

ZUSAMMENFASSUNG

Lokale extrazelluläre Signale sind kritische Faktoren der neuronalen Konnektivität, da sie die Neuritenentwicklung, die wechselseitige Erkennung der prä- und postsynaptischen Partner und/oder die Stabilisierung der synaptischen Kontakte kontrollieren. Das Ziel dieser Studie war, die Rolle von *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) und von *plasticity-related gene-1* (PRG-1) in der Regulation von Dendritenwachstum und Synaptogenese zu klären, und zwar in kultivierten Neuronen aus Hippokampus und entorhinalem Kortex. Über Einflüsse von BDNF auf Neuritenwachstum und synaptische Transmission finden sich bereits Hinweise in der Literatur. Die früheren Studien basieren jedoch auf Experimenten mit exogenem BDNF, BDNF-neutralisierenden Antikörpern, BDNF-Geninaktivierung oder BDNF-Überexpression in Wildtyp-Neuronen, also Konditionen, die allesamt den Einfluß von Konzentrationsgradienten des diffundiblen BDNF-Moleküls vernachlässigen. Die Bedeutung von PRG-1 für Dendritenwachstum und Synapsenbildung/-stabilisierung wurde noch nicht untersucht.

Um die lokalen Effekte von BDNF darzustellen, sollte im Rahmen dieser Arbeit ein Testmodell entwickelt werden, das erlaubt, BDNF-defizienten Neuronen eine limitierte zelluläre Quelle von BDNF anzubieten. Einzelne Neurone in *low density* Primärkulturen des Hippokampus der E18 *bdnf*^{-/-}-Maus sollten mit einem BDNF::EGFP-Plasmid transfiziert werden. Nach einer kurzen Expressionszeit sollten die interessierenden Marker immunzytochemisch dargestellt werden. Anhand einer hochauflösenden digitalen Darstellung der Fluoreszenz sollte die Dichte der Neuronen, die Struktur der Dendriten sowie die Zahl und Verteilung der Synapsen quantifiziert werden. Hinzu kamen Untersuchungen mit quantitativer PCR und Experimente mit siRNA-Transfektion.

Das neue Versuchsmodell wurde erfolgreich etabliert. An mehr als 1000 transfizierten Neuronen wurden spezielle Tests zur Wirkung von BDNF und PRG-1 auf die Dendritenmorphologie und Synapsenbildung durchgeführt. Wir präsentieren Evidenzen für die folgenden neuen Erkenntnisse: 1) Im Vergleich mit BDNF-defizienten Neuronen zeigen BDNF-exprimierende Neurone Veränderungen in der Dendritenmorphologie. Unter dem

Einfluß von BDNF wird das dendritische Längenwachstum reduziert und das Auswachsen von primären Dendriten und Dendritenzweigen höherer Ordnung angeregt. 2) BDNF-exprimierende Neurone werden von mehr präsynaptischen Terminalien kontaktiert als BDNF-defiziente Neurone. 3) Eine zelluläre BDNF-Quelle produziert stärkere Veränderungen von Dendritenwachstum und Synapsenzahlen als diffus verteiltes exogenes BDNF in hohen Konzentrationen (100 ng/ml). 4) Glutamaterge und GABAerge synaptische Terminalien reagieren verschieden auf das postsynaptische BDNF. Während die Stärke des glutamatergen Eingangs ansteigt, nimmt die Stärke des GABAergen Eingangs ab. 5) Die durch das postsynaptische BDNF induzierte Aufregulierung der Zahl der glutamatergen Kontakte erfordert TrkB-Aktivität. 6) Die durch transfiziertes BDNF induzierte Suppression des dendritischen Längenwachstums und die Abregulierung der Zahl der GABAergen synaptischen Terminalien wird ebenfalls durch TrkB-Blockade verhindert. 7) Blockade des niederaffinen gemeinsamen Neurotrophinrezeptors p75 hat keine Auswirkungen auf die Dendritenlänge und die Synapsenzahlen, reduziert aber die BDNF-induzierte Verzweigung der hippocampalen Dendriten. 8) Eine Inhibierung der PRG-1-Expression mit der entsprechenden siRNA führt zu einer Reduktion in der Zahl der synaptischen Terminalien, während PRG-1-Überexpression einen LPA-induzierten selektiven Verlust von glutamatergen Synapsen verhindert.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse diskutieren wir die folgenden Hypothesen: i) Die postsynaptische Expression und Freisetzung von BDNF und dessen Bindung an TrkB resultiert in einer starken selektiven Potenzierung der glutamatergen Synaptogenese und, entsprechend, der Glutamatfreisetzung. Dabei leistet p75 keinen nennenswerten Beitrag. ii) Die Arretierung des dendritischen Längenwachstums und die Abregulierung der GABAergen Synapsen sind Folgen der BDNF-induzierten synaptischen Glutamatfreisetzung und nicht die Konsequenz einer direkten suppressiven Wirkung von BDNF auf präsynaptische TrkB-Rezeptoren der GABAergen Synapsen. iii) Die Dendritenneubildung wird dagegen durch p75 kontrolliert und spiegelt die Konzentration des extrazellulären BDNF in der Umgebung der transfizierten Zelle wider. In der Induktion von Dendritenzweigen spielt TrkB eine untergeordnete Rolle. iv) PRG-1 erfüllt die Rolle eines membrangebundenen synapsenstabilisierenden Faktors, mit präferenzialer Wirkung auf exzitatorische Synapsen.