molekular Mechanismen der Photorezeptoren Apoptose bei Netzhautdegenerationen: Lichtschäden als Modellansatz»

2003 *PD Dr. med. Michael A. Grotzer*
Universitäts-Kinderklinik Zürich, Abteilung für Neuro-Onkologie
«Neue therapeutische Konzepte für kindliche primitive neuroektodermale Hirntumoren»

PD Dr. med. Frank Ruschitzka
Universitätsspital Zürich, Abteilung Kardiologie
«Atherosklerose und rheumatoide Arthritis – Die Geschichte zweier Erkrankungen»

2004 *Dr. med. Anna Lauber-Biason*
Kinderspital Zürich, Abteilung Pädiatrische Endokrinologie
«Ein molekularer Weg zur Klärung des Diabetes beim Kind»

Prof. Dr. med. Gerd A. Kullak-Ublick
Universitätsspital Zürich,
Abteilung für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
«Rolle von nukleären Rezeptoren beim hepatischen und intestinalen Medikamententransport»

Prof. Dr. med. Marc Y. Donath
Universitätsspital Zürich,
Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie
«Insulinproduktion bei Übergewicht und Diabetes: Von der Adaptation zur Krankheit»

Dr. med. Markus Glatzel
Universitätsspital Zürich, Institut für Neuropathologie
«Neue Wege in der Diagnostik der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit»

2005 *PD Dr. med. Silvia Marino*
Universitätsspital Zürich, Institut für Klinische Pathologie
«Medulloblastome – Entwicklungsmechanismen ausser Kontrolle»

2006 *PD Dr. med. Huldrych Günthard*
Universitätsspital Zürich, Klinik für Infektionskrankheiten und Spitalhygiene
«‹Viral setpoint›: Interaktionen zwischen dem HI-Virus und seinem Wirt»

2007 *PD Dr. med. Matthias Baumgartner*
Universitäts-Kinderklinik Zürich, Abteilung Stoffwechsel und Molekulare Pädiatrie
«3-Methylcrotonyl-CoA-Carboxylase-Mangel – Von der Molekularen Basis zur Praxis im Neugeborenen-Screening»

Dr. sc. nat. ETH Klaas Martinus Pos
Universität Zürich, Physiologisches Institut der Epithelialtransport Abteilung
«Acriflavine resistance protein B – AcrB: Rotation und Peristaltik führen zu Antibiotika-Resistenz»

2008 *Prof. Raimund Dutzler, PhD*
Universität Zürich, Departement Biochemie
«Ionenkanäle, die elektrischen Schalter unserer Zellen»

Prof. Dr. med. Romeo Ricci
ETH Hönggerberg, Institut für Zellbiologie
«Zelluläre Stress-Signale und ihre Rolle in metabolischen und inflammatorischen Erkrankungen»

2009 *Dr. rer. nat. Mathias Florian Heikenwälder*
Institut für Neuropathologie, Universitätsspital Zürich
«Molekulare und zelluläre Mechanismen der Prionenvermehrung: Wie Prionen unser Immunsystem überlisten.»

Mickaël Lesurtel, MD, PhD
Klinischer Assistenzprofessor, Klinik für Viszeral- und Transplantationschirurgie, Universitätsspital Zürich
«Platelet-Derived Serotonin Mediates Liver Regeneration»

2010 *Prof. Dr. sc. nat. Lars Hangartner*
Institut für Medizinische Virologie, Universitätsspital Zürich
«Das Problem der Immunodominanz bei variablen Viren»

Dr. med. Mike Recher
Departement für Innere Medizin, Universitätsspital Zürich
«Einmarsch- und Rückzugsgebiete von Viren»

2011 *Prof. Dr. med. Onur Boyman*
Dermatologische Klinik und Poliklinik, Universitätsspital Zürich
«Neue Behandlungsansätze für Tumore und Autoimmunerkrankungen»

Dr. med., Dr. sc. nat. Ataman Sendoel
Institut für Molekulare Biologie, Universität Zürich
«Sauerstoff und der programmierte Zelltod»

2012 *Prof. Dr. rer. nat. Anne Müller*
Institut für Molekulare Krebsforschung, Universität Zürich
«Die zwei Gesichter des Magenkrebserregers *Helicobacter pylori*»

Prof. Dr. Ulf Landmesser
Klinik für Kardiologie, Universitätsspital Zürich
«Koronare Herzerkrankung – ist High-Density Lipoprotein (HDL) ein neues Therapieziel?»

2013 *PD Dr. med. Mirjana Maiwald-Urosevic*
Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
«Immuntherapie: Des Hautlymphoms ärgster Feind?»

Prof. Dr. med. Sebastian Jessberger
Institut für Hirnforschung, Universität Zürich
«Adulte Neurogenese – wie neugebildete Nervenzellen die Struktur und Funktion des Gehirns beeinflussen»

2014 *PD Dr. med. Nicole Lindenblatt*
Klinik für Plastische Chirurgie und Handchirurgie, Universitätsspital Zürich
«Tissue Engineering von Haut – was wir von der Natur lernen können»

Prof. Dr. Massimo Lopes
Institut für Molekulare Krebsforschung, Universität Zürich
«DNA-Replikationsstress und daraus resultierende Erkrankungen»

2015 *Prof. Dr. med. Bea Latal*
Abteilung Entwicklungspädiatrie, Universitäts-Kinderspital Zürich
«Entwicklung von Kindern mit komplexen Herzfehlern»

Prof. Dr. sc. nat. Magdalini Polymenidou
Institut für Molekulare Biologie, Universität Zürich
«Misregulated RNA processing in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia»

2016 *Prof. Dr. sc. nat. Roger Kouyos*
Klinik für Infektionskrankheiten und Spitalhygiene, Universitätsspital Zürich
«Medikamenten-Resistenz bei HIV-infizierten Menschen in der Schweiz: Trends und Mechanismen»

Dr. med. Jelena-Rima Templin-Ghadri und
PD Dr. med. Dr. rer. nat. Christian Templin
Universitäres Herzzentrum, Klinik für Kardiologie, Universitätsspital Zürich
«Auf den Spuren des gebrochenen Herzens»

2017 *Dr. Dr. med. Quentin Jan Marie Huys*
Translational Neuromodeling Unit (TNU)
Institut für Biomedizinische Technik, Universität und ETH Zürich
Klinik für Psychiatrie, Psychotherapie und Psychosomatik (DPPP)
Psychiatrische Universitätsklinik Zürich (PUK)
«Computational Psychiatry: Affektive Aspekte komplexer Entscheidungsfindung»

Prof. Dr. Martin Jinek
Biochemisches Institut, Universität Zürich
«Understanding the Cas9 genome editor at the molecular level»

2018 *Prof. Dr. med. Johan Lorenzen*
Klinik für Nephrologie, Universitätsspital Zürich
«Ein pharmakologisches Ausschalten der microRNA-24 als eine mögliche zukünftige Therapie zur Vermeidung des akuten Nierenversagens»

Prof. Dr. med. Michael Scharl
Klinik für Gastroenterologie und Hepatologie, Universitätsspital Zürich
«Die Rolle der Protein-Tyrosin-Phosphatasen in der Entstehung der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen»

2019 *SNF Prof. Dr. rer. nat. Tuncay Baubec*
Institut für Molekulare Mechanismen bei Krankheiten, Universität Zürich
«DNA-Methylierung – eine kleine Modifikation mit grosser Wirkung»

PD Dr. med. Simone M. Goldinger
Dermatologische Klinik, Universitätsspital Zürich
«Die Haut – ein Spiegelbild der Wirkungen und Nebenwirkungen von Hautkrebstherapien»

2020 *Dr. med. Steffen Böttcher*
Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie, Universitätsspital Zürich
«Die Entschlüsselung der funktionellen Konsequenzen von TP53-Missense-Mutationen in der Krebsentstehung»

Prof. Dr. sc. nat. Silvia Brem
Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie, Psychiatrische Universitätsklinik Zürich
«Wenn Kinder (nicht) lesen lernen: Neurowissenschaftliche Einblicke zur Entwicklung des Lesenetzwerkes im Gehirn»

Rationales Therapiedesign gegen Prionenkrankheiten

Karl J. Frontzek

Einleitung

Prionenkrankheiten sind bis anhin unheilbare, infektiöse und degenerative Krankheiten des Nervensystems. Die Inzidenz von Prionenkrankheiten ist mit etwa 1 bis 2 Krankheitsfällen pro 1 Million vergleichsweise rar. Sie erlangten breite mediale Aufmerksamkeit im Rahmen der Epizoonose der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE), im Volksmund *Rinderwahn*. Die Übertragbarkeit von Prionenkrankheiten beruht auf der wiederholten Aggregation und Dissoziation der krankheitsursächlichen Isoform des Prionproteins PrP^{Sc}, nach ihrer Entdeckung in Schafen auch *Scrapie* genannt. Hierbei handelt es sich um die neurotoxische und fehlgefaltete Form des unter physiologischen Bedingungen harmlosen, sogenannten *zellulären* Prionproteins PrP^{C} *(1)*.

Der weitaus grösste Teil der menschlichen Prionenkrankheiten wird nach ihren Erstbeschreibern Hans Creutzfeldt und Alfons Jakob eponymisch Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK) genannt. In etwa 85 Prozent der Fälle ist CJK *sporadisch*, genauer, die Ursache der Erkrankung ist immer noch unklar. Hierbei ist der Grossteil der erkrankten Individuen bei der Diagnosestellung der sporadischen Form durchschnittlich zwischen 55 und 65 Jahre alt. Weitere, weitaus seltenere Formen der menschlichen Prionenkrankheiten werden durch Vererbung, durch Mutationen im Prionprotein-kodierenden Gen *PRNP*, Transplantation von kontaminierten Geweben sowie Konsumation von BSE-infiziertem Fleisch verursacht *(2)*.

Die klinische Präsentation der CJK ist charakteristisch: eine rapide Verschlechterung des Zustandsbildes mit kognitiver Dysfunktion, welche innerhalb von Wochen bis Tagen nach Diagnosestellung zum Tod führt. In der feingeweblichen Untersuchung des Gehirns finden sich schwammartige Auflockerungen des Hirngewebes, weswegen Prionenkrankheiten auch als spongiforme Enzephalopathien bezeichnet werden (altgriechisch *spongiá* = Schwamm) *(3)*.

Die genauen, krankheitsursächlichen Mechanismen, insbesondere der sporadischen CJK, sind immer noch nur sehr oberflächlich untersucht. Derzeit werden in der Literatur die nachfolgenden Gründe diskutiert. Einerseits gibt es genetische Risikofaktoren innerhalb oder in der Nähe der *PRNP*, *STX6* und *GAL3ST1* Gene, welche, durch bislang ungeklärte Mechanismen, eine pathologische Aggregation hervorrufen *(4)*. Eine weitere Annahme ist die weite Verbreitung von klinisch *stummen* CJK-Trägern. Hierbei wird die Co-Existenz von zwei

verschiedenen Prionformen angenommen, der infektiösen Form PrP^{Sc} sowie der neurotoxischen Variante PrP^{L} (englisch *lethal* = tödlich). Aufgrund der langjährigen Inkubationszeiten der infektiösen, aber harmlosen Spezies wird angenommen, dass PrP^{L} für die klinische Manifestation verantwortlich ist *(5)*. Die physische Existenz von PrP^{L} wurde jedoch nie experimentell nachgewiesen. Somit bleibt diese Theorie wissenschaftlich unbelegt. Des Weiteren suggerierten mehrere, kürzlich erschienene Querschnittsstudien an zehntausenden Patienten eine erhöhte Immunantwort gegen PrP^{C} in der Bevölkerung, welche die niedrige Inzidenz erklären könnte *(6, 7)*. Ohne jedoch eine kausale Verknüpfung demonstriert zu haben, bleibt die Ursache von Prionenkrankheiten aber weitgehend ungeklärt und könnte das Fehlen von effektiven Therapien erklären.

Ein geschichtlicher Abriss über therapeutische Ansätze gegen Prionenkrankheiten

Trotz mehrerer Dekaden intensiver Forschungsanstrengungen ist es bisher nicht gelungen, eine wirksame und zugelassene Therapie zu entwickeln. Bislang wurde in der Literatur über drei kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudien berichtet. Quinacrin, ein initial als Antimalariamittel eingeführtes Medikament, wurde aufgrund vielversprechender, präklinischer Ergebnisse in der *PRION-1*-Studie eingesetzt *(8)*. Das Schmerzmittel Flupirtin wurde sowohl in Patienten mit der genetischen als auch in solchen mit der sporadischen Form von CJK getestet *(9)*. Letztlich wurde wie in den zwei vorherigen Studien aber auch mit Doxycyclin kein therapeutischer Nutzen nachgewiesen *(10)*. In der Literatur wurde jedoch in einem mit Doxycyclin behandelten Patienten eine ungewöhnlich lange Krankheitszeit berichtet *(11)*.

Die Analysen dieser negativen Studien legen nahe, dass Zellkulturmodelle keine zuverlässige Grundlage für therapeutische Agenzien bilden können. Hierbei werden Nervenzellen in Kultur über mehrere Wochen und Monate *chronisch* mit Prionen infiziert und die Hemmwirksamkeit der Prionenreplikation wird mit Medikamenten getestet. Eine wichtige Herausforderung hierfür ist jedoch, dass die Replikation der infektiösen Prionen zumindest gleich schnell stattfindet wie die Zellteilung *(12)*. Eine negative Differenz hingegen resultiert in einer progredient sinkenden Infektiosität, was Zellkulturmodelle zu inhärent instabilen Systemen macht *(12)*.

Genetisch modifizierte Mäuse ohne das Prionprotein-kodierende Gen *PRNP* sind vor der Prionenkrankheit geschützt *(13)*, was therapeutisch mittels sogenannter Antisense-Oligonukleotide (ASO) verwertet wird. Hierbei werden ASOs mittels Injektion in das Nervenwasser eingebracht und führen über eine Bindung an Vorläufermoleküle des Prionproteins letztlich zu einer Reduktion des *Substrates* für die pathologische Replikation *(14)*. Mit dem Beginn der ersten klinischen Studien in Individuen mit diagnostizierter Prionenkrankheit wird ab Ende 2022 gerechnet.

Wenngleich ASOs therapeutisch eine neue Substanzklasse darstellen, sind Antikörper – fundamentale Bausteine des erworbenen Immunsystems – etablierte Therapeutika mit einem biomedizinischen Markt, welchem bis 2028 ein Volumen von fast 500 Milliarden US-Dollar prognostiziert wird *(15)*. Nach der bisher erfolgreichen, therapeutischen Verwendung im rheumatologisch-onkologischen Bereich wurde mit Aducanumab kürzlich der erste, therapeutische Antikörper gegen die Alzheimer-Krankheit zugelassen, welche pathophysiologisch Ähnlichkeiten zur Prionenkrankheit aufweist *(16)*. Die Zulassung ist jedoch nicht frei von Kritik *(17)*.

Im Labor von Adriano Aguzzi wurde im Jahr 2001 das erste Mal der therapeutische Nutzen von Antikörpern bei Prionenkrankheiten nachgewiesen: eine genetische Modifikation zur Antikörperexpression gegen das Prionprotein PrP^{C} in Mäusen zeigte eine protektive Funktion bei der Ausbildung der Prionenkrankheit *(18)*. Diese Ergebnisse wurden später unabhängig von anderen Forschungsgruppen bestätigt *(19)*. Neben den nützlichen, protektiven Fähigkeiten wurden jedoch auch schädliche Funktionen von Antikörper-basierten Therapien gegen Prionenkrankheiten publik. Diese stellen die duale Funktion des Prionproteins PrP^{C} eindrucksvoll dar. Einerseits besitzen Antikörper gegen den sogenannten *flexiblen Schweif* von PrP^{C} (*flexible tail*, PrP^{C}-FT) eine unschädliche sowie teilweise auch krankheitsverhindernde Wirkung. Andererseits führte die Behandlung von Mäusen mit Antikörpern gegen die *globuläre Domäne* (*globular domain*, PrP^{C}-GD) zu einem schwergradigen, neurologischen Syndrom mit Ähnlichkeiten zu der Prionenkrankheit *(20)*.

Erstaunlicherweise wurden dennoch bisher insgesamt sechs an CJK erkrankte Patienten mit dem PRN100-Antikörper behandelt, welcher die GD-Domäne bindet und im Tierversuch nachweislich toxisch wirkt *(21)*. Im Februar 2022 waren die Studienergebnisse jedoch noch nicht publiziert.

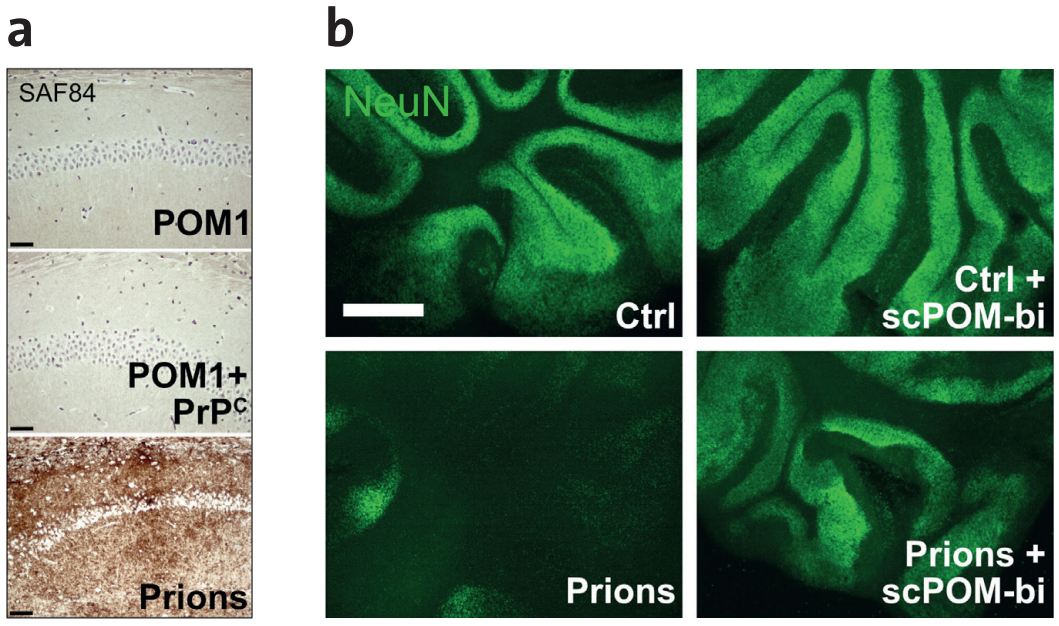


Abbildung 1.
(a) Intrazerebrale Inokulation von Mäusen mit einer Suspension aus Hirn und monoklonalem Antikörper (*oberes und mittleres Bild*) führt im Gegensatz zu Prionen (*unteres Bild*) nicht zu pathologischen Ablagerungen des Prionenproteins, welche in braun dargestellt sind. Skala = 50 µm.
(b) Prioninokulation von Kleinhirnkulturen führt zu einer Nervendegeneration (Nervenzellkerne in grün, *unten links*). Behandlung mit dem bispezifischen Antikörper scPOM-bi hemmt die Nervenzelldegeneration (*unten rechts*). Nicht infizierte Hirnkulturen sind oben dargestellt. Skala = 500 µm.

Epidemiologische Antikörperstudien am Prionprotein

Die biphasische Funktion von PrP^C zeigte für uns eine direkte Relevanz für die Ursache und Diagnose neurodegenerativer Krankheiten. So eröffnete die Toxizität von Antikörpern gegen PrP^C-GD die Frage, ob ein äquivalenter Pathomechanismus im Menschen nachgewiesen werden könnte. Patienten, welche eine Autoimmunität gegen anti-PrP^C-GD aufweisen, würden gemäss dem Mausmodell schwere, neurologische Syndrome zeigen.

In Zusammenarbeit mit Assunta Senatore und Marc Emmenegger habe ich einen Bluttest für anti-PrP^C-Antikörper im Miniaturformat entwickelt. Aus zehntausenden Patienten am Universitätsspital Zürich haben wir mittels eines enzymgekoppelten Tests aus wenigen Mikrolitern Blut Antikörper gegen PrP^C quantitativ bestimmt und mit der klinischen Geschichte verglichen. Hier fanden wir einige Patienten mit hochreaktiver Autoimmunität gegen PrP^C, welche im Alter zunahm. Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen Autoantikörpern und neurologischen Diagnosen finden.

Familiäre Prionenkrankheiten sind sehr rare, neurodegenerative Erkrankungen. Die Betroffenen tragen die krankmachende Mutation seit ihrer Geburt in ihrem Erbgut, zeigen die ersten Symptome jedoch nicht vor dem hohen Alter *(2)*. Wir spekulierten, dass diese Latenz – zumindest teilweise – durch erhöhte Spiegel von protektiven Autoantikörpern gegen das Prionprotein erklärt werden könnte. Hierzu rekrutierten wir weltweit 124 Mutationsträger und 78 nicht von der Mutation betroffene Angehörige *(22)*. Wiederum konnten wir, wie in unserer vorherigen Studie, mehrere Individuen mit erhöhten Antikörperspiegeln identifizieren, ohne eine signifikante Korrelation mit dem Krankheitsverlauf zu finden. Eine vorherrschende bzw. vollständig abwesende Rolle der antikörpermediierten Immunität bei Prionenkrankheiten lässt sich somit nicht ableiten. Es ist zu spekulieren, ob die Krankheitsmodulation durch Autoantikörper eher subtil verläuft oder nur in einer Patientensubgruppe von Relevanz ist.

Antikörperstudien zum Mechanismus von Prionenkrankheiten

Wenn Antikörper gegen PrP^C-GD einen ähnlichen Krankheitsmechanismus wie *bona fide*-Prionen besitzen, gilt dies auch für die Infektiosität von Prionen? Die Beantwortung dieser Frage war allein schon für die Laborpraxis relevant, da Prionen

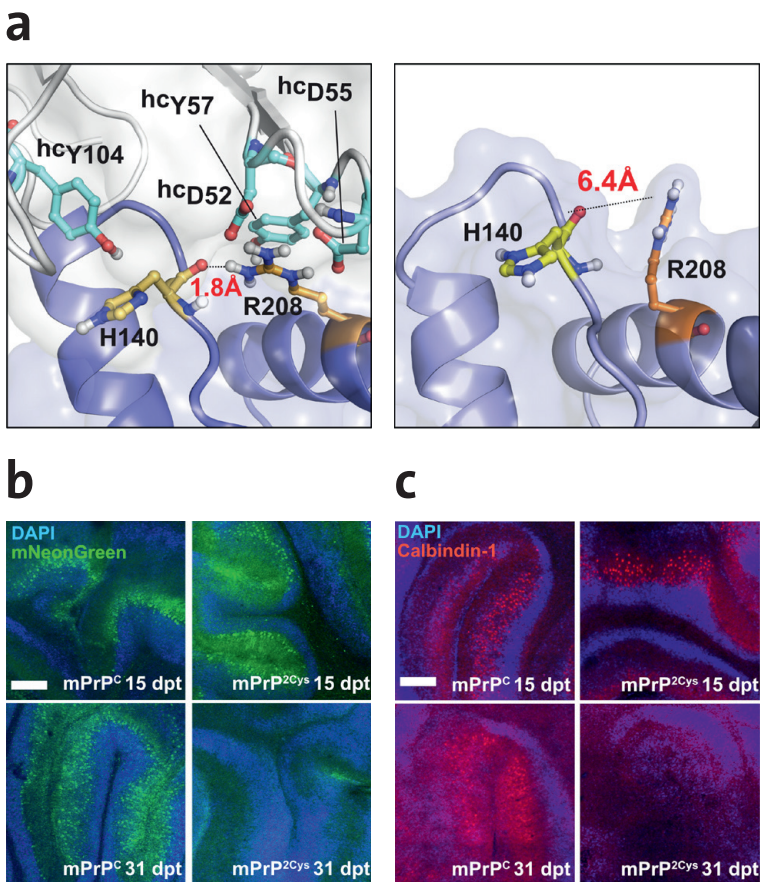


Abbildung 2.
(a) Interaktion von PrP^C mit dem neurotoxischen Antikörper POM1 favorisiert die Ausbildung einer H140-R208-Wasserstoffbrückenbindung in der globularen Domäne von PrP^C (*linkes Bild*), welche in freiem PrP^C fehlt (*rechtes Bild*).
(b) Kleinhirnkulturen exprimieren das ubiquitär vorkommende PrP^C (*linke Bilder*) und zeigen einen regelrechten Nervenzellbesatz in der Granularzellschicht nach 15 und 31 Tagen in Kultur (Nervenzellen sind *grün* markiert, dpt: days post transduction). Genetische Manipulation der Kulturen mit Expression der toxischen Variante zeigt regelrechten Nervenzellbesatz nach 15 Tagen in Kultur (*rechts oben*), jedoch Nervenzellverlust nach 31 Tagen (*rechts unten*).
(c) Hier findet sich die gleiche experimentelle Versuchsreihe wie in (b), zusätzlich wurde der Nervenzellmarker Calbindin-1 untersucht. (b) + (c): Skala = 250 µm.

nur unter strengen Biosicherheitsauflagen gehandhabt werden dürfen. Zur Untersuchung der Fragestellung haben wir Hirnkulturen mit dem toxischen Antikörper POM1 *(23)* behandelt, zu einer Suspension homogenisiert und wiederum in Mäuse injiziert. Alle mit Hirn-POM1-Suspension injizierten Mäuse überlebten über 200 Tage, prioneninjizierte Mäuse nur ein Drittel dieser Zeit (Abbildung 1a). Wir schlussfolgerten aus diesen Versuchen, dass POM1 keine infektiösen Spezies generiert *(24)*.

Uli Herrmann und Koautoren haben gezeigt, dass Antikörper gegen PrP^C-FT, wie der Mausantikörper POM2, die neurotoxischen Effekte von Prionen hemmen können *(12)*. Sie weisen jedoch ein Manko auf, nämlich dass eine Therapie nur zu frühen, jedoch nicht zu späteren, pathologisch evidenten Zeitpunkten der Prioninfektion wirksam war. Mit dem Ziel, einen therapeutisch effektiveren Antikörper zu entwickeln, haben die Gruppe um den Strukturbiologen Luca Varani (Institute for Biomedica Research, Bellinzona) und ich gemeinsam den bispezifischen Antikörper scPOM-bi konstruiert. Bei bispezifischen Antikörpern können mittels zwei miteinander gekoppelten Antikörperfragmenten zwei verschiedene Regionen gleichzeitig gebunden werden, im Gegensatz zu *klassischen* Antikörpern, welche eine Zielregion binden. Unser Prototyp scPOM-bi wurde als Hybrid von POM1 und POM2 entwickelt, nämlich mit Bindungsaffinität sowohl zu PrP^C-FT wie auch zu PrP^C-GD. Unsere Therapiestudien an Hirnkulturen der Maus zeigten eine Hemmung der Prion-toxizität in fortgeschrittenen Krankheitsstadien *(25)*. Die Ergebnisse dieser und unserer vorherigen Experimente legen nahe, dass die POM1-Bindungsstelle an PrP^C auch eine Bindungsstelle von Prionen darstellen könnte (Abbildung 1b).

Um dieser Frage nachzugehen, haben wir die strukturelle Interaktion zwischen POM1 und PrP^C mittels molekularer Simulation, Röntgenkristallographie und Magnetresonanzspektroskopie untersucht. Hierbei entdeckten wir, dass PrP^C im Komplex mit POM1 eine Wasserstoffbrückenbindung eingeht, nämlich zwischen den Aminosäuren Histidin an Position 140 (H140) und Arginin an Position 208 (R208, Abbildung 2a). Diese Brücke war für die Toxizität relevant: ein genetischer Austausch von Arginin zu Alanin (R208A) führte zu einer Hemmung der POM1-Toxizität und Verhinderung der Prionenreplikation. Im Umkehrschluss spekulierten wir, dass eine konstitutiv ausgebildete Wasserstoffbrückenbildung

oder eine ähnliche strukturelle Konfiguration zwischen H140 und R208 toxisch sein müsste, was wir mit einer I139C-R207C-Mutation nachweisen konnten (Abbildung 2b, c). Eine Computersimulation mit anderen, toxischen Antikörpern und pathologischen Mutationen im Prionproteingen zeigte ebenfalls eine Assoziation zwischen der Wasserstoffbrückenbindung und der Neurotoxizität.

Wie kann die Interaktion zwischen POM1 und PrP^C zu einer toxischen Reaktion führen? Hierfür kreierten wir elf genetisch unterschiedliche Varianten des POM1-Antikörpers. Insbesondere eine Mutation, nämlich der Austausch der Aminosäure Tyrosin zu Alanin an Position 104 der Antikörperschwerkette (nachfolgend *heavy chain* Y104A oder ^{hc}Y104A genannt) führte zu einem Verlust der POM1-Toxizität. Darüber hinaus hemmte ^{hc}Y104A dosisabhängig die Prionentoxizität im Mausmodell und zeigte eine gute Toleranz in hohen Dosen. Die Wasserstoffbrückenbindung zwischen H140 und R208 war suffizient für Prionentoxizität. Mit diesem Wissen kreierten wir neue Antikörper gegen PrP^C, jedoch ohne Affinität zu der toxischen H140-R208-Konfiguration: in kultivierten Hirnscheiben zeigte sich wiederum eine Toxizitätshemmung. Hierbei überlappten die Bindungsstellen der neuen Antikörper an PrP^C teilweise mit denen von POM1.

Die Ergebnisse sprechen für eine gemeinsame Bindungsstelle von toxischen Antikörpern und Prionen an PrP^C sowie der Wasserstoffbrückenbindung H140-R208 als Reporter einer toxischen PrP^C-Konfiguration *(26)*. Diese molekulare *Tasche* an H140-R208 kann für zukünftige, therapeutische Studien mit niedermolekularen Verbindungen oder Aptameren nutzbar gemacht werden.

Literatur

1. A. Aguzzi, J. Falsig, Prion propagation, toxicity and degradation. *Nat Neurosci* **15**, 936-939 (2012).
2. L. T. Takada, M. D. Geschwind, Prion diseases. *Semin Neurol* **33**, 348-356 (2013).
3. P. Parchi *et al.*, Consensus classification of human prion disease histotypes allows reliable identification of molecular subtypes: an inter-rater study among surveillance centres in Europe and USA. *Acta neuropathologica* **124**, 517-529 (2012).
4. E. Jones *et al.*, Identification of novel risk loci and causal insights for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a genome-wide association study. *Lancet Neurol* **19**, 840-848 (2020).
5. A. F. Hill, J. Collinge, Subclinical prion infection. *Trends Microbiol* **11**, 578-584 (2003).
6. A. Senatore *et al.*, Protective anti-prion antibodies in human immunoglobulin repertoires. *EMBO molecular medicine*, (2020).
7. K. Frontzek *et al.*, Autoantibodies against the prion protein in individuals with PRNP mutations. *Neurology* **95**, e2028-e2037 (2020).
8. J. Collinge *et al.*, Safety and efficacy of quinacrine in human prion disease (PRION-1 study): a patient-preference trial. *Lancet Neurol* **8**, 334-344 (2009).
9. M. Otto *et al.*, Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD: A double-blind study. *Neurology* **62**, 714-718 (2004).
10. S. Haik *et al.*, Doxycycline in Creutzfeldt-Jakob disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* **13**, 150-158 (2014).
11. H. Assar *et al.*, A case of variably protease-sensitive prionopathy treated with doxycyclin. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* **86**, 816-818 (2015).
12. A. Aguzzi, A. K. Lakkaraju, K. Frontzek, Toward therapy of human prion diseases. *Annual review of pharmacology and toxicology* **58**, 331-351 (2018).
13. H. Bueler *et al.*, Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* **73**, 1339-1347 (1993).
14. E. V. Minikel *et al.*, Prion protein lowering is a disease-modifying therapy across prion disease stages, strains, and endpoints. *bioRxiv*, 2020.2003.2027.011940 (2020).
15. Monoclonal Antibody Therapy Market Size. *Fortune Business Insights*, (2021).
16. D. J. Selkoe, Alzheimer disease and aducanumab: adjusting our approach. *Nat Rev Neurol*, (2019).
17. R. Howard, K. Y. Liu, Questions EMERGE as Biogen claims aducanumab turnaround. *Nature Reviews Neurology* **16**, 63-64 (2020).

18. F. L. Heppner *et al.*, Prevention of Scrapie Pathogenesis by Transgenic Expression of Anti-Prion Protein Antibodies. *Science* **294**, 178-182 (2001).
19. A. R. White *et al.*, Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature* **422**, 80-83 (2003).
20. T. Sonati *et al.*, The toxicity of antiprion antibodies is mediated by the flexible tail of the prion protein. *Nature* **501**, 102-106 (2013).
21. R. R. Reimann *et al.*, Differential Toxicity of Antibodies to the Prion Protein. *PLoS Pathog* **12**, e1005401 (2016).
22. K. Frontzek *et al.*, Autoantibodies against the prion protein in individuals with PRNP mutations. *Neurology*, (2020).
23. M. Polymenidou *et al.*, The POM monoclonals: a comprehensive set of antibodies to non-overlapping prion protein epitopes. *PloS one* **3**, e3872 (2008).
24. K. Frontzek *et al.*, Neurotoxic Antibodies against the Prion Protein Do Not Trigger Prion Replication. *PloS one* **11**, e0163601 (2016).
25. M. Bardelli *et al.*, A bispecific immunotweezer prevents soluble PrP oligomers and abolishes prion toxicity. *PLoS pathogens* **14**, e1007335 (2018).
26. K. Frontzek *et al.*, A conformational switch controlling the toxicity of the prion protein. *bioRxiv*, 2021.2009.2020.460912 (2021).

Stau in der Mikrozirkulation: dem Reperfusions-Versagen beim ischämischen Schlaganfall auf der Spur

Susanne Wegener

Erfolge und Herausforderungen der akuten Schlaganfallbehandlung

Jährlich erleiden etwa 15 Millionen Menschen weltweit einen Schlaganfall (Virani *et al.*, 2021). Etwa 85 bis 90 Prozent aller Schlaganfälle sind ischämisch: hirnzuführende Arterien werden durch ein Blutgerinnsel verstopft und das zugehörige Hirnareal wird minderdurchblutet. Hierdurch kommen Hirnfunktionen zum Erliegen und das betroffene Hirngewebe geht unter. Klinische Symptome sind mannigfaltig und von Lokalisation und Ausmass der Durchblutungsstörung abhängig. Lähmungen, Sprach- und Sprechstörungen, Schwindel und Kopfschmerzen können auftreten. Charakteristisch ist der akute Symptombeginn. Viele Betroffene müssen mit bleibenden Behinderungen weiterleben, einige versterben an den Folgen des Schlaganfalles. Grosse Anstrengungen in der Prävention und Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen haben insbesondere in westlichen Industriestaaten dazu beigetragen, die Mortalität des Schlaganfalles in den letzten Jahren zu senken (Campbell *et al.*, 2019). Hauptziel der Akuttherapie ist die zeitnahe und komplette Rekanalisation (Wiedereröffnung) des verschlossenen Gefässes. Dies gelingt durch eine intravenöse Thrombolysetherapie mit der fibrinolytischen Substanz rt-PA (gewebespezifischer Plasminogenaktivator), einer mechanischen, Katheter-basierten Entfernung des Blutgerinnsels mittels Thrombektomie oder eine Kombination beider Methoden (Berge *et al.*, 2021; Goyal *et al.*, 2016). Die intravenöse Thrombolysetherapie (Lyse) wurde 1995 für die Anwendung bis zu 3 Stunden ab Symptombeginn zugelassen und wird seither immer häufiger und in weiteren Zeitfenstern angewendet. Mehrere im Jahr 2015 publizierte, randomisierte Studien konnten klar zeigen, dass bei Verschlüssen grosser Gefässe die mechanische Thrombektomie mit und ohne begleitende Lyse erfolgreicher ist als die Lysetherapie allein (Goyal *et al.*, 2016). Für die Akuttherapien gilt: je schneller nach Symptombeginn gestartet, desto besser die Wirkung und desto geringer das Risiko einer Komplikation wie zum Beispiel der gefürchteten intrazerebralen Blutung (Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group, 1995). Zur Abwägung von Nutzen und Risiko der Akutbehandlung wird oft die Bildgebung zurate gezogen (Farr and Wegener, 2010). Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) können das Ausmass der Durchblutungsstörung in der Perfusions-

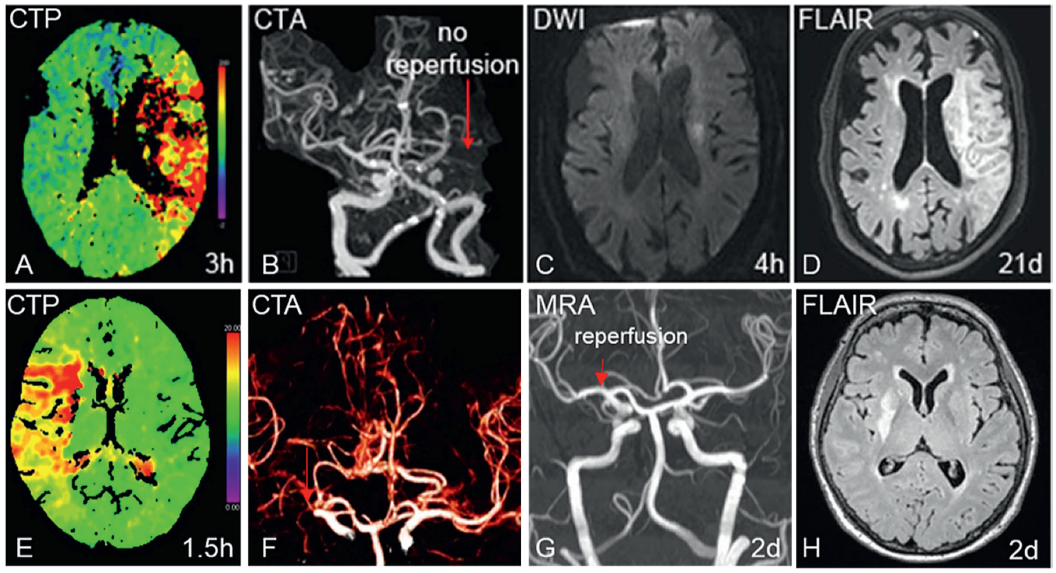


Abbildung 1: Akute Schlaganfalltherapie in der zerebralen Bildgebung.
Im oberen und unteren Panel ist die Bildgebung von jeweils einem Schlaganfall-Patienten mit Verschluss der Arteria Cerebri Media (MCA) im M1-Segment zu sehen. CTP: CT-Perfusion. CTA: CT-Angiographie. DWI: Diffusionsgewichtetes MRI. FLAIR: Fluid Attenuated Inversion Recovery MRI. MRA: MR-Angiographie.
Oben (A–D): Patient mit MCA-Verschluss links.
A: Die Perfusion im MCA-Territorium ist verzögert.
B: Die MCA links ist verschlossen (Pfeil). In der nur eine Stunde später veranlassten MR-Bildgebung ist der Infarktkern im DWI noch sehr klein. Leider kann die MCA nicht wiedereröffnet werden und der Infarkt hat Wochen später das Ausmass der initialen Perfusionsstörung erreicht (D).
Unten (E–H): Patient mit MCA-Verschluss rechts.
E: Die Perfusion im MCA-Territorium ist verzögert.
F: Die MCA links ist in der CTA verschlossen.
G: Die MCA kann aber in der Akutphase rekanalisiert werden, so dass sie im Kontroll-MRI nach 2 Tagen offen ist (Pfeil).
H: Der Infarkt bleibt klein.

gewichteten Bildgebung, den Ort des Gefäss-Verschlusses und den bereits etablierten Gewebeschaden aufzeigen. Das Konzept von Infarkt-Kern, Penumbra und Mismatch wird zurzeit für die Prädiktion von Erholungs-Chancen in der Akutphase am häufigsten verwendet (Warach *et al.*, 2016). Der Kern entspricht dem Areal mit der stärksten Reduktion des Blutflusses, welches von einer Zone mit weniger starker Minderperfusion umgeben ist. Die Differenz zwischen dem gesamten minderdurchbluteten Areal und dem Infarktkern wird als Mismatch bezeichnet. Kann das Gefäss nicht wiedereröffnet werden, wird das zentrale, initial am schwersten betroffene Gewebe (Infarktkern) bis in die anfänglich noch wenig betroffenen, umgebenden Infarktzonen (Penumbra) weiterwachsen (Abbildung 1, A–D). Kann das Gefäss wiedereröffnet werden, kommt das Infarktwachstum zum Stillstand (Abbildung 1, E–H). Ist der Infarktkern gross und das Mismatch klein, wird von einer ungünstigen Konstellation für eine Therapie ausgegangen. Dies kommt insbesondere bei schwierigen Therapie-Entscheiden zum Tragen, zum Beispiel bei relativen Kontraindikationen für eine Lysetherapie oder sehr fortgeschrittenem Behandlungszeitfenster (Berge *et al.*, 2021). Auch wenn es für die Nutzung dieser Bildgebungsparameter viel pathophysiologische Evidenz gibt, scheint die Vorhersage des Therapieerfolges mit den aktuellen Bildgebungsparametern nur ungenügend zu funktionieren (Goyal *et al.*, 2020; Hamann *et al.*, 2020). Gründe hierfür sind unter anderem die sehr unterschiedliche, individuelle Resistenz gegen Schlaganfall-induzierten Schaden und die grosse Variabilität im Erholungspotential, die wahrscheinlich beide von zahlreichen klinischen Faktoren abhängen (Jadhav *et al.*, 2021). Ausserdem war unbekannt, ob sich die Gewebedurchblutung nach Lyse komplett wiederherstellt und somit die Bildgebung vor Rekanalisation das zu erwartende Infarktgebiet korrekt abbildet. Das Ziel unserer Arbeit war herauszufinden, welche Hindernisse der Reperfusion nach Schlaganfall trotz Rekanalisierungs-Therapien im Wege stehen.

Reperfusions-Versagen bei Patienten mit Schlaganfall

Trotz der sich stetig verbessernden Behandlung mit Rekanalisationsraten von mittlerweile etwa 90 Prozent durch mechanische Thrombektomie und optimierte Abläufe in der Triage und Behandlung von Schlaganfallpatienten auf spezialisierten Stroke Units bleiben viele Patienten schwer betroffen (Meinel *et al.*, 2019).

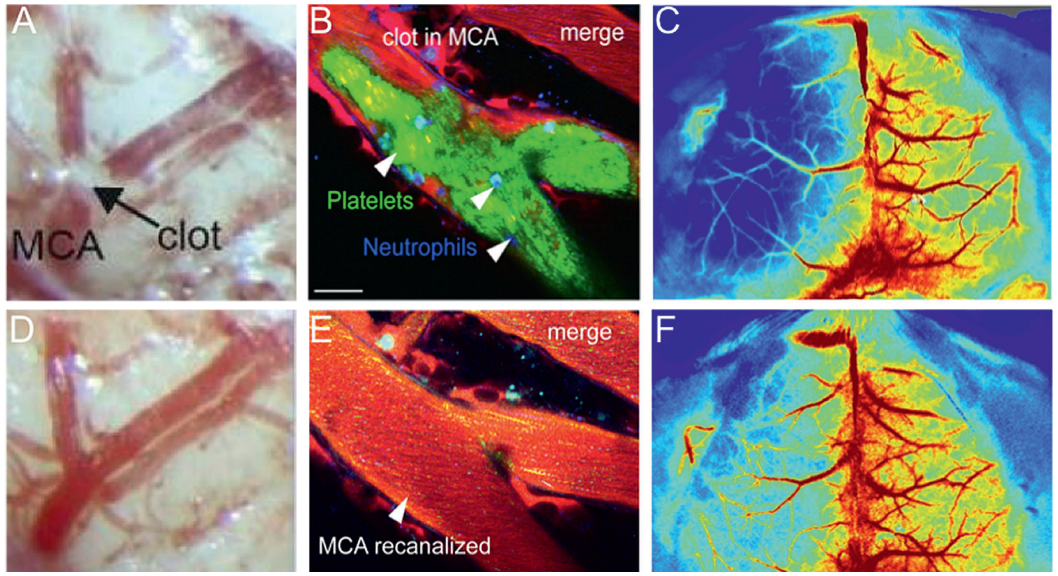


Abbildung 2: Das Thrombin-Modell.
A: Mikroskopische Darstellung der MCA an der Bifurkation (M2-Segment) nach Applikation von Thrombin mit Bildung eines Blutgerinnsels (Pfeil: clot).
B: Zwei-Photonen-Mikroskopie: Das Gerinnsel ist reich an Thrombozyten (Platelets) und enthält wenige neutrophile Granulozyten (Neutrophils).
C: LSCI des Maus-Kortex während der Ischämie.
D, E, F: Mit denselben Methoden wie im oberen Panel ist die Situation nach Lyse mit Rekanalisation der MCA dargestellt. In F ist ersichtlich, dass die Perfusion auf der betroffenen Seite im Vergleich zur Gegenseite reduziert ist.

Rekanalisation (Wiedereröffnung des Gefässes) führt also nicht immer zur Wiederherstellung der Blutzirkulation oder Reperfusion (Wiederdurchblutung) des betroffenen Hirnareals mit guter klinischer Erholung. Diese Situation wird auch als Reperfusions-Versagen bezeichnet (Espinosa de Rueda *et al.*, 2015).
Mit der zunehmenden Zahl an behandelten Schlaganfall-Patienten wurde das Phänomen des Reperfusions-Versagens in den letzten Jahren evident. Allerdings fehlten bisher Strategien zur Behandlung dieses Problems (Deng *et al.*, 2021).

Reperfusions-Versagen im Mausmodell

Zum besseren Verständnis der an Reperfusions-Versagen beteiligten Mechanismen nutzten wir ein Schlaganfall-Modell in der Maus, bei welchem sich die Bildung des Blutgerinnsels und auch dessen Lyse beobachten lassen: das Thrombin-Modell (Abbildung 2) (El Amki *et al.*, 2012; Orset *et al.*, 2016). Hierbei wird nach einer Kraniotomie über eine Pipette der Blutgerinnungsfaktor Thrombin in das M2-Segment der Arteria Cerebri Media (MCA) injiziert. Dadurch entsteht innerhalb von Sekunden ein Gerinnsel, was sich mikroskopisch verifizieren lässt (Abbildung 2A, B). Durch die Gefäss-Obstruktion fällt die Perfusion der von der MCA abhängigen Hirnregion sofort auf etwa 20 bis 30 Prozent des Ausgangsniveaus ab. Die Perfusion der Hirnoberfläche kann vor und während der Ischämie kontinuierlich mittels Laser-Speckle-Cortical-Imaging (LSCI) monitorisiert werden (Abbildung 2C).
Das Modell ermöglicht auch eine Beobachtung von Rekanalisation durch systemische Thrombolyse mit rt-PA. Analog zur Vorgehensweise bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall wird die Substanz im Thrombin-Modell erst als Bolus (10 Prozent) und dann (90 Prozent) über eine Stunde intravenös infundiert. Die Auflösung des Gerinnsels durch diese Massnahme und die Wiederherstellung der Hirndurchblutung lassen sich durch Bildgebung (Mikroskop / LSCI, Abbildung 2D, E, F) verifizieren. Als Kontrolle dienen Mäuse, welchen anstelle von rt-PA Kochsalz injiziert wurde. Zwei Stunden nach der Lyse betrug der Anteil der Mäuse mit kompletter Auflösung des Blutgerinnsels 100 Prozent, in den Kochsalz-behandelten Kontrollen zeigten 22,3 Prozent eine partielle Rekanalisation, während das Gefäss bei 77,7 Prozent komplett okkludiert blieb. Der Rekanalisationserfolg in der rt-PA-behandelten Gruppe übersetzte sich allerdings nicht in eine vollständige Wiederherstellung der Gewebeperfusion: im Infarkt-Kern erholte sich trotz voll-

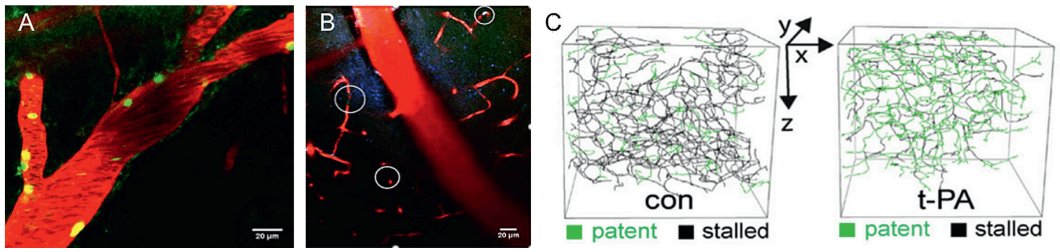


Abbildung 3: Neutrophile Granulozyten verursachen Perfusionsstörungen in den Kapillaren.
A: Zwei-Photonen-Mikroskopie über dem MCA-versorgten Gebiet in einer Maus während der Thrombin-Okklusion. Neutrophile Granulozyten (grün nach Färbung mit Rhodamin 6G und Hoechst 33342) in einer Venole.
B: Fokus auf die Kapillaren zeigt den Unterbruch des Blutflusses aufgrund einzelner neutrophiler Granulozyten (weisse Kreise).
C: 3D-Abschnitte mit Quantifizierung offener (grün, *patent*) und verstopfter (schwarz, *stalled*) Kapillaren. Links in C ist die Quantifizierung in einer Kontroll-Maus, rechts in einer lysierten Maus (t-PA) dargestellt. Adaptiert aus (El Amki *et al.*, 2020).

ständiger Entfernung des Gerinnsels die Durchblutung nur auf etwa 60 Prozent des Ausgangs-Niveaus, in der weniger schwer betroffenen Penumbra auf etwa 75 Prozent. Diese Beobachtungen bestätigten, dass auch im Thrombin-Modell des ischämischen Schlaganfalles ein Reperfusions-Versagen zu beobachten ist.

Neutrophile Granulozyten: Zellen der Immunabwehr führen nach Schlaganfall zu *Staus* in den kleinsten Blutgefässen des Gehirns

Um die Ursache des Reperfusions-Versagens zu untersuchen, setzten wir Zwei-Photonen-Mikroskopie ein (Drew *et al.*, 2011; Mayrhofer *et al.*, 2015). Hierfür werden den Mäusen zwei Wochen zuvor sogenannte kraniale Fenster (4 mal 4 Millimeter) implantiert, die später eine Bildgebung einzelner Gefässe und Zellen *in vivo* ermöglichen. Blutfluss kann durch Färbung von Plasma mittels Texas-Red Dextran und Quantifizierung von *streaks* in diesem Signal durch die Bewegung roter Blutkörperchen gemessen werden. Direkt nach Induktion des Schlaganfalles durch Thrombin-Injektion stellten wir die distale MCA und noch weiter distal gelegene Gefässe, inklusive kleinster Kapillargefässe dar. Wir beobachteten 8 bis 10 Mikrometer grosse Zellen, die innerhalb weniger Minuten nach Beginn der Ischämie in den grösseren arteriellen und venösen Gefässen sichtbar wurden und an deren Wänden entlang rollten (Abbildung 3A). Morphologie, Grösse und spezifische Färbung dieser Zellen (Rhodamin 6G für Leukozyten, Hoechst 33342 für Zellkerne) identifizierten diese als neutrophile Granulozyten (Cruz Hernandez *et al.*, 2019). Die dreidimensionale Darstellung vaskulärer Netzwerke aus einzelnen Blöcken (*stacks*) im Sichtfeld des Zwei-Photonen-Mikroskopes zeigte, dass Stase, also angehaltener Fluss, ohne Lyse (bei Fortbestehen des Gerinnsels in der MCA) in etwa 70 bis 80 Prozent der Kapillaren zu beobachten war, nach erfolgreicher Lyse in etwa 20 bis 30 Prozent (Abbildung 3B, C). Solche Blockaden wurden in Mäusen ohne Ischämie nur in etwa 0,64 Prozent der Kapillaren als spontanes Phänomen gefunden.

Könnten kapilläre Blockaden durch neutrophile Granulozyten nach einem Schlaganfall tatsächlich Gewebeperfusion in einem relevanten Ausmass reduzieren? Wäre die Beseitigung dieser Blockaden eine Möglichkeit, um Gewebeperfusion zu verbessern? Könnte hierdurch auch die klinische Erholung nach einem Schlaganfall günstig beeinflusst werden? Um diese Fragen zu beantworten, behandelten

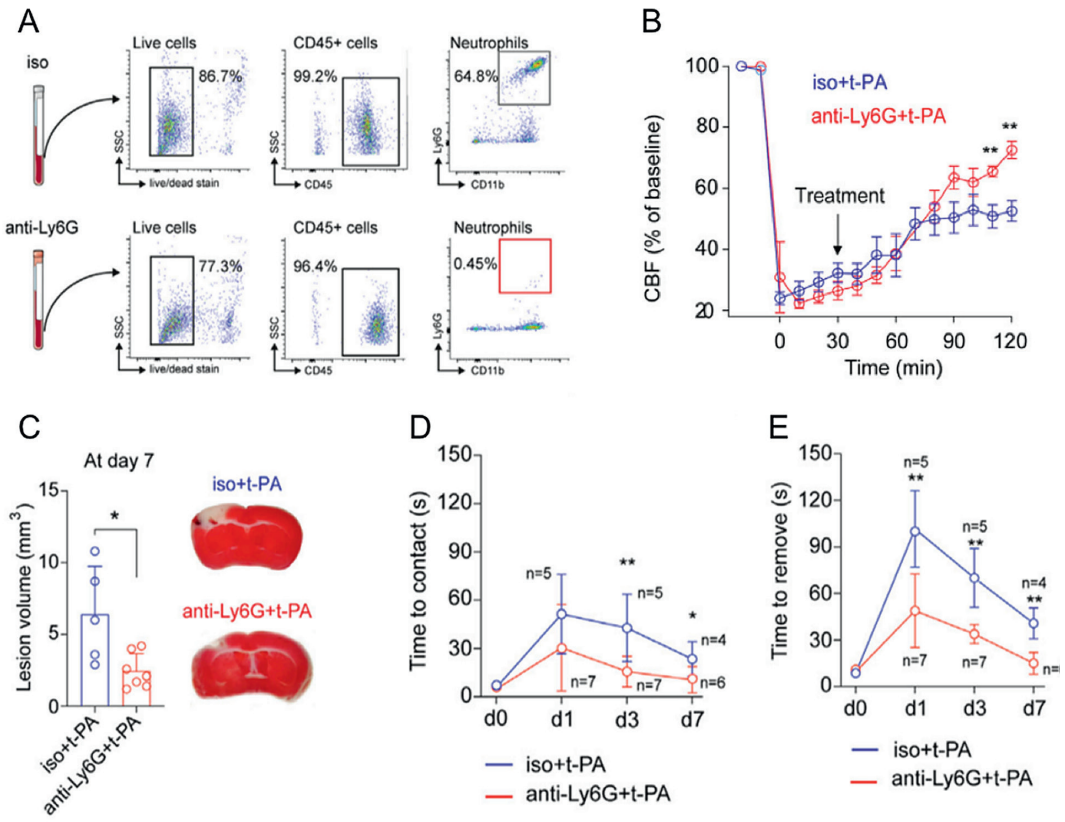


Abbildung 4: Entfernung von neutrophilen Granulozyten durch Antikörperbehandlung verbessert die Reperfusion und vermindert den Schlaganfall-induzierten Schaden.
A: Durchflusszytometrische Selektion von neutrophilen Granulozyten 24h nach Vorbehandlung mit Anti-Ly6G oder einem Isotypen-Antikörper (*iso*).
B: LSCI-Messung von kortikaler Perfusion in einer durch die MCA versorgten Region in Anti-Ly6G-behandelten Mäusen (n=7) und Kontrollen (n=7). In beiden Gruppen wurde nach 30min eine Lyse mit rt-PA gestartet. Die Reperfusion in Anti-Ly6G-behandelten Tieren war signifikant besser.
C: Quantifizierung des Infarktvolumens mithilfe einer 2,3,5-TTC-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) Färbung. Weisse Areale entsprechen dem Infarkt. Anti-Ly6G-behandelte Tiere haben kleinere Schlaganfall-Läsionen an Tag 7.
D, E: Sticky-Tape-Test zur Messung der sensomotorischen Defizite auf der betroffenen Seite nach Schlaganfall in den Anti-Ly6G- und Isotyp-Antikörper-behandelten Kontrollen. Letztere (blaue Linie) benötigen mehr Zeit, um das Klebeband mit der Schnauze zu kontaktieren und zu entfernen. Angepasst aus (El Amki *et al.*, 2020).

wir in einem weiteren Experiment Mäuse mit dem Antikörper Anti-Ly6G, der Granulozyten innerhalb von 24 Stunden effektiv und spezifisch depletiert (Daley *et al.*, 2008). Eine Kontrollgruppe erhielt einen Isotyp-Kontrollantikörper. Durchflusszytometrisch konnten wir zeigen, dass die Vorbehandlung mit Anti-Ly6G neutrophile Granulozyten zu 97,5 Prozent entfernte (Abbildung 4A). Wurden die Tiere daraufhin im Thrombin-Modell und mittels LSCI auf Gewebeperfusion nach Ischämie und Lysetherapie untersucht, fand sich etwa 40 Minuten nach Beginn der Lysetherapie und bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes von zwei Stunden eine signifikant bessere Durchblutung des Hirngewebes (Abbildung 4B). Es kam nicht zu einer Häufung von hämorrhagischen Komplikationen durch Vorbehandlung mit dem Antikörper. Die Grösse des Infarktes war in Anti-Ly6G-behandelten Tieren nach sieben Tagen deutlich kleiner (Abbildung 4C). Zur Beurteilung der funktionellen Beeinträchtigung durch den Schlaganfall verwendeten wir Tests sensomotorischer Funktionen, wie den sogenannten *Sticky-Tape-Test*. Hierbei wird ein kleiner Klebestreifen auf beiden Vorderpfoten der Mäuse aufgebracht, welchen gesunde Tiere rasch als störend empfinden und innerhalb weniger Sekunden entfernen. Durch die Verminderung der sensiblen Wahrnehmung und motorischen Funktionen auf einer Seite des Körpers bemerken und entfernen Mäuse mit Schlaganfall das Klebeband auf der betroffenen Seite später. Anti-Ly6G-vorbehandelte Mäuse bemerkten und entfernten das Klebeband schneller als die Kontrollen (Abbildug 4D, E). Dieser Unterschied war an den Tagen 1, 3 und 7 nach dem Schlaganfall evident.

Gefässblockaden durch neutrophile Granulozyten: ein neuer therapeutischer Ansatz?

Im klinischen Kontext wird von Reperfusions-Versagen nach Schlaganfall gesprochen, wenn trotz vollständiger Rekanalisation eine ungenügende klinische Erholung zu beobachten ist (Nie *et al.*, 2018). Mechanismen dieses Problems sind bei Patienten schwierig zu untersuchen. Die betroffenen kleinsten Gefässe können in der Routine-Bildgebung kaum erfasst werden und der oft kritische Zustand der Betroffenen erschwert repetitive und komplexe Untersuchungen direkt nach der Akutbehandlung. Wenngleich Reperfusions-Versagen nach experimentellem Schlaganfall bereits 1968 postuliert wurde (Ames *et al.*, 1968), kamen die Hinweise hierfür aus Post-mortem-Untersuchungen. Es fehlten damals die Möglichkeiten, Hirnperfusion auf globaler und Einzelgefäss-Ebene im

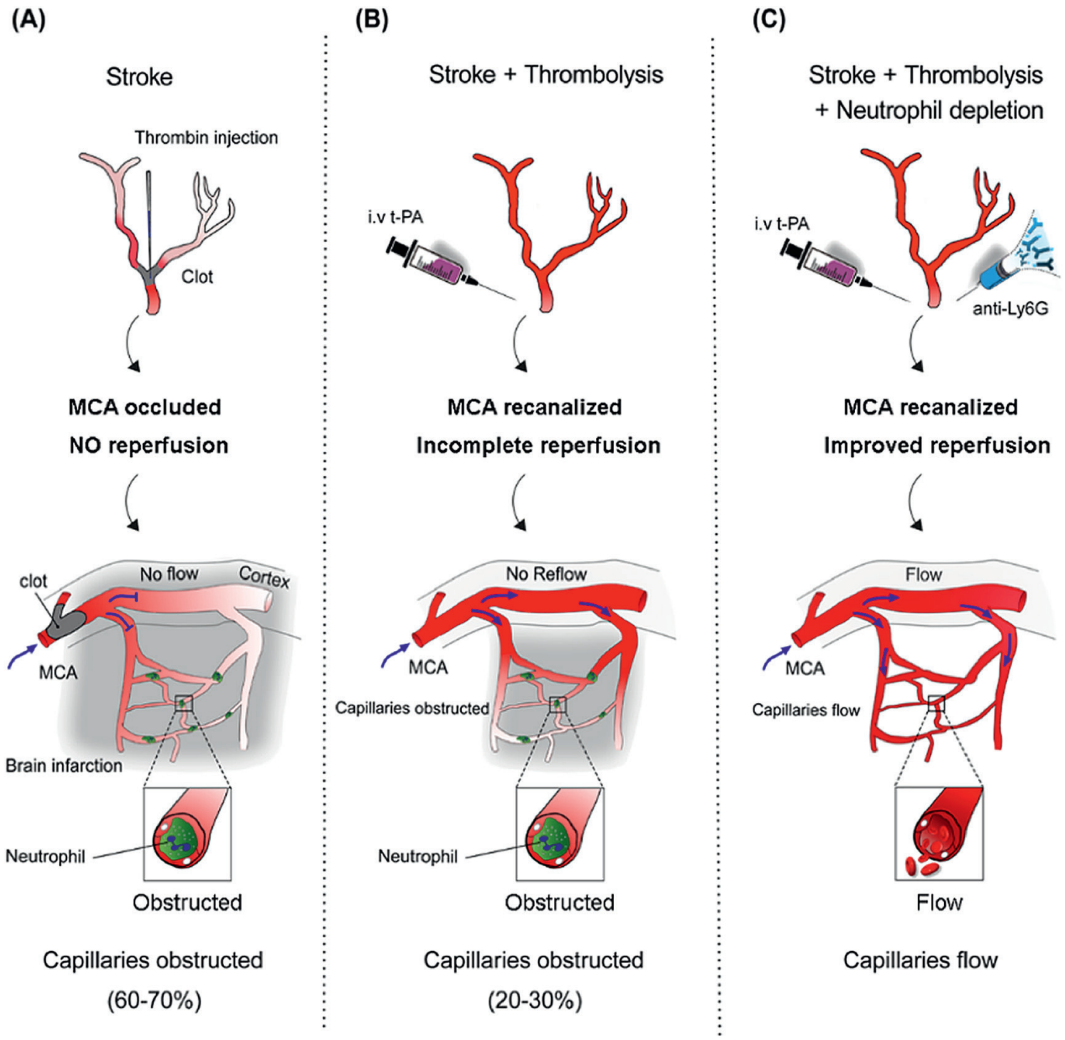


Abbildung 5: Stau in der Mikrozirkulation.
Thrombolyse rekanalisiert die MCA, führt aber nur zu inkompletter Reperfusion des Hirngewebes durch Neutrophilen-induzierte Verstopfungen der Kapillaren (B). Werden Neutrophile entfernt, verbessert sich die Reperfusion durch Verminderung der kapillären Stase. Aus (El Amki *et al.*, 2020).

lebenden Organismus zu untersuchen. Translationale Forschung mit Nutzung von möglichst realistischen *in vivo*-Modellen und hoch-aufgelöste Bildgebung bieten hier die Chance, die Faktoren zu identifizieren, die dem Problem zugrunde liegen. Es ist davon auszugehen, dass Reperfusions-Versagen durch mehrere Mechanismen erklärt werden kann; unter anderem auch durch Embolisation von Fragmenten des Blutgerinnsels in weiter distal gelegene Gefässe oder Dysfunktion von Endothelzellen und Perizyten (El Amki and Wegener, 2017). Interessanterweise scheint die mikrovaskuläre Durchblutung auch bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer gestört zu sein (Cruz Hernandez *et al.*, 2019). Es ist also durchaus möglich, dass kapilläre Obstruktionen durch neutrophile Granulozyten einen Pathomechanismus von grösserer Relevanz darstellen, über das Krankheitsbild des ischämischen Schlaganfalles hinausgehend.

Zusammenfassung

In einem Schlaganfall-Modell in der Maus konnten wir zeigen, dass sich die Perfusion des Gewebes hinter der ursächlichen Gefäss-Okklusion trotz Lyse-Therapie nur zu etwa 60 Prozent erholt (El Amki *et al.*, 2020). Wichtigstes Element hierbei waren Verstopfungen kapillärer Gefässe durch neutrophile Granulozyten (Abbildung 5). Die Entfernung dieser Granulozyten durch Antikörper-Vorbehandlung führte tatsächlich nicht nur zu einer Verbesserung der Blutversorgung, sondern auch zu einer relevanten Wirkung auf Infarktgrösse und Funktionsdefizite. Der Abbau neutrophiler Granulozyten ist keine realistische Behandlungsoption für Patienten mit Schlaganfall, da diese Zellen für die Immunabwehr unverzichtbar sind. In unserer Arbeit war diese Strategie ein *Proof-of-principle*, um den Zusammenhang zwischen der Beobachtung der Zellen in den Blutgefässen, der verminderten Gewebeperfusion und der klinischen Erholung zu zeigen. Die Resultate lassen allerdings darauf schliessen, dass sich durch Therapie von Reperfusions-Versagen die Schlaganfall-Erholung verbessern lässt.

Weitere Projekte in unserer Arbeitsgruppe zielen darauf ab zu verstehen, ob die Granulozyten durch Veränderung ihrer mechanischen Eigenschaften (Verformbarkeit als Bedingung für die Passage durch kleine Gefässe) oder der Interaktion mit den Gefässwänden nach einem Schlaganfall zu einem Fluss-Hindernis werden. Hierfür entwickeln wir Methoden, um die Zellen *in vitro* bei ihrer Migration durch kleinste, künstliche Kammersysteme zu beobachten. Ausserdem untersuchen wir, ob diese Zellen, die ihre Eigenschaften schnell verändern und sich an ihre Umgebung anpassen können,

nach einem Schlaganfall ein spezifisches Genexpressions-Programm anstossen und hierdurch auch für gezielte therapeutische Ansätze zugänglich werden. Des Weiteren scheint die unterschiedliche Ausprägung des Gefäss-Netzes im Gehirn (*Kollateralen*) einen entscheidenden Einfluss auf die Reperfusion zu haben. Ob und wie hier neutrophile Granulozyten und Kollateralgefässe zusammenspielen, ist Gegenstand gegenwärtiger Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe. Ein weiterer Fokus liegt auf der individuellen Vulnerabilität oder *Resistenz* gegen Schlaganfall, sowohl in der Prävention als auch für den Erfolg der Akuttherapie. Wer ist besonders vulnerabel (von Bieberstein *et al.*, 2020; Westphal *et al.*, 2020)? Welche Bedeutung haben Sex-spezifische Faktoren (Rossi *et al.*, 2022)? Wir versuchen, durch moderne statistische Methoden und Nutzung von sowohl klinischen als auch Bild-Daten herauszufinden, welche Faktoren für Therapieerfolg bei Schlaganfall entscheidend sind (Hamann *et al.*, 2020; Herzog *et al.*, 2020). Hierdurch hoffen wir, Schlaganfalltherapien auf die individuell Betroffenen abzustimmen, um so einen bestmöglichen Behandlungserfolg zu erzielen.

Frühere Studien zu neuroprotektiven Substanzen für die Schlaganfallbehandlung fokussierten sich auf den Schutz der Nervenzellen und konnten bisher keinen durchschlagenden Erfolg in der Klinik verzeichnen. Die Hoffnung, neue Therapien zu entwickeln, die zusammen mit den Rekanalisations-Methoden funktionieren könnten, ist gross (Fisher and Savitz, 2022). Die Wirkung der Neutrophilen-Entfernung auf Gewebedurchblutung und Erholung in unserer Studie war deutlich und signalisiert, dass therapeutische Strategien für den Schlaganfall unbedingt die Blutgefässe und deren Integrität berücksichtigen müssen. Eine gesunde Funktion der Hirngefässe ist Voraussetzung für die Aufrechterhaltung der Funktionen unseres Gehirns.

Danksagung

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds, der Universität Zürich (UZH klinischer Forschungsschwerpunkt Schlaganfall) und der Schweizerischen Herzstiftung unterstützt. Ich danke allen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe sowie meinen Kolleg*innen und Kollaborationspartner*innen für das grosse Engagement in diesem Projekt, welches nur durch gute Zusammenarbeit gelingen konnte. Ich danke den vielen Patient*innen, die bereit sind, ihre Daten für Forschungszwecke zur Verfügung zu stellen, und hierdurch einen unschätzbaren Beitrag für wissenschaftlichen Fortschritt leisten.

Referenzen

Ames, A., 3rd, Wright, R.L., Kowada, M., Thurston, J.M., and Majno, G. (1968). Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *The American journal of pathology* **52**, 437-453.

Berge, E., Whiteley, W., Audebert, H., De Marchis, G.M., Fonseca, A.C., Padiglioni, C., de la Ossa, N.P., Strbian, D., Tsivgoulis, G., and Turc, G. (2021). European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Eur Stroke J* **6**, I-LXII. 10.1177/2396987321989865.

Campbell, B.C.V., De Silva, D.A., Macleod, M.R., Coutts, S.B., Schwamm, L.H., Davis, S.M., and Donnan, G.A. (2019). Ischaemic stroke. *Nat Rev Dis Primers* **5**, 70. 10.1038/s41572-019-0118-8.

Cruz Hernandez, J.C., Bracko, O., Kersbergen, C.J., Muse, V., Haft-Javaherian, M., Berg, M., Park, L., Vinarcsik, L.K., Ivasyk, I., Rivera, D.A., *et al*. (2019). Neutrophil adhesion in brain capillaries reduces cortical blood flow and impairs memory function in Alzheimer's disease mouse models. *Nat Neurosci* **22**, 413-420. 10.1038/s41593-018-0329-4.

Daley, J.M., Thomay, A.A., Connolly, M.D., Reichner, J.S., and Albina, J.E. (2008). Use of Ly6G-specific monoclonal antibody to deplete neutrophils in mice. *J Leukoc Biol* **83**, 64-70. 10.1189/jlb.0407247.

Deng, G., Xiao, J., Yu, H., Chen, M., Shang, K., Qin, C., and Tian, D.S. (2021). Predictors of futile recanalization after endovascular treatment in acute ischemic stroke: a meta-analysis. *J Neurointerv Surg*. 10.1136/neurintsurg-2021-017963.

Drew, P.J., Shih, A.Y., and Kleinfeld, D. (2011). Fluctuating and sensory-induced vasodynamics in rodent cortex extend arteriole capacity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**, 8473-8478. 10.1073/pnas.1100428108.

El Amki, M., Gluck, C., Binder, N., Middleham, W., Wyss, M.T., Weiss, T., Meister, H., Luft, A., Weller, M., Weber, B., and Wegener, S. (2020). Neutrophils Obstructing Brain Capillaries Are a Major Cause of No-Reflow in Ischemic Stroke. *Cell Rep* **33**, 108260. 10.1016/j.celrep.2020.108260.

El Amki, M., Lerouet, D., Coqueran, B., Curis, E., Orset, C., Vivien, D., Plotkine, M., Marchand-Leroux, C., and Margaill, I. (2012). Experimental modeling of recombinant tissue plasminogen activator effects after ischemic stroke. *Exp Neurol* **238**, 138-144. 10.1016/j.expneurol.2012.08.005.

El Amki, M., and Wegener, S. (2017). Improving Cerebral Blood Flow after Arterial Recanalization: A Novel Therapeutic Strategy in Stroke. *Int J Mol Sci* **18**. 10.3390/ijms18122669.

Espinosa de Rueda, M., Parrilla, G., Manzano-Fernandez, S., Garcia-Villalba, B., Zamarro, J., Hernandez-Fernandez, F., Sanchez-Vizcaino, C., Carreon, E., Morales, A., and Moreno, A. (2015). Combined Multimodal Computed Tomography Score Correlates With Futile Recanalization After Thrombectomy in Patients With Acute Stroke. *Stroke* **46**, 2517-2522. 10.1161/STROKEAHA.114.008598.

Farr, T.D., and Wegener, S. (2010). Use of magnetic resonance imaging to predict outcome after stroke: a review of experimental and clinical evidence. *J Cereb Blood Flow Metab* **30**, 703-717. 10.1038/jcbfm.2010.5
jcbfm20105 [pii].

Fisher, M., and Savitz, S.I. (2022). Pharmacological brain cytoprotection in acute ischaemic stroke – renewed hope in the reperfusion era. *Nat Rev Neurol.* 10.1038/s41582-021-00605-6.

Goyal, M., Menon, B.K., van Zwam, W.H., Dippel, D.W., Mitchell, P.J., Demchuk, A.M., Davalos, A., Majoie, C.B., van der Lugt, A., de Miquel, M.A., *et al*. (2016). Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials. *Lancet* **387**, 1723-1731. 10.1016/S0140-6736(16)00163-X.

Goyal, M., Ospel, J.M., Menon, B., Almekhlafi, M., Jayaraman, M., Fiehler, J., Psychogios, M., Chapot, R., van der Lugt, A., Liu, J., *et al*. (2020). Challenging the Ischemic Core Concept in Acute Ischemic Stroke Imaging. *Stroke* **51**, 3147-3155. 10.1161/STROKEAHA.120.030620.

Hamann, J., Herzog, L., Wehrli, C., Dobrocky, T., Bink, A., Piccirelli, M., Panos, L., Kaesmacher, J., Fischer, U., Stippich, C., *et al*. (2020). Machine-learning-based outcome prediction in stroke patients with middle cerebral artery-M1 occlusions and early thrombectomy. *Eur J Neurol*. 10.1111/ene.14651.

Herzog, L., Murina, E., Durr, O., Wegener, S., and Sick, B. (2020). Integrating uncertainty in deep neural networks for MRI based stroke analysis. *Med Image Anal* **65**, 101790. 10.1016/j.media.2020.101790.

Jadhav, A.P., Hacke, W., Dippel, D.W.J., Simonsen, C.Z., Costalat, V., Fiehler, J., Thomalla, G., Bendszus, M., Andersson, T., Mattle, H.P., *et al*. (2021). Select wisely: the ethical challenge of defining large core with perfusion in the early time window. *J Neurointerv Surg* **13**, 497-499. 10.1136/neurintsurg-2021-017386.

Mayrhofer, J.M., Haiss, F., Haenni, D., Weber, S., Zuend, M., Barrett, M.J., Ferrari, K.D., Maechler, P., Saab, A.S., Stobart, J.L., *et al*. (2015). Design and performance of an ultra-flexible two-photon microscope for in vivo research. *Biomed Opt Express* **6**, 4228-4237. 10.1364/BOE.6.004228.

Meinel, T.R., Kaesmacher, J., Mordasini, P., Mosimann, P.J., Jung, S., Arnold, M., Heldner, M.R., Michel, P., Hajdu, S.D., Ribo, M., *et al*. (2019). Outcome, efficacy and safety of endovascular thrombectomy in ischaemic stroke according to time to reperfusion: data from a multicentre registry. *Ther Adv Neurol Disord* **12**, 1756286419835708. 10.1177/1756286419835708.

Nie, X., Pu, Y., Zhang, Z., Liu, X., Duan, W., and Liu, L. (2018). Futile Recanalization after Endovascular Therapy in Acute Ischemic Stroke. *Biomed Res Int* **2018**, 5879548. 10.1155/2018/5879548.

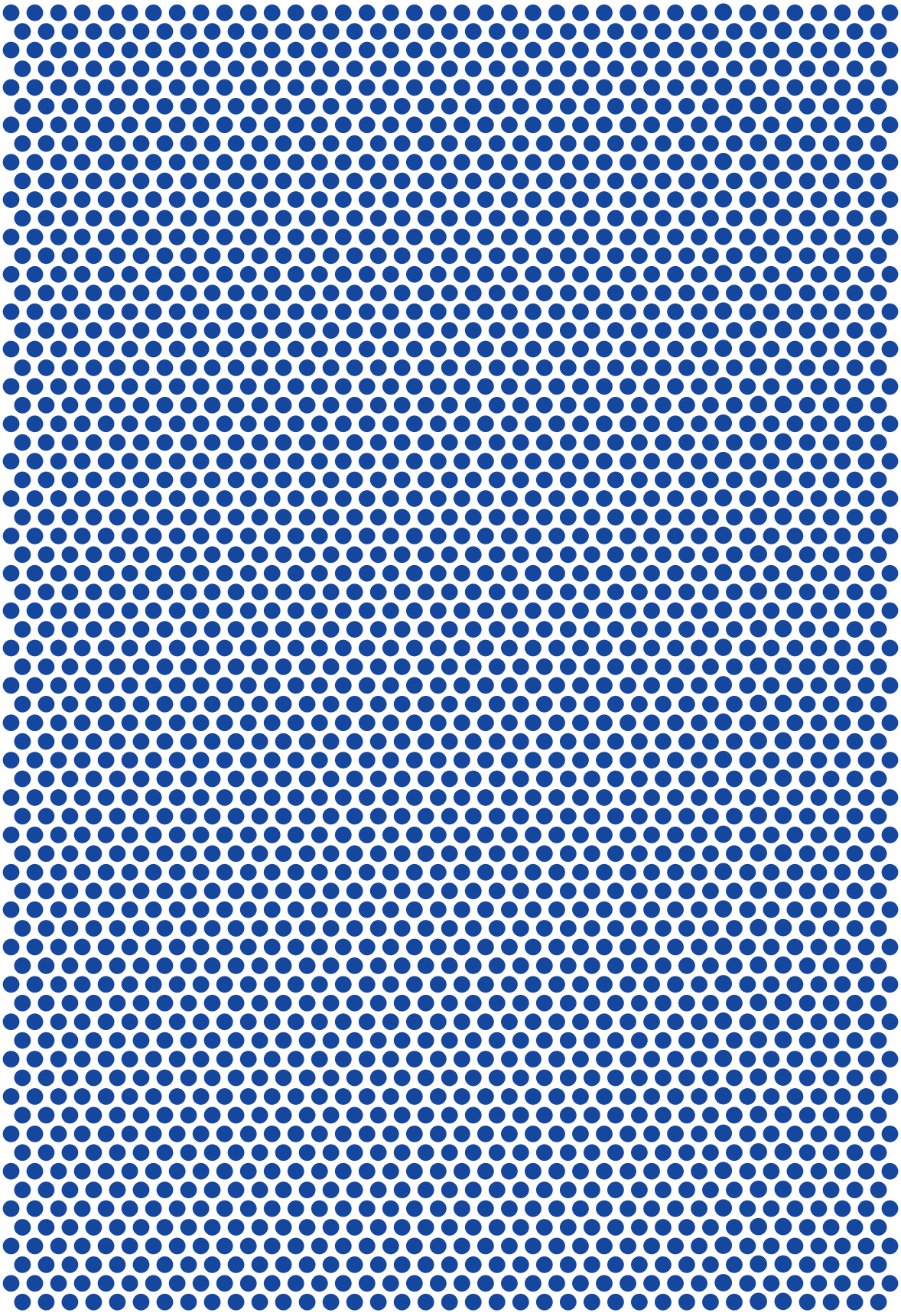
Orset, C., Haelewyn, B., Allan, S.M., Ansar, S., Campos, F., Cho, T.H., Durand, A., El Amki, M., Fatar, M., Garcia-Yebenes, I., *et al*. (2016). Efficacy of Alteplase in a Mouse Model of Acute Ischemic Stroke: A Retrospective Pooled Analysis. *Stroke* **47**, 1312-1318. 10.1161/STROKEAHA.116.012238.

Rossi, A., Mikail, N., Bengs, S., Haider, A., Treyer, V., Buechel, R.R., Wegener, S., Rauen, K., Tawakol, A., Bairey Merz, C.N., *et al*. (2022). Heart-brain interactions in cardiac and brain diseases: why sex matters. *Eur Heart J*. 10.1093/eurheartj/ehac061.

Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. (1995). *N Engl J Med* **333**, 1581-1587. 10.1056/NEJM199512143332401.

Virani, S.S., Alonso, A., Aparicio, H.J., Benjamin, E.J., Bittencourt, M.S., Callaway, C.W., Carson, A.P., Chamberlain, A.M., Cheng, S., Delling, F.N., *et al*. (2021). Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* **143**, e254-e743. 10.1161/CIR.0000000000000950.

von Bieberstein, L., van Niftrik, C.H.B., Sebok, M., El Amki, M., Piccirelli, M., Stippich, C., Regli, L., Luft, A.R., Fierstra, J., and Wegener, S. (2020). Crossed Cerebellar Diaschisis Indicates Hemodynamic Compromise in Ischemic Stroke Patients. *Transl Stroke Res*. 10.1007/s12975-020-00821-0.

Warach, S.J., Luby, M., Albers, G.W., Bammer, R., Bivard, A., Campbell, B.C., Derdeyn, C., Heit, J.J., Khatri, P., Lansberg, M.G., *et al*. (2016). Acute Stroke Imaging Research Roadmap III Imaging Selection and Outcomes in Acute Stroke Reperfusion Clinical Trials: Consensus Recommendations and Further Research Priorities. *Stroke*. 10.1161/STROKEAHA.115.012364.

Westphal, L.P., Widmer, R., Held, U., Steigmiller, K., Hametner, C., Ringleb, P., Curtze, S., Martinez-Majander, N., Tiainen, M., Nolte, C.H., *et al*. (2020). Association of prestroke metformin use, stroke severity, and thrombolysis outcome. *Neurology* **95**, e362-e373. 10.1212/WNL.0000000000009951.