

Sehtests im Fischkino

Welches sind die genetischen Faktoren für die Entwicklung des Auges bei Wirbeltieren? Am Beispiel des Zebrafisches gehen Wissenschaftler des Instituts für Hirnforschung der Universität Zürich dieser Frage nach. Ihre Forschungsergebnisse könnten künftig auch zu einer verbesserten Behandlung erbbedingter menschlicher Sehstörungen beitragen.

VON STEPHAN NEUHAUSS UND BEATRIX BENZ

Lautes Plätschern dringt aus dem ehemaligen Möbellager, welches vor zwei Jahren in einen Fischraum umgewandelt wurde. Ruhig und elegant schwimmen die Zebrafische (*Danio rerio*) in ihren Aquarien im Keller des Instituts für Hirnforschung der Universität Zürich. Der zierliche silberne Tropenfisch mit den aparten Streifen ist bei Aquarienliebhabern schon lange bekannt und beliebt. Doch erst in den frühen 70er-Jahren, als nach einem Modellorganismus aus dem Unterstamm der Wirbeltiere gesucht wurde, fand der Zebrafisch den Weg ins Labor. Dank seiner Widerstandsfähigkeit, Genügsamkeit und Fruchtbarkeit wurde er für manchen Entwicklungsbiologen und Genetiker zum beliebten Studienobjekt.

Der Fisch ist unter Laborbedingungen einfach zu züchten, er lässt sich problemlos genetisch kreuzen, und die zahlreichen Embryonen sind durchsichtig. Letzteres ist für die Beobachtungen der einzelnen Reifungs- und Wachstumsschritte von grossem Vorteil und erleichtert mikroskopische Untersuchungen. Faszinierend ist auch die aussergewöhnlich schnelle Embryonalentwicklung, die ausserhalb des Körpers des Weibchens abläuft. Bereits einen Tag nach erfolgter Befruchtung ist der typische Körperbau eines Wirbeltieres sichtbar – einschliesslich der Augenanlagen. Nach vier weiteren Tagen ist das Sehsystem ausgereift genug, um auf komplexe visuelle Reize reagieren zu können.

PD Dr. Stephan Neuhauss ist Oberassistent der ETH und arbeitet am Institut für Hirnforschung der Universität Zürich. Beatrix Benz ist Wissenschaftsjournalistin und hat zehn Jahre lang in der Hirnforschung gearbeitet.

Dank diesen Eigenschaften können sich die Forscher auf die Suche nach genetischen Faktoren begeben, die ein Wirbeltier zum Aufbau seines Körpers benötigt. «Vorwärtsgenetik» heisst dieser Ansatz, der auch mit grossem Erfolg bei Invertebraten wie der Taufliege (*Drosophila melanogaster*) und dem Fadenwurm (*Caenorhabditis elegans*) angewandt wird. Der konzeptionelle Ansatz ist dabei denkbar einfach: Durch eine zufällige Veränderung des Erbguts (Mutagenese) mit Hilfe von geeigneten Chemikalien oder Strahlung werden Mutanten erzeugt. Nachkommen dieser mutierten Tiere werden auf charakteristische Veränderungen untersucht.

Interessiert man sich beispielsweise für die Augenentwicklung, sucht man Stämme, die Veränderungen an diesem Organ zeigen. Erweist sich der Defekt nach eingehender Untersuchung als interessant, kann der Forscher beginnen, den verantwortlichen Gendefekt zu lokalisieren. Dazu wird der genetische Defekt zunächst einem Chromosom zugeordnet und im Folgenden auf eine möglichst kleine Chromosomenregion eingengt. Schliesslich wird das mutierte Gen, welches den sichtbaren Defekt auslöst, isoliert.

Auf solche Weise lässt sich die Funktion von Genen bestimmen. In diesem Beispiel ist das Gen offensichtlich für die Augenentwicklung notwendig, da ja eine Beeinträchtigung seiner Funktion zu einem Augendefekt geführt hat. Eine detaillierte Untersuchung des Defekts kann dann weitergehende Informationen über die spezielle Beteiligung des Gens bei der Augenentwicklung bringen. Eine Reihe solcher Studien führt schliesslich zu einer Art Bauleitung für eine biologische Struktur, beispielsweise indem man alle Gene, die für deren Aufbau notwendig sind, identifiziert.

Erbkrankheiten im Blick

Ein solcher genetischer Ansatz ist nun dank den günstigen Eigenschaften des Zebrafisches auch bei Wirbeltieren möglich. Die Wissenschaft erhofft sich von diesen Studien Rückschlüsse auf die genetischen Faktoren, welche die Entwicklung des Menschen steuern. Von besonderem medizinischem Interesse sind dabei vererbte Störungen,



die beim Menschen zu Erbkrankheiten führen. Das Auge des Zebrafisches ist für solche Studien aussergewöhnlich gut geeignet, da es bereits in frühen Entwicklungsstadien grosse strukturelle und funktionelle Ähnlichkeit mit anderen Wirbeltieraugen aufweist. Erkenntnisse über die Zebrafisch-Netzhaut (Retina) lassen sich daher leicht auf das menschliche Auge übertragen. Larven, die erst vor fünf Tagen befruchtet wurden, reagieren bereits auf komplexe Lichtreize. Doch wie findet man Larven, die schlecht oder gar nicht sehen? Der Ansatz ist, ein Verhalten zu finden, das möglichst leicht anzuregen ist und nur bei sehenden Tieren beobachtet werden kann.

Solch ein Verhalten ist der optokinetische Nystagmus (OKN), ein Reflex den auch Menschen ausgeprägt zeigen, beispielsweise beim Zufahren. Dieser kann leicht im Eigenversuch beobachtet werden: Schauen Sie aus einem fahrenden Zug auf die vorbeiziehende Landschaft und achten Sie dabei auf Ihre oder auf die Augen Ihres Gegenübers. Sie werden eine interessante Entdeckung machen. Die Augen bewegen

sich sehr schnell und die Bewegung lässt sich in zwei Komponenten teilen: eine langsame Nachfolgebewegung gefolgt von einer raschen Rückstellbewegung. Das macht Sinn, da diese Augenbewegungen das Abbild der Umgebung auf der Netzhaut möglichst stabil halten sollen.

Die Augenbewegung zielt also darauf ab, die Bewegung des beobachteten Objekts zu kompensieren. Dieser Reflex kann auch in Zebrafischlarven ausgelöst werden. Die Larve wird dazu in eine kleine Plastikschaale gebettet. Diese ist mit einer viskosen Flüssigkeit gefüllt, so dass sie nur die Augen, nicht aber den Körper bewegen kann. Die Schale wird in eine Streifentrommel gestellt, die sich um das Tier dreht. Eine Larve mit normal entwickeltem Sehsystem bewegt nun, ganz ähnlich dem Zufahrenden, ihre Augen in Drehrichtung der Trommel, gefolgt von einer raschen Rückstellbewegung. Larven, die spontane Augenbewegungen zeigen können, aber nicht auf bewegte Reize reagieren, haben möglicherweise eine genetische Störung im Sehsystem. Die nächste Herausforderung für den Forscher besteht

Das Auge des Zebrafisches weist bereits in frühen Entwicklungsstadien grosse strukturelle und funktionelle Ähnlichkeit mit anderen Wirbeltieraugen auf. Erkenntnisse über die Zebrafisch-Netzhaut (Retina) lassen sich daher leicht auf das menschliche Auge übertragen.

nun darin, die Ursache für die Erblindung zu finden.

Zur Lokalisierung des Sehdefekts stehen den Wissenschaftlern verschiedene Methoden zur Verfügung, welche auch in Augenkliniken angewendet werden. So kann die

Fischkino: Mit einem Videobeamer werden Bilder (beispielsweise Streifenmuster) auf eine Leinwand projiziert, die von den Fischlarven betrachtet werden. Das Verfahren gibt Aufschlüsse über bereits geringfügige Veränderungen in der Sehfähigkeit der Tiere.



Bilder: zgg

Funktion der äusseren Netzhaut direkt geprüft werden, indem man winzige Ströme ableitet, die bei der Aufnahme des Lichtreizes entstehen. Diese Technik, Elektroretinographie genannt, wird in ähnlicher Weise auch beim Menschen eingesetzt, und die resultierenden Ableitungen lassen sich beinahe direkt miteinander vergleichen. Lässt sich bei einem blinden Lebewesen, ob Mensch oder Fisch, keine oder lediglich eine geringe Aktivierung der Retina durch Licht feststellen, so deutet dies auf einen Defekt in den lichtabsorbierenden Zellen (Photorezeptoren) der Netzhaut hin.

Sehtest für Fische

Der optokinetische Nystagmus kann auch zur genaueren Analyse der Sehfähigkeit benutzt werden, also um Fischstämme zu finden, die nicht komplett blind sind, sondern lediglich eine Einschränkung der Sehfähigkeit haben. Dazu wird, anstatt einer bewegten Trommel, ein «Fischkino» benutzt. Die Larve betrachtet eine Leinwand,

auf welche mit einem Videobeamer bewegte Muster projiziert werden. Diese Muster können beliebig in Farbe, Helligkeit und Kontrast variiert werden. Die resultierenden Augenbewegungen der Larve werden von einer Videokamera aufgenommen und im Computer automatisch ausgewertet.

Mit dem «Fischkino» können bei Fischlarven schon geringfügige Veränderungen in der Sehfähigkeit, etwa in der Sehschärfe oder in der Kontrastwahrnehmung, gemessen werden. Die ersten Fischstämme mit einer moderaten Beeinträchtigung der Kontrastsensitivität konnten schon entdeckt werden. Die Erforschung solcher Stämme wird zu einem besseren Verständnis der Sehreizverarbeitung beitragen.

Modell für menschliche Augenleiden

Die Mehrzahl der im Sehverhalten gestörten Zebrafisch-Mutanten zeigen bei der Elektroretinographie keine Aktivierbarkeit der Photorezeptoren, und auf histologischen Schnitten können keine oder lediglich absterbende Zellen identifiziert werden. Die Degeneration der Photorezeptoren, auch äussere Netzhautdegeneration genannt, ist bei Fischen die häufigste vererbte Störung, die zur Erblindung führt.

Auch beim Menschen sind Netzhautdegenerationen die häufigste Ursache für erbliche Erblindung, beispielsweise bei der Retinitis pigmentosa oder der makularen Netzhautdegeneration. Typisch für diese Krankheiten ist, dass die Schädigung der Retina fortschreitend ist. Das Sehsystem ist zunächst intakt, wird dann aber durch das Absterben von Photorezeptoren zunehmend geschädigt. Sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell sterben die Zellen apoptotisch, also in einer geregelten Abfolge biochemischer Schritte, während die restliche (innere) Netzhaut zunächst nicht in Mitleidenschaft gezogen wird. Diese Parallelen zwischen dem Zebrafisch-Modell und den Sehstörungen beim Menschen lassen die Forscher hoffen, dass Erkenntnisse über das Krankheitsgeschehen, die beim Fisch gewonnen werden, letztlich Einzug in die Klinik halten werden.

