

## **2. Ziele und Fragestellung der vorliegenden Untersuchung**

### **2.1 Konzentrationen von NGF und NT-3 in den Gehirnen transgener Mäuse**

In der hier vorliegenden Untersuchung wurden in einem transgenen Tiermodell der AD die Konzentrationen der Neurotrophine NGF und NT-3 in unterschiedlichen Altersstufen bestimmt.

Die Neurotrophine sind wichtige Bestandteile für die neuronale Entwicklung und den neuronalen Funktionserhalt, NGF scheint dabei (neben BDNF) eine zentrale Rolle als überlebens- und funktionsstützender Faktor für die cholinergen Neurone des basalen Vorderhirns zu spielen (Connor und Dragunow 1998; Hellweg et al. 1998b; Siegel und Chauhan 2000).

Da gerade das cholinerge System im Rahmen einer Alzheimer-Erkrankung von Funktionsverlust betroffen ist und hier auch Konzentrationsveränderungen der Neurotrophine auftreten, wurden diese hier im zeitlichen Verlauf bestimmt.

Unter anderem sollte hier der Hypothese nachgegangen werden, ob für den Funktionsverlust der Neurone des basalen Vorderhirns ein zumindest temporärer Neurotrophinmangel ursächlich sein könnte. Diese Frage kam auf, als man in einer Studie feststellte, dass im Cortex nicht-dementer Patienten mit Plaque-Bildung eine niedrigere NGF-Konzentration gefunden wurde als bei Patienten ohne Plaque-Bildung. Unter der Annahme, dass diese Plaques präklinische Fälle einer AD darstellen, könnte ein NGF-Mangel an der Entstehung einer AD beteiligt sein (so genannte Neurotrophin-Mangel-Hypothese) (Hellweg et al. 1998a; Hellweg et al. 1998b). Wie bei Läsionen des peripheren Nervensystems kommt es aber später zu einem endogenen NGF-Anstieg als möglichem Versuch, das in diesem Fall NGF-sensitive cholinerge System des basalen Vorderhirns zu schützen (Hellweg et al. 1998b), so zeigten die bisherigen post-mortem Untersuchungen an AD erkrankter Patienten meist erhöhte cerebrale NGF-Konzentrationen (Crutcher et al. 1993; Scott et al. 1995; Fahnstock et al. 1996; Narisawa-Saito et al. 1996).

Da Studien zum zeitlichen Verlauf der Neurotrophinkonzentrationen beim Menschen aus ethischen und praktischen Gründen nicht möglich sind, wurde in dieser Studie auf ein

tierisches Modell der AD zurückgegriffen. Dabei kamen Mäuse zum Einsatz, die APP23 überexprimieren und außerdem die bei familiärer AD gefundenen Mutationen im APP-Gen aufweisen (Duff 1997; Holcomb et al. 1998; Bornemann und Staufenbiel 2000; Sommer et al. 2000). Diese transgenen Tiere, die tatsächlich Lerndefizite und Verhaltensauffälligkeiten sowie einige neurochemische und morphologische Veränderungen im fortschreitenden Alterungsprozeß aufzeigen (Duff 1997; Holcomb et al. 1998) konnten nun longitudinal zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht werden, da sie lebenslang eine pathologische APP-Überexpression aufzeigen und damit den im Rahmen der „Amyloid-Kaskaden-Hypothese“ vermuteten jahrzehntelangen präklinischen Verlauf der AD modellhaft widerspiegeln (Price und Morris 1999).

Wir bestimmten nun die altersabhängige Expressionen von NGF und NT-3 in verschiedenen Arealen des zentralen Nervensystems der APP23-Mäuse und Wildtypen, die APP nicht überexprimieren, als Kontrolle. Nachdem ein passagerer Mangel von NGF während des initialen Krankheitsstadiums der AD eine plausible These zu sein schien (Hellweg et al. 1998a), wollten wir die pathogenetische Rolle der Neurotrophine während der modellhaften Entwicklung einer AD untersuchen.

Durch mögliche NGF- und NT-3-Veränderungen im Sinne eines Defizits könnten sich hieraus eventuell auch therapeutisch wichtige Implikationen für eine kausale Behandlung der AD mit Neurotrophinen ergeben.

## **2.2 Optimierung der Methode zur NT-3-Quantifizierung**

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Methode zur Bestimmung der NT-3-Konzentrationen zu entwickeln, die ähnlich zuverlässig und genau ist wie die hier ebenfalls angewandte und bereits etablierte NGF-Methode (Hellweg et al. 1989; Hellweg et al. 1992; Hellweg et al. 1996a).

Als Grundlage dazu diente ein Kit zur NT-3-Quantifizierung der Firma Promega (NT-3 Emax™ ImmunoAssay System), das bereits eine hohe Sensitivität mit einer Nachweisgrenze von 10 pg/ml und eine hohe Spezifität besitzt.

Dabei sollte die Nachweisgrenze für NT-3 weiter gesenkt werden, um letztlich eine der

weltweit empfindlichsten Methoden zur Quantifizierung von NT-3 zu erhalten. So könnten dann im selben Homogenat selbst nur weniger mg schwerer Hirngewebeproben die endogenen Neurotrophine NGF, BDNF und NT-3 spezifisch und reliabel quantifiziert werden.