

Vom Nachtschwärmer zur Lerche

Die innere Uhr verändert sich mit dem Alter

Prof. Dr. Anne Eckert, Neurobiologisches Labor für Brain Aging and Mental Health,
Universitäre Psychiatrische Kliniken Basel

Prof. Dr. Steven A. Brown, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Zürich



Die meisten Menschen kommen aufgrund ihrer Biochronologie entweder als Lerche (Frühaufsteher) oder Eule (Morgenmuffel) zur Welt und in der Pubertät entwickeln sie sich zum Nachtschwärmer. Mit dem 20. Lebensjahr tritt dann eine Wende ein und der Schlaf- und Wachrhythmus verschiebt sich kontinuierlich Richtung früher, bis wir im Alter an frühmorgendlicher seniler Bettflucht leiden. Verantwortlich für diese Veränderungen der inneren Uhr sind zirkulierende Faktoren im Blut.

Die innere Uhr

Biologische Uhren kontrollieren eine Vielzahl tagesrhythmischer Prozesse bei Säugern wie z.B. Schlaf, Körpertemperatur, Blutdruck, Hormonausschüttung und Verdauung. Die zirkadiane Aktivitätsrhythmik wird von einer im Gehirn liegenden zentralen Uhr (zirkadianen Schrittmachern im Nucleus suprachiasmaticus „SCN“) gesteuert (Abb. 1) Bei den SCN handelt es sich um Anhäufungen von ungefähr 10000 Neuronen im Hypothalamus über dem Chiasma opticum beidseits des dritten Ventrikels. Die zentrale Uhr selbst wird durch das Licht, das durch die Augen einfällt, synchronisiert. Das Licht beeinflusst dabei die Aktivität der SCN über den spezialisierten retino-hypothalamischen Trakt, der eine direkte neuronale Verbindung von den retinalen Fotorezeptoren zu den SCN herstellt. Dabei kommuniziert es mit anderen Uhren, den so genannten „Sklaven-Uhren“, die in den meisten Zellen unseres Körpers vorkommen (z.B. Herz, Niere, Gastrointestinaltrakt, Haut; Abb. 2).

All diese Zellen exprimieren die für die zirkadiane Rhythmik wichtigen Uhren-Gene („clock genes“; z.B. Period, Clock). Die Uhren-Gene und die von ihnen codierten Proteine wirken in einer komplexen negativen Rückkopplungsschleife zusammen und generieren zelluläre molekulare Rhythmen. Es handelt sich um synchronisierte Biorhythmen der Aktivität verschiedener Gewebe (z.B. motorische Aktivität, Körpertemperatur), die zueinander in Einklang funktionieren – in Analogie zum Orchester, wo „harmonische Musikrhythmen“ durch die verschiedenen Instrumente erzeugt werden (Abb. 2).

Chronotypen

Ein zirkadianer Rhythmus (allgemein sprachlich auch „innerer“ Rhythmus oder „innere Uhr“ genannt) besitzt eine Periodenlänge von zirka 24 Stunden (Abb. 3). Die Periodenlänge der inneren Uhr hängt von der genetischen Ausstattung ab und es ist möglich, Organismen zu züchten, die aufgrund unterschiedlicher

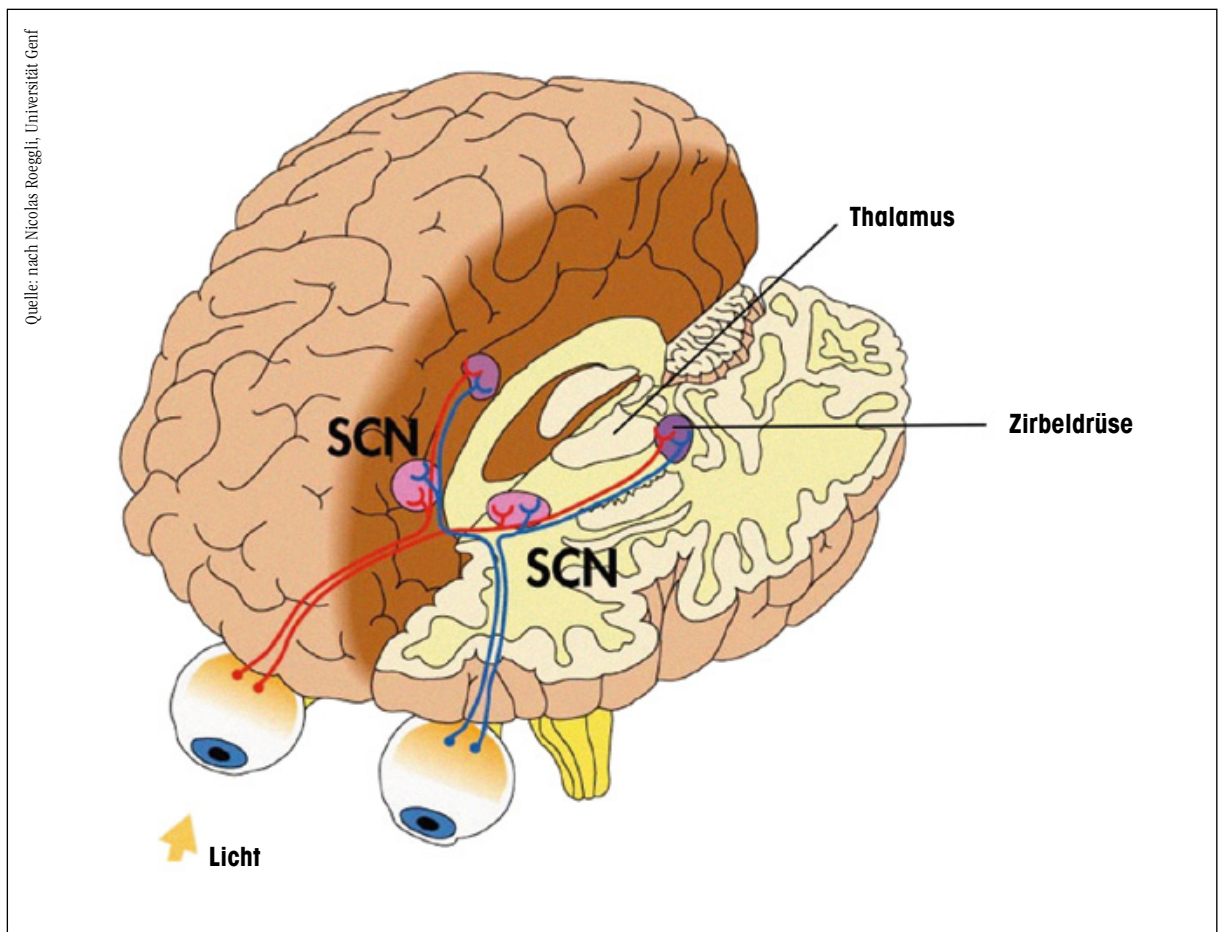


Abb. 1 Die suprachiasmatischen Kerne (SCN)

Die wichtigsten Komponenten des zirkadianen Systems des Menschen sind die Netzhaut (Retina), der retino-hypothalamische Trakt, die Zirbeldrüse (Corpus pineale, Ausschüttung von Melatonin) und die suprachiasmatischen Kerne (SCN). Die endogene Uhr wird durch eine Synchronisierung reguliert, die stark vom Lichteinfall auf die Retina abhängig ist.

Mutationen in Uhren-Genen eine interne Uhr mit längerer oder kürzerer Periodenlänge haben.

In der Bevölkerung können zwei Hauptkategorien von Chronotypen unterschieden werden: Lerche („early chronotype“) oder Eule („late chronotype“) – manche Menschen sind frühmorgens erschreckend munter, andere blühen viel später auf (Abb. 3).

Interessanterweise verändert sich der Chronotypus mit dem Alter, was bei Teenagern besonders auffällt.

In der Pubertät werden Menschen zu wahren Nachteulen. Etwa im 20. Lebensjahr kommt der Wendepunkt. Die innere Uhr verschiebt sich dann nach und nach auf früher – bis hin zur so genannten „senilen Bettflucht“ (Abb. 4A).

Senile Bettflucht

Warum tritt dieses Phänomen im Alter auf und was sind die Ursachen? Dieser Fragestellung ging unser Team nach. Aufgrund der Tatsache, dass eine zirkadiane Uhr in den meisten unserer Zellen existiert, also auch in

peripheren Zellen, wurde eine neue Untersuchungsmethode genutzt, die Gewinnung und Kultivierung peripherer Zellen einzelner Versuchspersonen, um die molekularen genetischen Eigenschaften der individuellen Uhren bestimmen zu können.

Im Rahmen der Studie wurde 18 jungen (21–30 Jahre) und 18 älteren Versuchspersonen (60–88 Jahre) eine winzige Hautbiopsie entnommen (extreme Chronotypen wurden in beiden Gruppen von der Studienteilnahme ausgeschlossen). Die gewonnenen humanen Primärkultursysteme (Hautfibroblasten) wurden mit einem Gen der Feuerfliege so modifiziert, dass sie Licht (Biolumineszenz) emittieren. Da die Expression des Feuerfliegen-Gens von einem Uhren-Gen (Bmal-1) kontrolliert wird, kann somit dessen zirkadiane Aktivität visualisiert werden. Die individuellen rhythmischen Expressionsmuster der Fibroblastenkulturen von jungen und älteren Spendern wurden über 5 Tage erfasst (Abb. 6). Somit war es möglich, individuelle zirkadiane Perioden am Menschen *ex vivo/in vitro* zu analysieren. Wir fanden heraus,

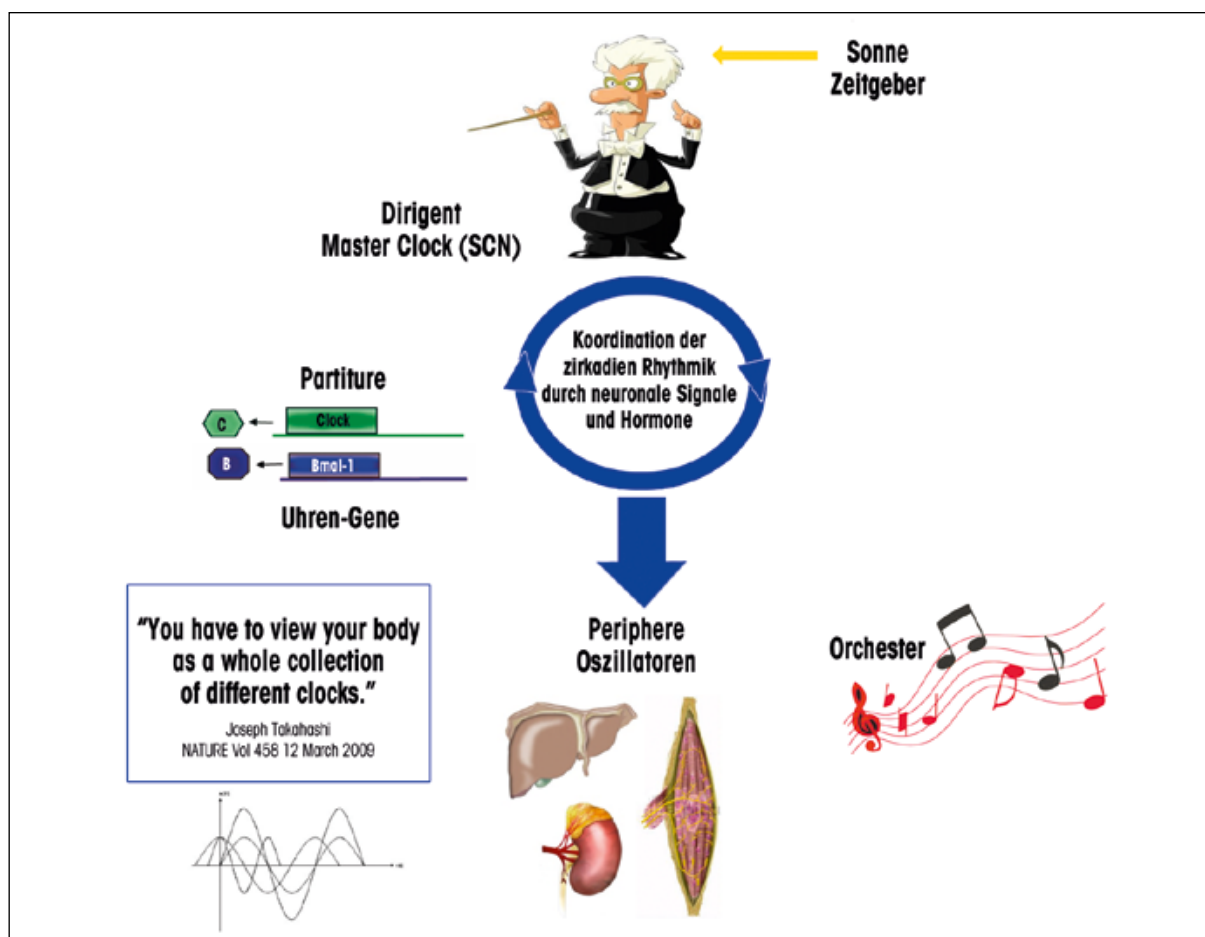


Abb. 2 Regulierung der zirkadianen Rhythmik

Das Licht (Hell-Dunkel-Zyklus) ist der dominante Synchronisator für zirkadiane Rhythmik, obwohl auch regelmäßige soziale Ereignisse und körperliche Aktivitäten wichtige externe Zeitgeber darstellen. Der zentrale Schrittmacher, vergleichbar mit einem „Dirigenten“ („Master clock“), liegt in den SCN. Er synchronisiert die peripheren Oszillatoren („Skaven-Uhren“) in jedem Organ und jeder Zelle wie ein Dirigent sein Orchester mithilfe der Partitur. Zu diesem System gehören verschiedene Uhren-Gene bzw. -Proteine (z.B. das CLOCK- und das BMAL1-Protein).

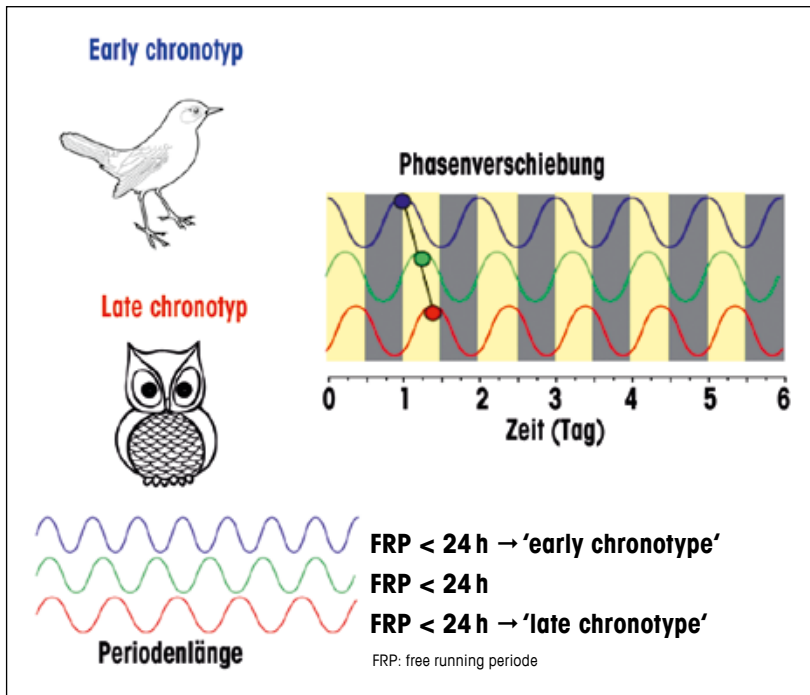


Abb. 3 Verschiebung der Phase

Vorverlegung der Phase bei der Lerche („early chronotype“: von grün zu blau) und Nachverlegung der Phase bei der Eule („late chronotype“: von grün zu rot). Verkürzung bzw. Verlängerung der Periodenlänge, deren Zyklus beim Fehlen externer Impulse etwa 24 Stunden dauert („free running period“). Kopplung von Periode und Phase: Individuen mit längerer Periodenlänge zeigen normalerweise eine spätere Phase als Personen mit kürzerer Periodenlänge.

dass im Gegensatz zu den gut dokumentierten altersabhängigen Änderungen im Schlafverhalten (Abb. 4B) die zirkadiane Periodenlänge in Fibroblasten von jungen und älteren Spendern *in vitro* nicht verändert war (Abb. 4C). Interessanterweise änderte sich dieses Verhalten jedoch, wenn die gleichen Zellen – egal, ob „jung“ oder „alt“ – mit humanem Serum, das von älteren Personen stammte (Blutentnahme um 14 Uhr) und nicht mit Standardserum (FSC, fetales Kälberserum) behandelt wurden (Abb. 4D). In Analogie zu den In-vivo-Daten reagierten die Zellen sowohl mit einer Verkürzung ihrer Periodenlänge als auch einer Vorverlegung der Phase („advanced phase“). Diese Veränderungen traten jedoch nicht auf, wenn Serum von jungen Kontrollpersonen verwendet wurde. In weiteren Experimenten wurde das humane Serum der älteren Spender hitzeinaktiviert. Daraufhin konnte die Verkürzung der Periodenlänge wie auch die Vorverlegung der Phase nicht mehr *in vitro* detektiert werden. Dies legt die Vermutung nahe, dass ein thermolabiler Faktor bzw. Faktoren, die im Blut älterer Personen zirkulieren, für die beschriebenen Effekte verantwortlich sind. Spekulativ könnten dies hormonelle Veränderungen sein, die die zelluläre Uhr im Alter beeinflussen.

Ausblick

Verschiedene Theorien wurden bisher in der Literatur postuliert, um das Phänomen der senilen Bettflucht erklären zu können: 1. Eine Fragmentierung des Schlaf-Wach-Zyklus, die mit vermehrter Tagesmüdigkeit und Nickerchen (Naps) sowie reduziertem Nachtschlaf einhergeht, führt zu einer Vorverlegung der Aktivitätsphase. 2. Veränderungen der Physiologie des Auges – z.B. eine Linsentrübung, Gelbfärbung, Katarakt bzw. eine verringerte Lichtsensitivität – können zur zirkadianen Dysfunktion im Alter beitragen. Mit dieser Studie wird ein neuer zusätzlicher zellulärer Mechanismus postuliert: Zirkulierende Faktoren, wahrscheinlich Hormone, beeinflussen non-SCN-Regionen des Gehirns und periphere Oszillatoren, aber nicht die SCN direkt (Abb. 5). Insgesamt liegen überzeugende Beweise für alle drei Modelle vor, die zusammen zu der Modulation des Chronotypus im Alter beitragen können. Letzteres Modell bietet jedoch die Perspektive, dass möglicherweise durch eine pharmakologische Intervention die dramatischen Veränderungen im Schlafverhalten verbessert werden können.

■ anne.eckert@upkbs.ch

■ steven.brown@pharma.uzh.ch

Literatur
Pagani L, Schmitt K, Meier F, Izakovic J, Roemer K, Viola A, Cajochen C, Wirz-Justice A, Brown SA, Eckert A. Serum factors in older individuals change cellular clock properties. PNAS 2011 108 (17) 7218–7223

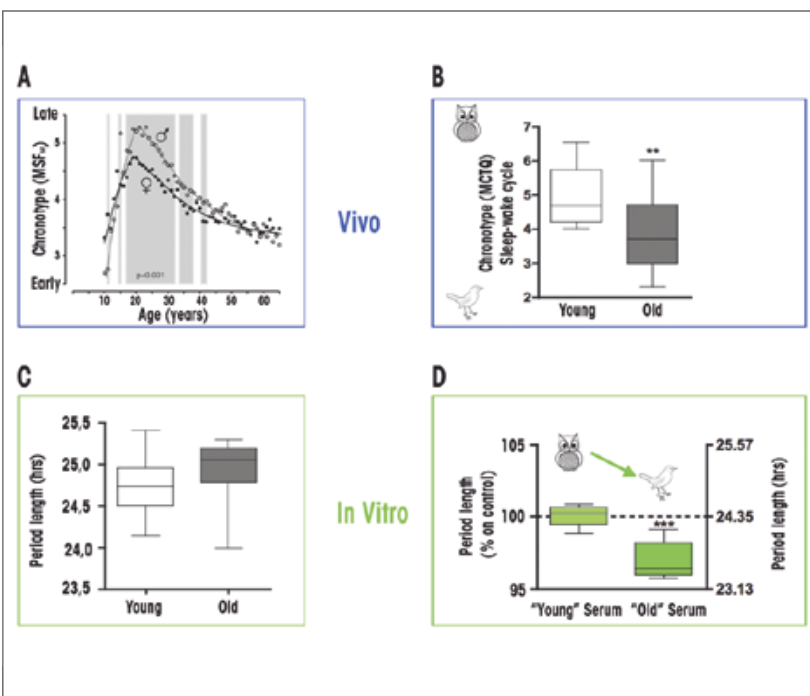


Abb. 4 A) Veränderung des Chronotypus mit dem Alter: Vom pubertären Nachtschwärmer (Eule) zum senilen Bettflüchter (Lerche) (nach Roenneberg *et al.* Current Biology, 2004). **B)** Ältere Studienteilnehmer weisen einen signifikant früheren Chronotypus als junge Studienteilnehmer auf. **C)** Zirkadiane Periodenlänge in Fibroblasten von jungen und älteren Spendern war *in vitro* per se nicht verändert (Standardbedingungen, Fetal Calf Serum). **D)** Die Zellen reagierten mit einer Verkürzung ihrer Periodenlänge, wenn mit humanem Serum, das von älteren Personen stammte, behandelt wurde.

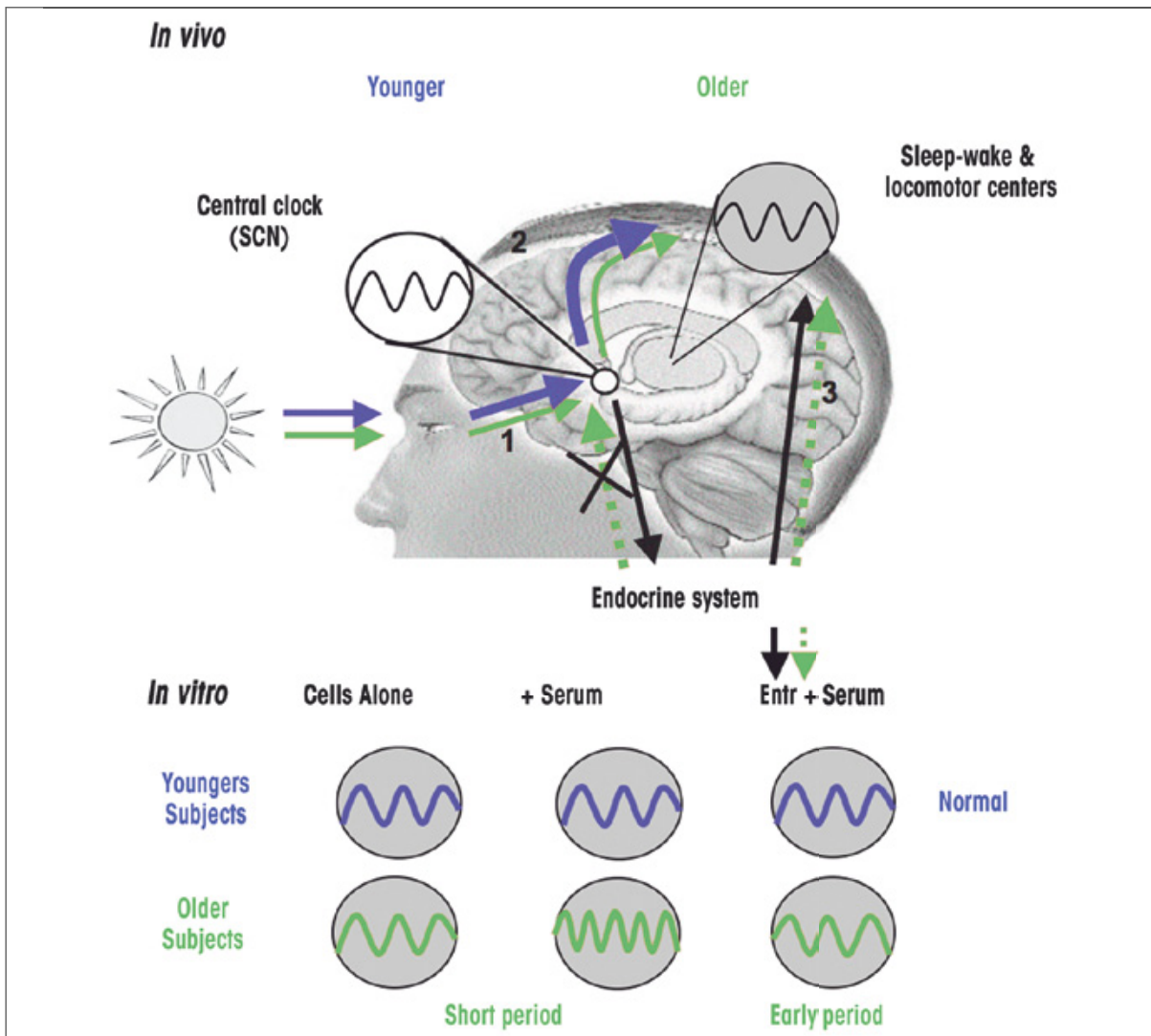


Abb. 5 Modell der Mechanismen, die zur senilen Bettflucht im Alter beitragen können (nach Pagani *et al.*, PNAS 2011). **Blau:** junge Personen; **Grün:** ältere Personen. **(1)** Erniedrigte Lichtspiegel verringern den Zeitgebereffekt des Lichts auf die SCN. **(2)** Ein schwaches zirkadianes Signal der SCN resultiert in fragmentierten Schlaf-Wach-Zyklen. **(3)** Altersbezogene Veränderungen im Hormonhaushalt können zelluläre Uhreigenschaften verändern und bewirken einen Shift zu früheren Phasen in Schlaf-Wach-Zentren, aber nicht direkt in den SCN.

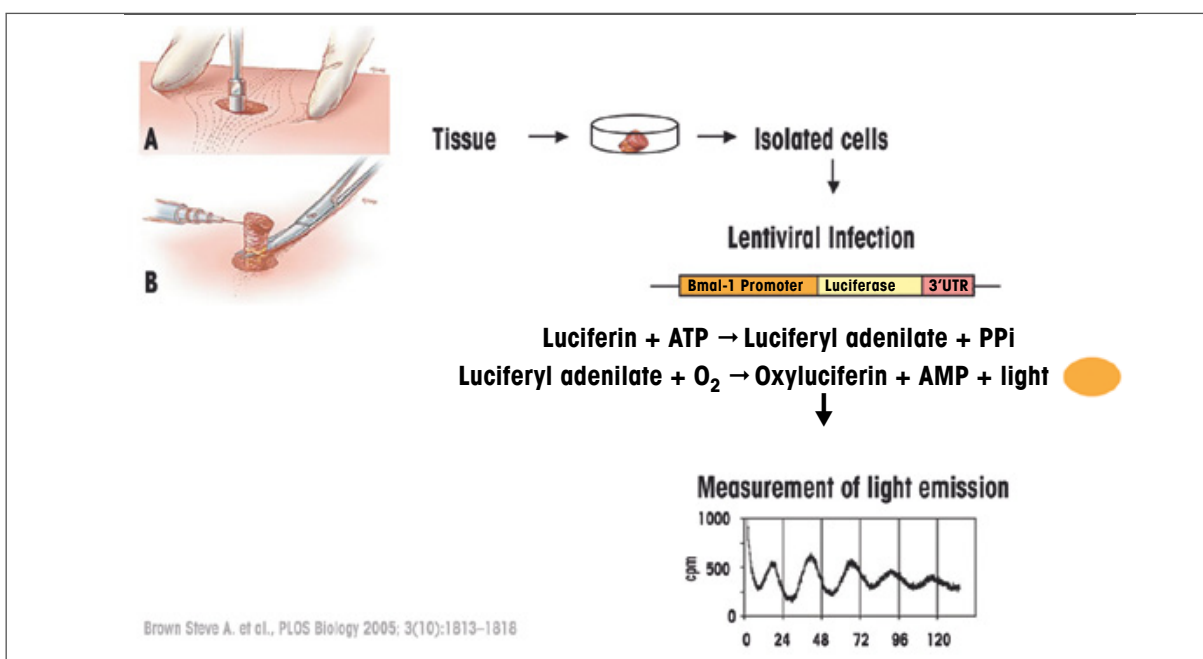
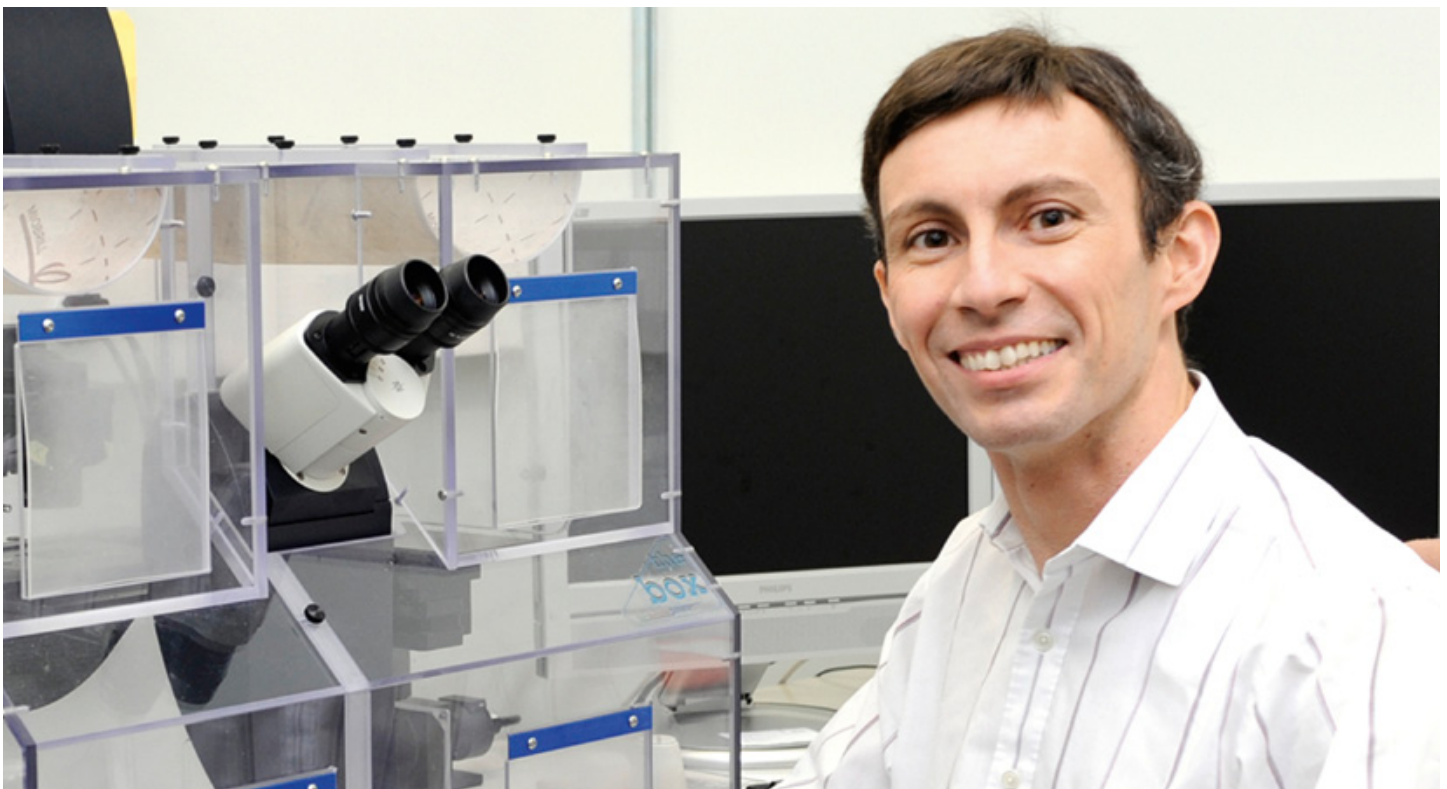


Abb. 6 Darstellung zur Gewinnung der Hautfibroblastenkulturen aus winzigen Hautbiopsien. Die isolierten Zellen wurden anschliessend mit einem lentiviralen Vektorsystem infiziert. Das Gen der Feuerfliege (Luciferase) steht unter der Kontrolle des Uhrengens Bmal-1. Unter Zugabe von Luciferin zum Kulturmedium wird zelluläre Energie in Form von ATP in Licht (Biolumineszenz) umgewandelt. Die Lichtemission und somit die zirkadiane Aktivität des Uhrengens wird über mehrere Tage erfasst.



Anne Eckert studierte Pharmazie an der Philipps Universität Marburg. Anschließend promovierte sie am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Mannheim, Universität Heidelberg. 1995 – 1996 war sie als Postdoc (Boehringer Ingelheim Fellowship) an der UCI (University of California at Irvine), Brain Aging Institut, tätig. Von 1997–2000 war sie Hochschulassistentin und von 2001–2004 Hochschuldozentin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main am Pharmakologischen Institut für Naturwissenschaftler. Seit 2004 leitet sie das Neurobiologische Labor für Brain Aging and Mental Health an den Universitären Psychiatrischen Kliniken Basel, wo sie mit ihren Arbeiten zur zirkadianen Rhythmik im Alter begann. Seit 2007 ist sie Professorin für Experimentelle Psychiatrie der Medizinischen Fakultät der Universität Basel.



Steven B. Brown studierte Biochemie am Harvard College, Cambridge, Massachusetts, USA. 1997 promovierte er im Fachgebiet Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, USA. Von 1998-2005 war er als Postdoc am Institut für Molekulare Biologie an der Universität Genf im Labor von Prof. Ueli Schibler tätig und begann mit seinen Arbeiten zur zirkadianen Rhythmik (*Research Project: The identification of proteins and signaling mechanisms involved in the regulation of mammalian circadian rhythms*). 2006 forschte er als Humboldt-Fellow an der Charité in Berlin (Prof. Achim Kramer) zum Thema „Molecular mechanisms regulating chronotype“. Seit September 2006 ist er Professor für Pharmakologie und Toxikologie an der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich.



Die Hochgeschwindigkeitslösung für Mikropipettenkalibrierung

Der XP26PC erlaubt es, Pipetten mit kleinen Volumina bis zu 1 µl bis zu 3x schneller zu kalibrieren als mit herkömmlichen Waagen.

**Ultimative Zuverlässigkeit, ergonomische Handhabung,
kontinuierliches Pipettieren**



www.mt.com/pipcal

METTLER TOLEDO