

4. Ergebnisse

4.1 Optimierung der Methode zur NT-3-Quantifizierung

Als Grundlage zur Optimierung der Methode zur NT-3-Quantifizierung diente ein Kit 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.

Aufgrund langer Erfahrungen mit NGF-Assays wurde der mit Horseradish Peroxidase (HRP) gekoppelte dritte Antikörper des Ausgangssets ersetzt durch einen mit β -Galaktosidase konjugierten Antikörper. Als Substrat für die β -Galaktosidase wurde analog zu den NGF-Assays MUG eingesetzt.

In insgesamt 14 Versuchsassays wurde die Konzentrationen der Puffer und Antikörper sowie die Inkubationszeiten der einzelnen Schritte optimiert, so dass das Signal/Rauschverhältnis, die Empfindlichkeit sowie die Recovery der NT-3-Bestimmung entscheidend verbessert konnten.

So erhielten wir eine sehr empfindliche und zuverlässige Methode zur NT-3-Bestimmung mit einer Nachweisgrenze von unter 1 pg/ml und einer durchschnittlichen Recovery-Rate von 70-90% und geringen Inter-Assay-Varianzen bezüglich der Standardkurven (Vgl. auch Katoh-Semba et al. 1996; Narisawa-Saito et al. 1996; Nitta et al. 1999; Durany et al. 2000).

4.2 NGF-Gehalt einzelner Regionen des Nervensystems transgener APP23-Mäuse

Die statistische Analyse zur Verteilung der NGF-Konzentrationen zwischen den Geweben wurde genotyp- und altersspezifisch durchgeführt. Für alle drei Altersgruppen und beide Genotypen waren die Verteilungsunterschiede zwischen den Geweben hoch signifikant. Unterschiede in der NGF-Konzentration zwischen den Altersgruppen (siehe Tabelle 3 und Tabelle 5) wurden gewebe- und genotypspezifisch, Unterschiede in der NGF-Konzentration

zwischen den Genotypen (siehe Tabelle 4) gewebe- und altersspezifisch untersucht. Schließlich wurde noch für die Gesamtstichprobe (n=336) überprüft, ob die NGF-Konzentrationen als normalverteilt gelten können, was nicht der Fall war. Die Durchschnittswerte wurden als Mediane dargestellt und miteinander verglichen (siehe Tabelle 2).

			5 Monate	10,5 Monate	20 Monate
Bulbus Olfactorius	<i>h</i>	m(r)	7,94 (14,41)	7,16 (12,08)	6,79 (7,99)
		x(s)	9,89 (4,98)	7,19 (4,38)	7,60 (2,76)
	<i>w</i>	m(r)	6,17 (13,56)	6,92 (11,50)	6,79 (6,07)
		x(s)	6,82 (4,36)	7,47 (3,54)	6,96 (3,35)
Cerebellum	<i>h</i>	m(r)	0,61 (1,54)	0,99 (1,58)	0,86 (3,05)
		x(s)	0,73 (0,51)	1,08 (0,54)	1,10 (1,05)
	<i>w</i>	m(r)	0,84 (0,66)	0,81 (0,52)	0,91 (0,96)
		x(s)	0,83 (0,24)	0,83 (0,18)	0,86 (0,31)
Hippocampus	<i>h</i>	m(r)	6,70 (4,41)	7,81 (6,32)	4,92 (7,25)
		x(s)	6,13 (1,53)	7,24 (2,28)	6,50 (2,90)
	<i>w</i>	m(r)	8,31 (13,64)	8,60 (4,13)	9,05 (9,22)
		x(s)	7,58 (4,22)	7,91 (1,48)	9,16 (3,47)
Nervus Ischiadicus	<i>h</i>	m(r)	11,04 (38,49)	9,63 (23,91)	4,00 (9,56)
		x(s)	15,10 (12,87)	11,82 (8,62)	4,01 (3,18)
	<i>w</i>	m(r)	7,49 (7,13)	4,78 (5,19)	4,05 (5,76)
		x(s)	7,51 (2,29)	3,58 (2,18)	3,83 (1,85)
Septum	<i>h</i>	m(r)	7,59 (11,34)	7,49 (9,35)	7,29 (5,33)
		x(s)	8,67 (3,99)	8,88 (3,39)	7,70 (2,15)
	<i>w</i>	m(r)	6,65 (21,03)	5,73 (8,94)	14,27 (7,56)
		x(s)	9,23 (6,82)	6,56 (2,92)	13,12 (2,87)
Striatum	<i>h</i>	m(r)	2,69 (16,76)	2,21 (2,20)	2,47 (2,28)
		x(s)	4,79 (6,03)	2,41 (0,75)	2,67 (0,78)
	<i>w</i>	m(r)	2,66 (3,32)	2,45 (2,85)	2,45 (1,74)
		x(s)	2,94 (1,15)	2,71 (1,05)	2,60 (0,59)
frontaler Cortex	<i>h</i>	m(r)	3,97 (2,15)	3,46 (4,26)	6,84 (7,43)
		x(s)	3,91 (0,74)	3,61 (1,46)	7,64 (2,90)
	<i>w</i>	m(r)	4,37 (3,87)	3,37 (5,31)	4,64 (2,30)
		x(s)	4,11 (1,30)	4,49 (2,29)	4,54 (0,78)
occipitaler Cortex	<i>h</i>	m(r)	3,57 (2,82)	3,06 (1,85)	5,94 (2,01)
		x(s)	3,09 (1,03)	3,21 (0,65)	5,79 (0,70)
	<i>w</i>	m(r)	3,67 (4,40)	3,74 (2,09)	4,33 (4,76)
		x(s)	3,48 (1,46)	3,67 (0,83)	4,72 (1,64)

Tabelle 2: NGF-Konzentrationen (in pg/mg Feuchtgewicht) in verschiedenen Regionen des Nervensystems (*h*: hemizygot, *w*: wildtyp, *m*: Median, *r*: Variationsbreite, *x*: Mittelwert, *s*: Standardabweichung). Die Wiederfindungsrate von NGF (*Recovery* mit exogenem NGF: 125 pg/ml) lag in den verschiedenen Geweben bei ca. 90-95%, wobei keine der oben angegebenen Daten *Recovery*-korrigiert sind.

	wildtyp	hemizygot
Bulbus olfactorius	0,9250	0,3631
Cerebellum	0,8091	0,2582
Hippocampus	0,7974	0,5280
Nervus Ischiadicus	0,0130	0,0297
Septum	0,0202	0,7459
Striatum	0,8312	0,5207
frontaler Cortex	0,7311	0,0034
occipitaler Cortex	0,3285	0,0013

Tabelle 3: NGF-Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Altersgruppen simultan betrachtet, aufgeteilt nach Genotypen; angegeben ist die Irrtumswahrscheinlichkeit im Kruskal-Wallis Test für k Stichproben. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt.

	5 Monate	10,5 Monate	20 Monate
Bulbus olfactorius	0,0736	0,8983	0,7491
Cerebellum	0,3368	0,2764	0,7015
Hippocampus	0,2013	0,5229	0,2008
Nervus Ischiadicus	0,0409	0,0736	0,7015
Septum	0,8983	0,0736	0,0106
Striatum	0,7983	0,6544	1,0000
frontaler Cortex	0,7012	0,6093	0,0152
occipitaler Cortex	0,4433	0,2502	0,0409

Tabelle 4: NGF-Konzentrationsunterschiede zwischen den Genotypen innerhalb der einzelnen Altersklassen; angegeben ist die Irrtumswahrscheinlichkeit im Wilcoxon Two-Sample Test. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt.

	5 vs. 10,5 Monate		5 vs. 20 Monate		10,5 vs. 20 Monate	
	wildtyp	hemizygot	wildtyp	hemizygot	wildtyp	hemizygot
Bulbus olfactorius	0,7015	0,4433	0,8983	0,1252	1,0000	0,8983
Cerebellum	0,8981	0,1413	0,7981	0,3374	0,5224	0,4817
Hippocampus	0,8983	0,1599	0,7015	1,0000	0,5229	0,7981
Nervus Ischiadicus	0,0106	0,7015	<i>0,0180</i>	0,0049	1,0000	0,1599
Septum	0,3711	1,0000	0,0967	0,7015	0,0073	0,4433
Striatum	0,6093	0,3374	0,7491	0,7015	0,8478	0,4433
frontaler Cortex	1,0000	0,2496	0,4817	0,0049	0,6093	0,0073
occipitaler Cortex	1,0000	1,0000	0,2502	0,0022	0,2013	0,0022

Tabelle 5: NGF-Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Altersgruppen in paarweisem Vergleich betrachtet, aufgeteilt nach Genotypen; angegeben ist die Irrtumswahrscheinlichkeit, wobei hierbei der α -Fehler für multiples Testen zu korrigieren ist, d.h. signifikant auf dem 5% Niveau sind nur die Ergebnisse, die eine unkorrigierte Irrtumswahrscheinlichkeit $< ,017$ aufweisen. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt, kursiv dargestellt sind die Irrtumswahrscheinlichkeiten, die zwar vor, nicht aber nach Bonferroni-Korrektur das 5% Niveau erreichen.

In Abbildung 2 bis Abbildung 9 stellen die grauen Quadrate die einzelnen Messwerte der wildtyp-Kontrolltiere (W) dar, die grauen Kreise die Messwerte der hemizygoten (H) APP23-Mäuse. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median der einzelnen Messgruppen. Alle Messwerte sind, wenn nicht anders angegeben, in pg/mg Feuchtgewicht dargestellt. Bestand bezüglich der Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Genotypen in einer Altersgruppe ($M =$ Alter der Tiere in Monaten) Signifikanz ($p < ,05$), wurde dies mit genauer Angabe von p durch eine gesonderte Klammer verdeutlicht.

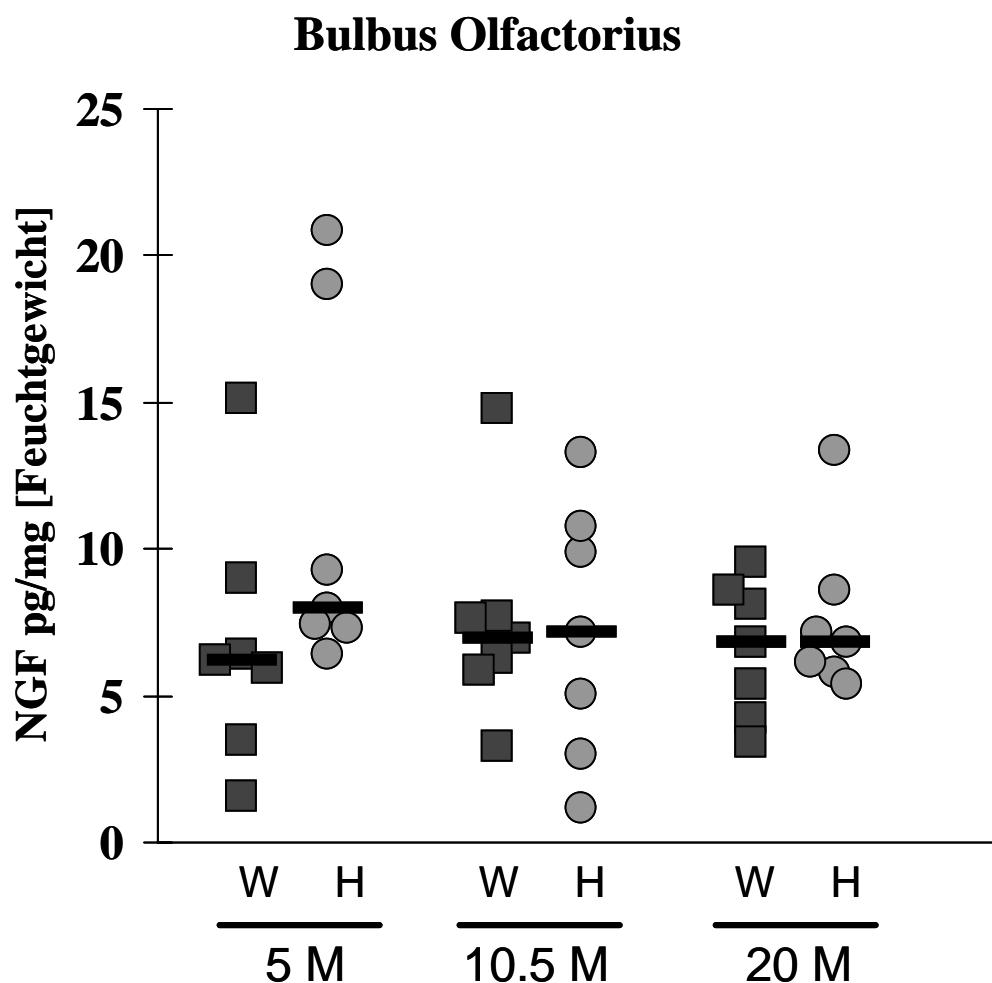


Abbildung 2: NGF-Konzentrationen im Bereich des Bulbus Olfactorius.

Im Bereich des Bulbus Olfactorius zeigten sich im Laufe des Alterungsprozesses und beim Vergleich der Genotypen innerhalb der einzelnen Altersgruppen keine signifikanten Konzentrationsunterschiede, die Werte blieben relativ konstant. Bei den hemizygoten APP23-Mäusen lag der Median der Messwerte bei den jungen Tieren (Alter 5 Monate) bei 7,94 pg/mg, bei den Tieren mittleren Alters (Alter 10,5 Monate) bei 7,16 pg/mg und bei den alten Tieren (Alter 20 Monate) bei 6,79 pg/mg. Ähnlich verhielt es sich bei den Wildtyp-Kontrolltieren, hier lag der Median der Messwerte bei den jungen Tieren bei 6,17 pg/mg, bei den Tieren mittleren Alters bei 6,92 pg/mg und bei den alten Tieren bei 6,79 pg/mg.

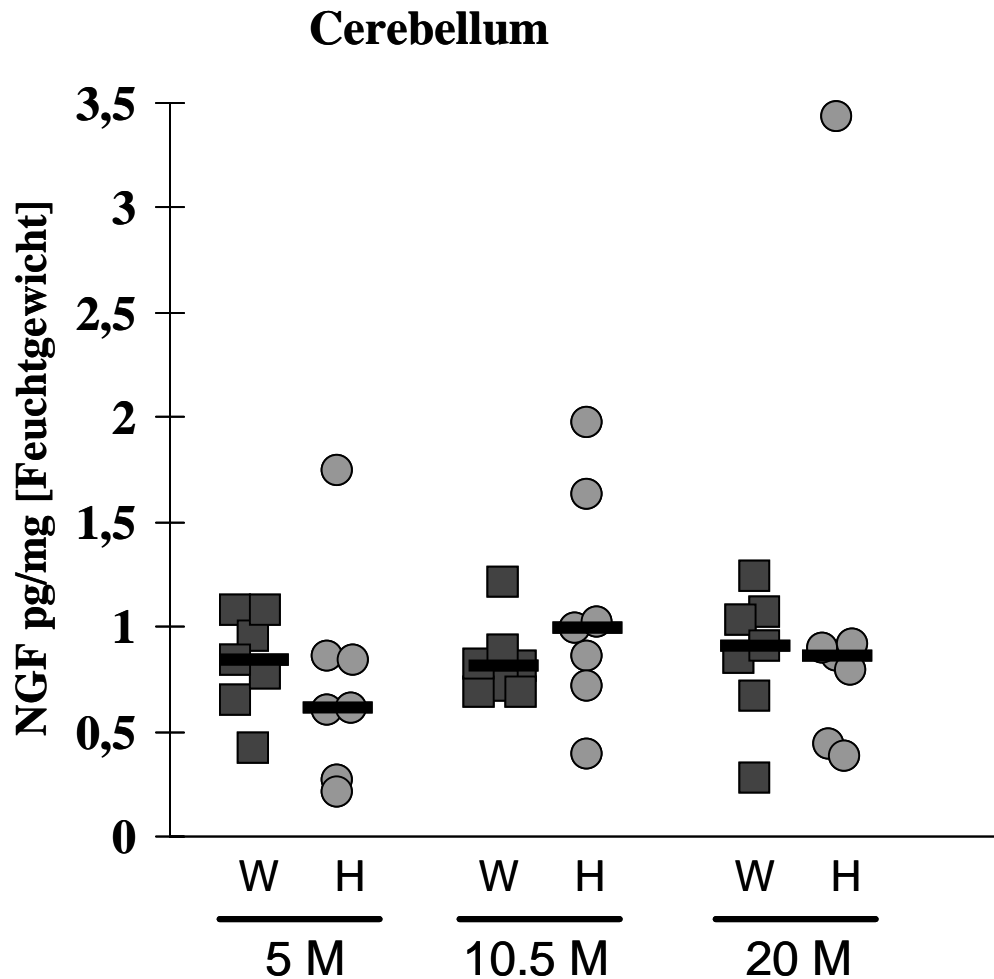


Abbildung 3: NGF-Konzentrationen im Bereich des Cerebellums.

Auch im Cerebellum zeigten sich im Laufe des Alterungsprozesses und beim Vergleich der Genotypen innerhalb der einzelnen Altersgruppen keine signifikanten Konzentrationsunterschiede bei ebenfalls relativ konstanten Messwerten. Bei den hemizygoten APP23-Mäusen lag der Median der Messwerte bei den jungen Tieren bei 0,61 pg/mg, bei den Tieren mittleren Alters bei 0,99 pg/mg und bei den alten Tieren bei 0,86 pg/mg. Ähnlich verhielt es sich bei den Wildtyp-Kontrolltieren, hier lag der Median der Messwerte bei den jungen Tieren bei 0,84 pg/mg, bei den Tieren mittleren Alters bei 0,81 pg/mg und bei den alten Tieren bei 0,91 pg/mg

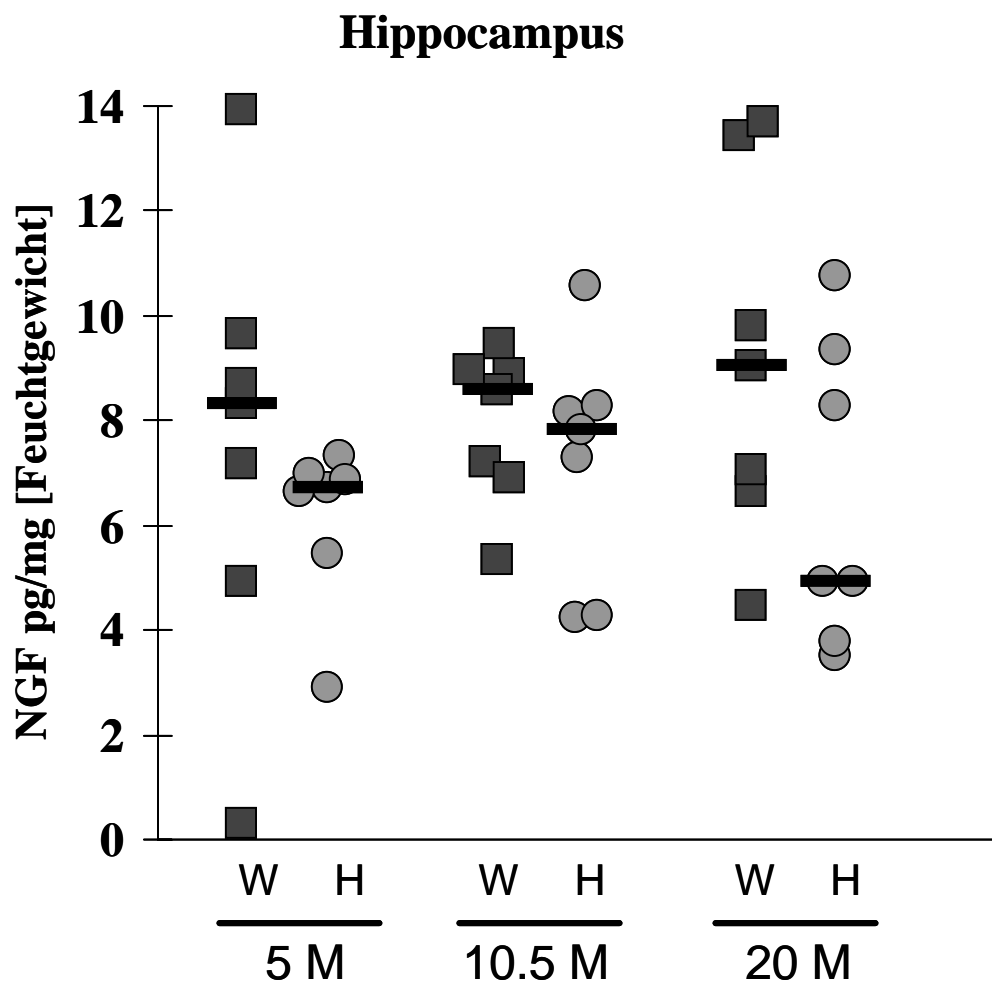


Abbildung 4: NGF-Konzentrationen im Bereich des Hippocampus.

In der Hippocampus-Region konnten weder beim Vergleich der Altersgruppen eines Genotyps noch beim Vergleich der Genotypen in den einzelnen Altersgruppen signifikante Unterschiede festgestellt werden. Der Median der hemizygoten Tiere veränderte sich von 6,70 pg/mg bei den jungen über 7,81 pg/mg bei den mittelalten zu 4,92 pg/mg bei den alten Tieren. Bei den Kontrolltieren lagen die Werte bei 8,31 pg/mg bei den Jungtieren, bei 8,60 pg/mg bei den mittelalten Tieren und bei 9,05 pg/mg bei den Alttieren. Auch der Abfall des Medians von den Kontrolltieren zu transgenen Tieren hohen Alters um 45% war statistisch nicht signifikant.

Nervus Ischiadicus

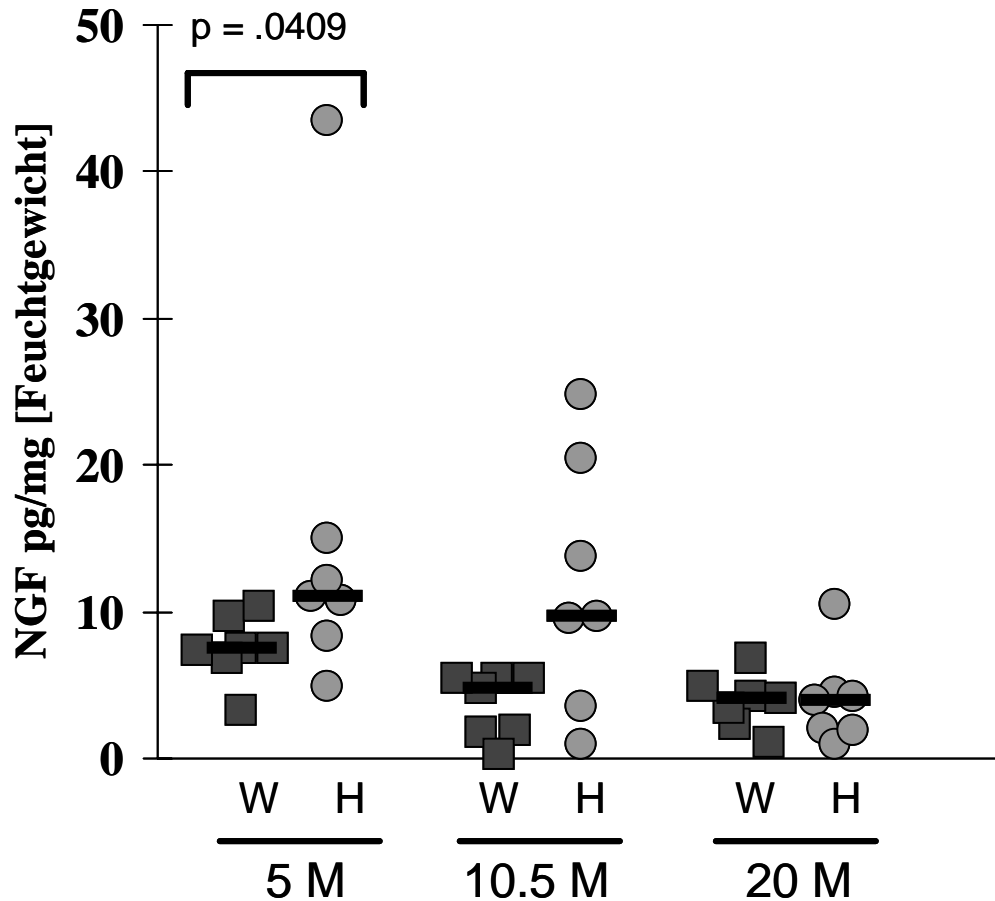


Abbildung 5: NGF-Konzentrationen im Bereich des Nervus Ischiadicus.

Im Nervus Ischiadicus als Vertreter des peripheren Nervensystems zeigte sich im Alterverlauf sowohl der Kontrolltiere als auch der transgenen Mäuse bei simultaner Betrachtung der drei Altersklassen ein statistisch signifikanter Abfall der NGF-Konzentrationen. Dabei fielen die Werte der Wildtyp-Kontrolltiere von 7,49 pg/mg bei den Jungtieren über 4,78 pg/mg bei den mittelalten Tieren auf 4,05 pg/mg bei den alten Tieren, im paarweisen Vergleich der drei Altersgruppen war der Abfall der Werte von den jungen zu den mittelalten Tieren um 36% statistisch signifikant, der Abfall von den jungen zu den alten Tieren um 46% erreichte gerade nicht mehr Signifikanzniveau. Bei den hemizygoten transgenen Tieren war ein Abfall von 11,04 pg/mg bei den Jungtieren über 9,63 pg/mg bei den mittelalten auf 4,00 pg/mg bei den alten Tieren zu beobachten, hier war das Absinken der Werte von den jungen zu den alten

Tieren um 64% signifikant. Beim Vergleich der Genotypen innerhalb einer Altersgruppe war nur der um 32% höhere Wert der jungen hemizygoten Mäuse gegenüber den gleichaltrigen Wildtyp-Kontrolltieren (11,04 vs. 7,49 pg/mg) statistisch signifikant, der Unterschied bei den Tieren mittleren Alters von 50% war gerade nicht mehr signifikant.

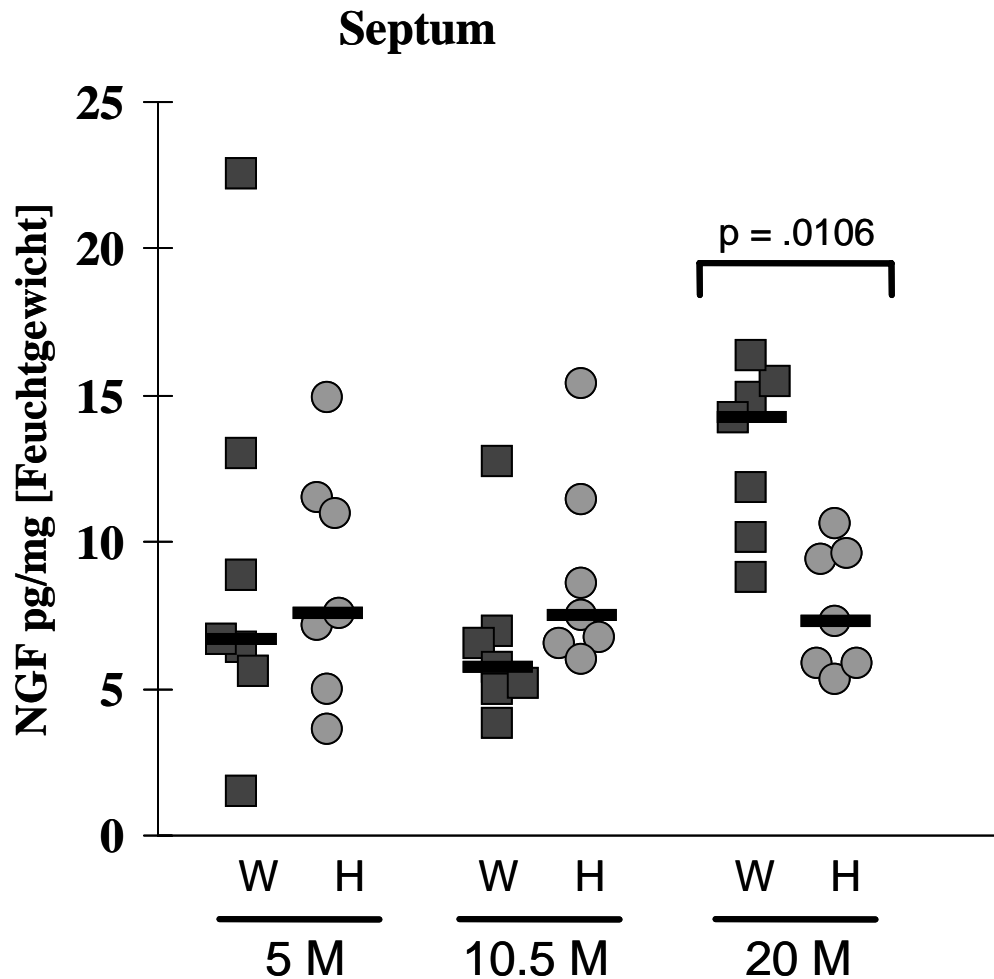


Abbildung 6: NGF-Konzentrationen im Bereich des Septums.

Die Messwerte des Septums ergaben bei simultaner Betrachtung der Altergruppen statistisch signifikante Konzentrationsänderungen bei den wildtypen Kontrolltieren, nicht jedoch bei den hemizygoten transgenen Tieren, bei denen die Messwerte nahezu konstant blieben (7,59 vs. 7,49 vs. 7,29 pg/mg). Die Werte der Kontrolltiere sanken von 6,65 pg/mg bei den jungen Tieren auf 5,73 pg/mg bei den mittelalten Tieren, um dann auf 14,27 pg/mg bei den Alttieren anzusteigen; der Anstieg von mittelalt zu alt um 249% war statistisch signifikant. Beim Vergleich der Genotypen einer Alterklasse war der Unterschied der alten hemizygoten (7,29 pg/mg) zu den alten Kontrolltieren (14,27 pg/mg) ebenfalls statistisch signifikant.

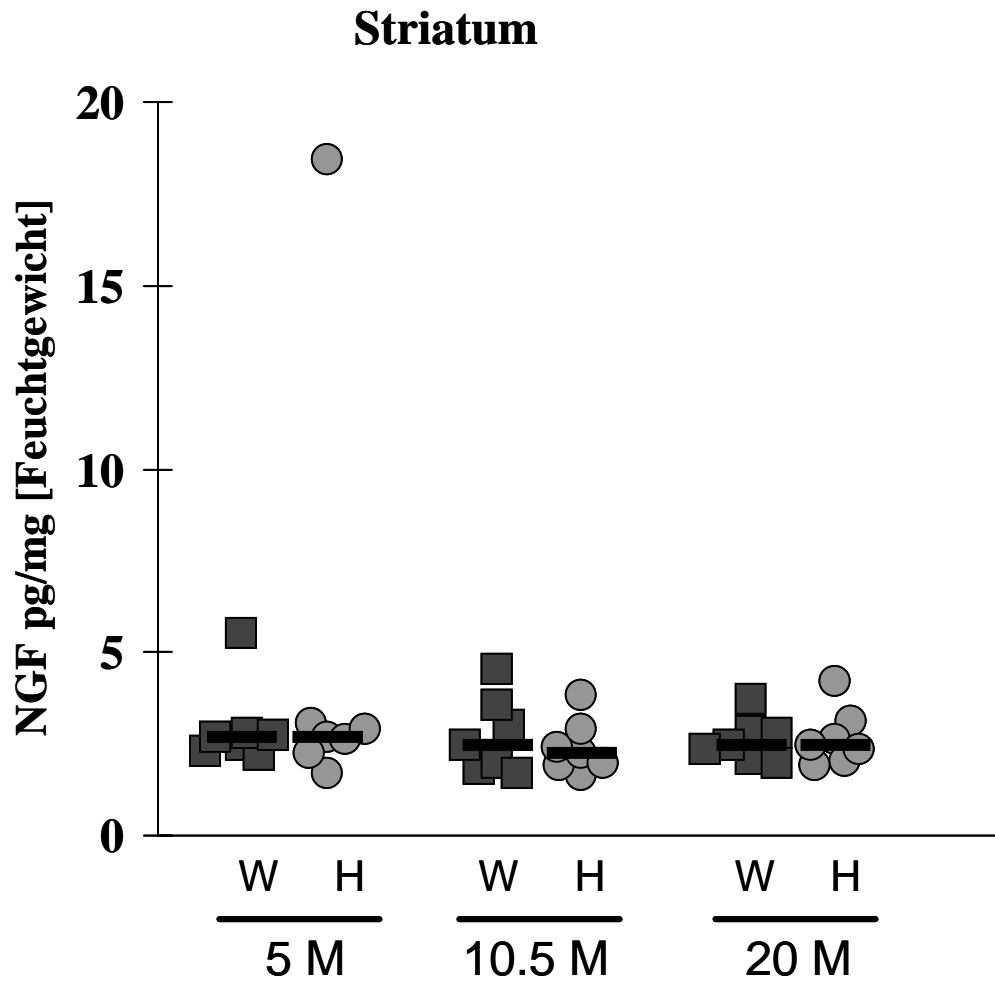


Abbildung 7: NGF-Konzentrationen im Bereich des Striatums.

Im Bereich des Striatums lagen die Messwerte alle auf ähnlichem Niveau, es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Bei den hemizygoten transgenen Mäusen lag der Median der Werte bei 2,69 pg/mg bei den jungen, bei 2,21 pg/mg bei den mittelalten und bei 2,47 pg/mg bei den alten Tieren. Auf ähnlichem Niveau lagen die Werte der Kontrolltiere, 2,66 pg/mg bei den Jungtieren und 2,45 pg/mg bei den Tieren mittleren und hohen Alters.

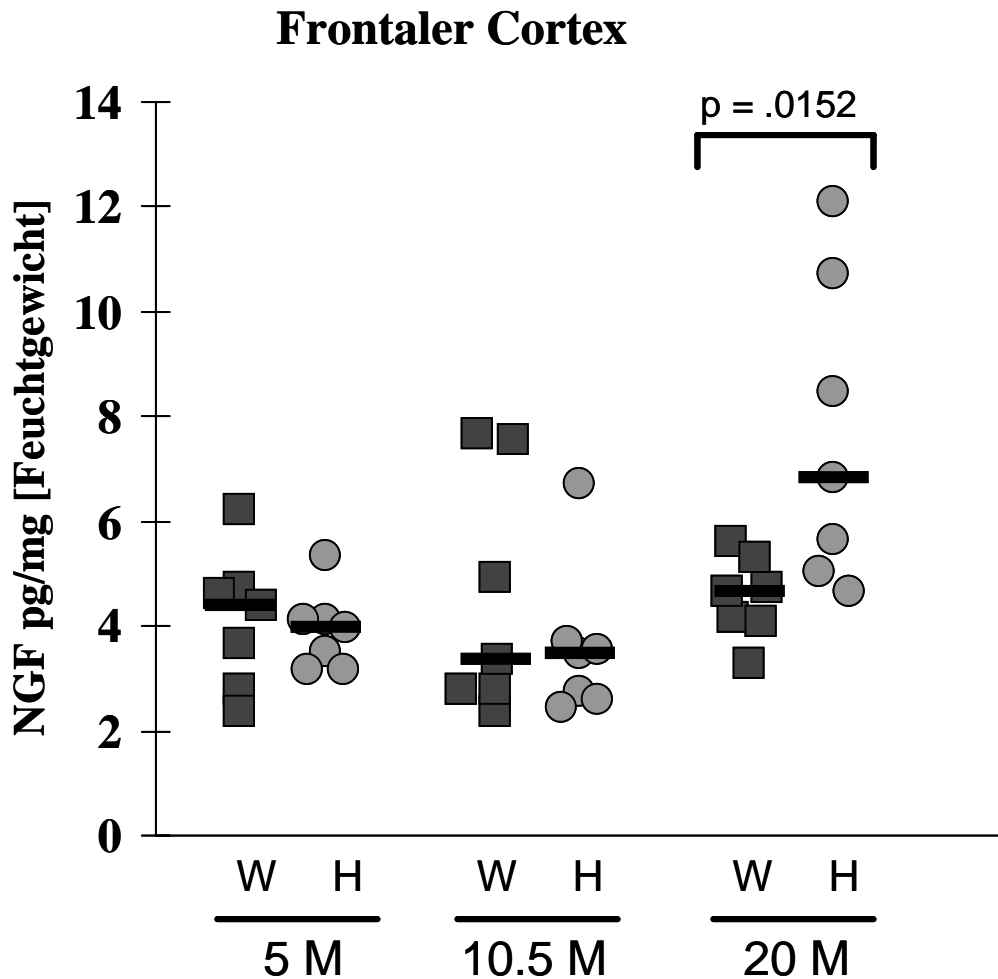


Abbildung 8: NGF-Konzentrationen im Bereich des frontalen Cortex.

Bei der simultanen Betrachtung der drei Altersklassen im Bereich des frontalen Cortex waren die Veränderungen bei den transgenen Mäusen statistisch signifikant, nicht jedoch bei den Mäusen der Kontrollgruppe. Die Messwerte der hemizygoten transgenen Tiere fielen zuerst von 3,97 pg/mg bei den jungen auf 3,46 pg/mg bei den mittelalten Tieren, um dann auf 6,84 pg/mg bei den alten Tieren zu steigen. Hierbei waren sowohl der Anstieg von den jungen zu den alten Tieren um 72% als auch der Anstieg von den mittelalten zu den alten Tieren um 98% statistisch signifikant. Die Werte der Kontrollgruppe fielen ebenfalls zuerst von 4,37 pg/mg bei den Jungtieren auf 3,37 pg/mg bei den Tieren mittleren Alters, um dann auf 4,64 pg/mg bei den Alttieren zu steigen, wobei jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede erreicht wurden. Im Vergleich der Genotypen einer Altergruppe ergaben sich

statistisch signifikante Unterschiede bei den Messwerten der Alttiere, hier lag der Median der Werte bei den hemizygoten Tieren um 47% über dem der Kontrollgruppe.

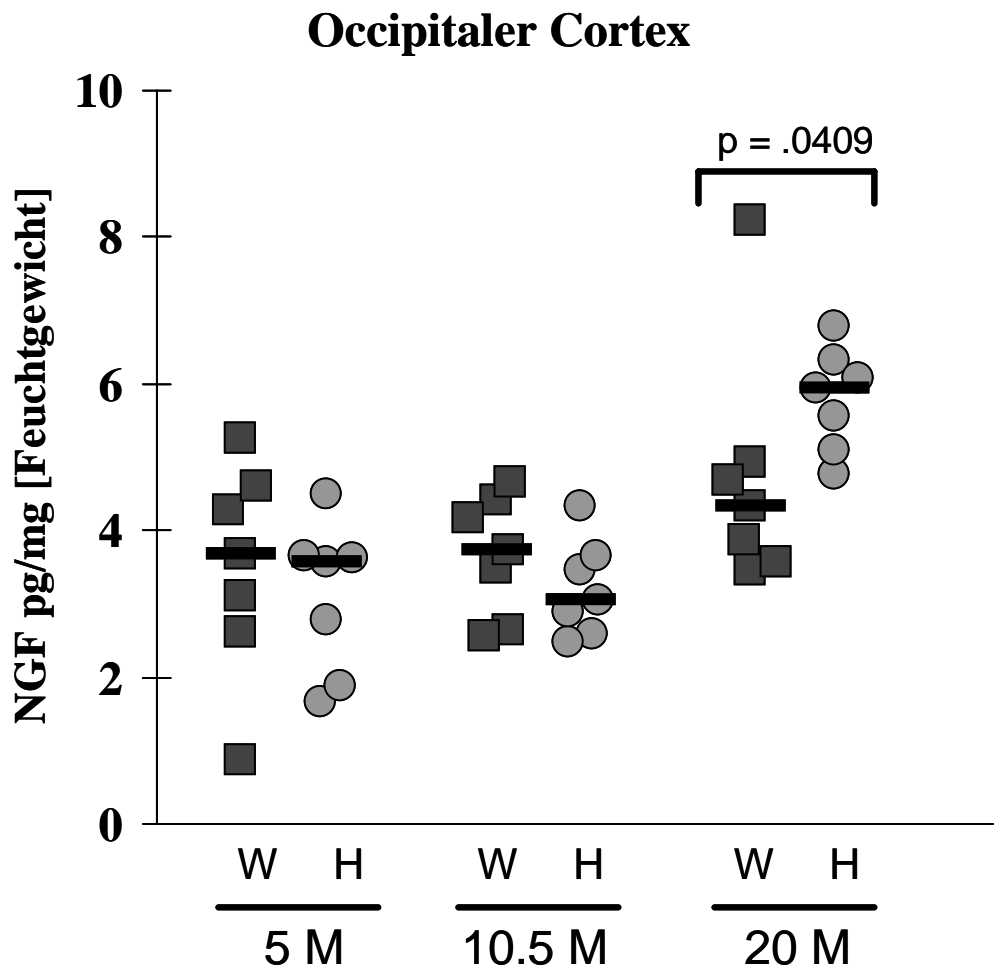


Abbildung 9: NGF-Konzentrationen im Bereich des occipitalen Cortex.

Die Messwerte des occipitalen Cortex verhielten sich ähnlich denen des frontalen Cortex. In der simultanen Betrachtung der drei Altersgruppen ergaben sich statistisch signifikante Veränderungen der Werte nur bei den hemizygoten transgenen Tieren, nicht jedoch bei denen der Kontrollgruppe. Bei den transgenen Mäusen fiel der Median der Messwerte zuerst von 3,57 pg/mg bei den jungen auf 3,06 pg/mg bei den mittelalten, um dann auf 5,94 pg/mg bei den alten Tieren anzusteigen. Hier waren der Anstieg von den Jung- zu den Alttieren mit 66% und der Anstieg von den mittelalten zu den alten Tieren mit 94% statistisch signifikant. In der Wildtyp-Kontrollgruppe stiegen die Werte leicht über 3,67 pg/mg bei den jungen auf 3,74 pg/mg bei den mittelalten auf 4,33 pg/mg bei den alten Tieren, wobei kein statistisch signifikantes Niveau erreicht wurde. Im Vergleich der Genotypen einer Altergruppe ergaben

sich statistisch signifikante Unterschiede bei den Messwerten der Alttiere, hier lag der Median der Werte bei den hemizygoten Tieren um 37% über dem der Kontrollgruppe.

4.3 NT-3-Gehalt einzelner Regionen des Nervensystems transgener APP23-Mäuse

Die statistische Analyse zur Verteilung der NT-3-Konzentrationen zwischen den Geweben wurde genotyp- und altersspezifisch durchgeführt. Für alle drei Altersgruppen und beide Genotypen waren die Verteilungsunterschiede zwischen den Geweben hoch signifikant. Unterschiede in der NT-3-Konzentration zwischen den Altersgruppen (siehe Tabelle 7 und Tabelle 9) wurden gewebe- und genotypspezifisch, Unterschiede in der NT-3-Konzentration zwischen den Genotypen (siehe Tabelle 8) gewebe- und altersspezifisch untersucht. Schließlich wurde noch für die Gesamtstichprobe (n=280) überprüft, ob die NT-3-Konzentrationen als normalverteilt gelten können, was nicht der Fall war. Die Durchschnittswerte wurden als Mediane dargestellt und miteinander verglichen (siehe Tabelle 6).

			5 Monate	10,5 Monate	20 Monate
Bulbus Olfactorius	<i>h</i>	m(r)	6,70 (6,91)	8,16 (33,12)	5,57 (11,17)
		x(s)	6,93 (2,51)	10,96 (11,07)	7,88 (4,61)
	<i>w</i>	m(r)	7,24 (11,57)	8,15 (13,98)	11,04 (9,82)
		x(s)	6,38 (3,91)	8,27 (4,07)	11,25 (3,14)
Cerebellum	<i>h</i>	m(r)	1,27 (0,83)	2,39 (4,51)	2,12 (1,55)
		x(s)	1,28 (0,27)	2,97 (1,68)	2,09 (0,67)
	<i>w</i>	m(r)	1,74 (1,53)	2,52 (3,87)	2,62 (4,83)
		x(s)	1,91 (0,51)	2,70 (1,23)	3,41 (1,75)
Hippocampus	<i>h</i>	m(r)	4,41 (3,95)	6,53 (17,39)	6,93 (8,18)
		x(s)	5,25 (1,69)	9,42 (6,79)	6,53 (3,41)
	<i>w</i>	m(r)	3,77 (3,59)	4,08 (2,71)	4,50 (2,80)
		x(s)	4,09 (1,38)	4,18 (0,80)	4,66 (0,97)
Nervus Ischiadicus	<i>h</i>	m(r)	73,44 (40,55)	42,66 (263,46)	12,84 (60,09)
		x(s)	78,32 (20,71)	84,26 (90,23)	23,85 (23,25)
	<i>w</i>	m(r)	29,07 (20,01)	27,43 (40,72)	32,46 (35,81)
		x(s)	27,48 (8,60)	30,76 (14,40)	31,06 (14,28)
Septum	<i>h</i>	m(r)	10,76 (19,24)	10,95 (18,05)	12,94 (13,08)
		x(s)	11,00 (6,87)	14,06 (6,78)	12,80 (5,15)
	<i>w</i>	m(r)	5,35 (32,72)	12,09 (17,64)	25,64 (16,80)
		x(s)	11,26 (11,75)	12,56 (7,15)	24,21 (6,75)
Striatum	<i>h</i>	m(r)	1,10 (6,12)	0,88 (2,21)	1,62 (1,30)
		x(s)	2,31 (2,67)	1,14 (0,76)	1,55 (0,50)
	<i>w</i>	m(r)	2,14 (1,75)	0,62 (1,07)	1,53 (2,54)
		x(s)	1,64 (0,98)	0,85 (0,45)	1,68 (0,92)
frontaler Cortex	<i>h</i>	m(r)	4,47 (5,29)	2,64 (0,00)	2,07 (0,00)
		x(s)	4,52 (1,84)	2,64 (0,00)	2,07 (0,00)
	<i>w</i>	m(r)	2,72 (5,46)	2,27 (2,82)	2,88 (3,31)
		x(s)	3,64 (2,31)	2,10 (1,18)	2,94 (1,66)
occipitaler Cortex	<i>h</i>	m(r)	1,35 (2,74)	1,34 (4,07)	1,91 (1,69)
		x(s)	1,46 (1,13)	2,14 (1,77)	1,99 (0,57)
	<i>w</i>	m(r)	0,96 (2,32)	1,12 (3,12)	2,24 (1,94)
		x(s)	1,14 (0,84)	1,76 (1,32)	2,14 (0,73)

Tabelle 6: NT-3-Konzentrationen (in pg/mg Feuchtgewicht) in verschiedenen Regionen des Nervensystems (*h*: hemizygot, *w*: wildtyp, *m*: Median, *r*: Variationsbreite, *x*: Mittelwert, *s*: Standardabweichung). Die Wiederfindungsrate von NT-3 (*Recovery* mit exogenem NT-3: je nach Gewebe 200 oder 300 pg/ml) lag in den verschiedenen Geweben bei ca. 70-90%, wobei keine der oben angegebenen Daten *Recovery*-korrigiert sind.

	wildtyp	hemizygot
Bulbus olfactorius	0,0522	0,9013
Cerebellum	0,1123	0,0136
Hippocampus	0,3711	0,4398
Nervus Ischiadicus	0,9458	0,0451
Septum	0,0351	0,5796
Striatum	0,2171	0,1731
frontaler Cortex	0,9427	0,2111
occipitaler Cortex	0,1512	0,4538

Tabelle 7: NT-3-Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Altersgruppen simultan betrachtet, aufgeteilt nach Genotypen; angegeben ist die Irrtumswahrscheinlichkeit im Wilcoxon Test für k Stichproben. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt.

	5 Monate	10,5 Monate	20 Monate
Bulbus olfactorius	0,7015	1,0000	0,2769
Cerebellum	0,0319	0,8983	0,2008
Hippocampus	0,2492	0,0220	0,2410
Nervus Ischiadicus	0,0518	0,2013	0,2246
Septum	0,6093	0,6093	0,0152
Striatum	1,0000	0,3709	1,0000
frontaler Cortex	0,4113	1,0000	1,0000
occipitaler Cortex	0,6481	1,0000	0,6171

Tabelle 8: NT-3-Konzentrationsunterschiede zwischen den Genotypen innerhalb der einzelnen Altersklassen; angegeben ist die Irrtumswahrscheinlichkeit im Wilcoxon Two-Sample Test. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt.

	5 vs. 10,5 Monate		5 vs. 20 Monate		10,5 vs. 20 Monate	
	wildtyp	hemizygot	wildtyp	hemizygot	wildtyp	hemizygot
Bulbus olfactorius	0,2502	0,7983	<i>0,0409</i>	0,8983	0,0967	0,7015
Cerebellum	0,1599	0,0082	0,0550	<i>0,0383</i>	0,6089	0,3711
Hippocampus	0,7436	0,2101	0,5228	0,5403	0,1315	1,0000
Nervus Ischiadicus	0,9247	0,4941	0,7768	0,0528	1,0000	0,0538
Septum	0,3711	0,4433	0,0553	0,3711	<i>0,0215</i>	1,0000
Striatum	0,5510	0,1044	1,0000	0,6261	0,0740	0,1599
frontaler Cortex	0,9025	0,4533	1,0000	0,2113	0,8597	* ¹
occipitaler Cortex	0,4113	0,5228	0,0656	0,3299	0,4113	0,4320

Tabelle 9: NT-3-Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Altersgruppen in paarweisem Vergleich betrachtet, aufgeteilt nach Genotypen; angegeben ist die Irrtumswahrscheinlichkeit, wobei hierbei der α -Fehler für multiples Testen zu korrigieren ist, d.h. signifikant auf dem 5% Niveau sind nur die Ergebnisse, die eine unkorrigierte Irrtumswahrscheinlichkeit $< ,017$ aufweisen. Signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt dargestellt, kursiv dargestellt sind die Irrtumswahrscheinlichkeiten, die zwar vor, nicht aber nach Bonferroni-Korrektur das 5% Niveau erreichen.

In Abbildung 10 bis Abbildung 17 stellen die grauen Quadrate die einzelnen Messwerte der Wildtyp-Kontrolltiere (W) dar, die grauen Kreise die Messwerte der hemizygoten (H) APP23-Mäuse. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median der einzelnen Messgruppen. Alle Messwerte sind, wenn nicht anders angegeben, in pg/mg Feuchtgewicht dargestellt. Bestand bezüglich der Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Genotypen in einer Altersgruppe (M = Alter der Tiere in Monaten) Signifikanz ($p < ,05$), wurde dies mit genauer Angabe von p durch eine gesonderte Klammer verdeutlicht.

¹ Für diesen Vergleich standen nur zwei Tiere zur Verfügung, eines pro Altersklasse, deshalb ist ein statistischer Test nicht möglich.

Bulbus Olfactorius

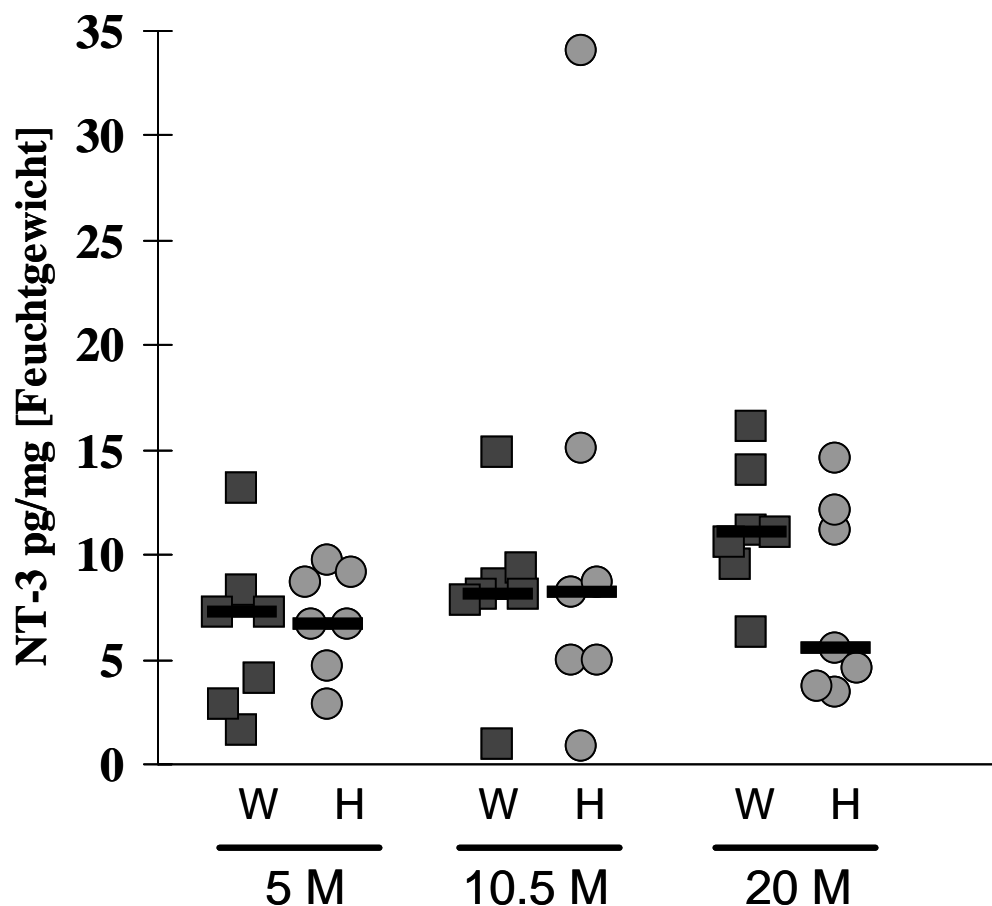


Abbildung 10: NT-3-Konzentrationen im Bereich des Bulbus Olfactorius.

Im Bereich des Bulbus Olfactorius ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bei der Betrachtung der Mediane der Messwerte, weder bei Betrachtung der Altersklassen eines Genotyps noch beim Vergleich der Genotypen einer Altersklasse. Bei den hemizygoten transgenen Mäusen stieg der Median der Werte von 6,70 pg/mg bei den jungen auf 8,16 pg/mg bei den mittelalten Tieren, um dann auf 5,57 pg/mg bei den alten Tieren zu sinken. Die Werte der Kontrolltiere stiegen von 7,24 pg/mg bei den Jungtieren über 8,15 pg/mg bei den Tieren mittleren auf 11,04 pg/mg bei den Tieren hohen Alters.

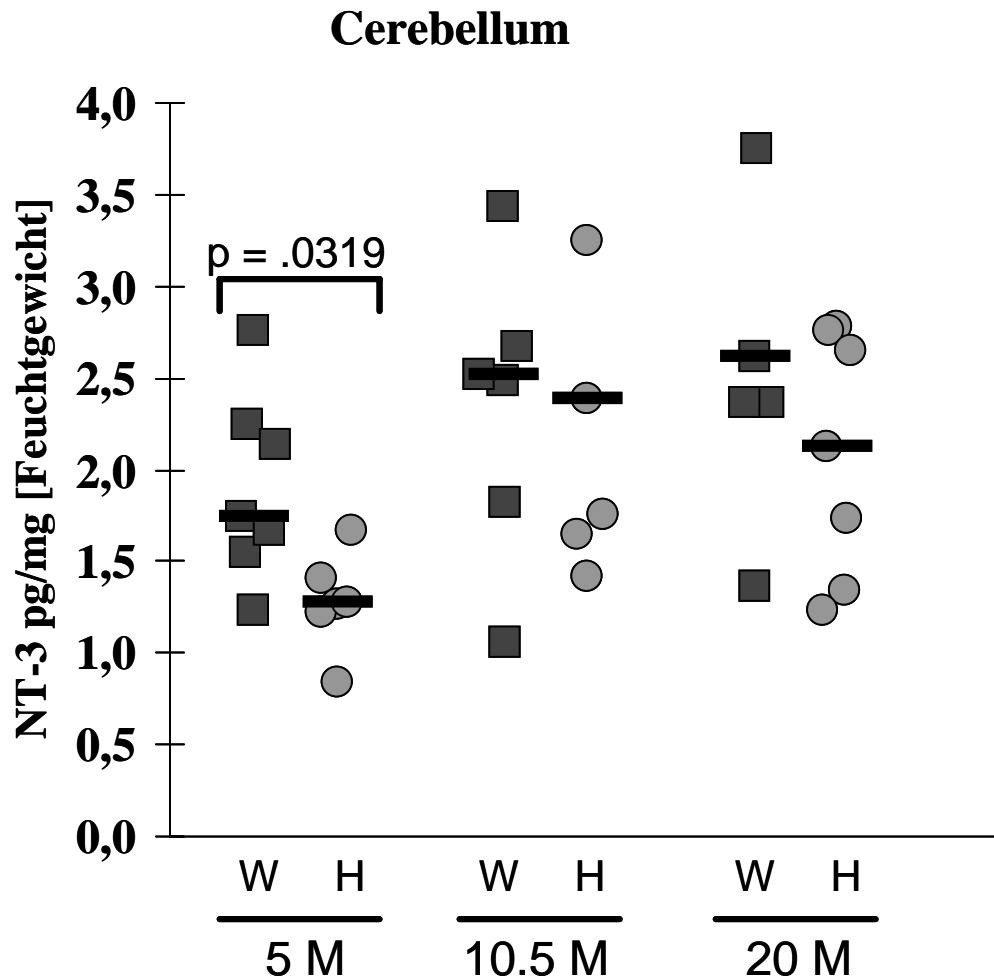


Abbildung 11: NT-3-Konzentrationen im Bereich des Cerebellums.

Das Cerebellum zeigte bei simultaner Betrachtung der drei Altersklassen bei den transgenen Mäusen statistisch signifikante Veränderungen der NT-3-Konzentrationen. Dabei stiegen die Werte der hemizygoten Tiere von 1,27 pg/mg bei den Jungtieren auf 2,39 pg/mg bei den mittelalten Tieren, um dann auf 2,12 pg/mg bei den alten Tieren zu fallen. Im paarweisen Vergleich der Altersgruppen war der Anstieg der Werte von den jungen zu den mittelalten Tieren um 88% statistisch signifikant, der Anstieg von den jungen zu den alten Tieren um 67% erreichte gerade nicht mehr Signifikanzniveau. Bei den Wildtyp-Kontrolltieren war ein Anstieg von 1,74 pg/mg bei den Jungtieren über 2,52 pg/mg bei den mittelalten auf 2,62 pg/mg bei den alten Tieren zu beobachten, der jedoch weder bei simultaner Betrachtung der drei Altersklassen noch bei paarweisem Vergleich statistisch signifikant war. Beim

Vergleich der Genotypen innerhalb einer Altersgruppe war der um 37% höhere Wert der jungen Wildtyp-Kontrolltiere gegenüber den gleichaltrigen hemizygoten Mäusen (1,74 vs. 1,27 pg/mg) statistisch signifikant.

Hippocampus

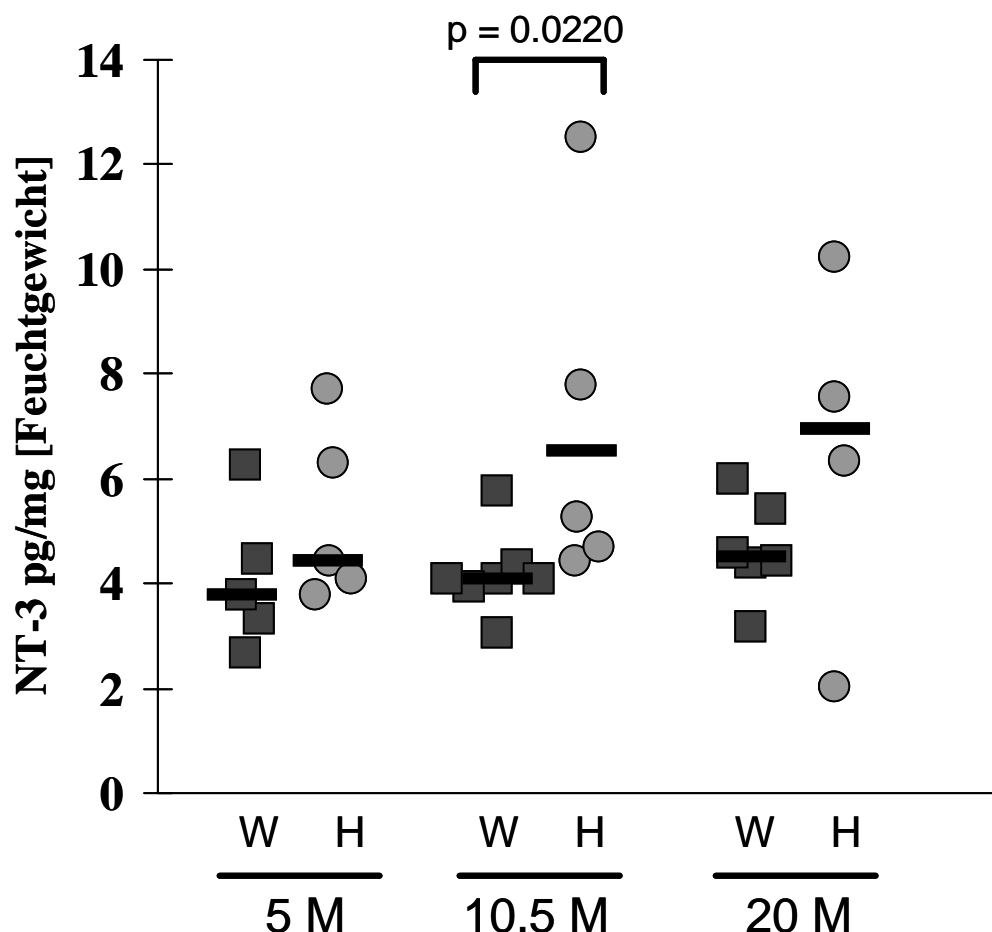


Abbildung 12: NT-3-Konzentrationen im Bereich des Hippocampus.

Im Bereich des Hippocampus zeigten sich im Altersverlauf bei simultaner Betrachtung der drei Alterklassen sowohl bei den transgenen Mäusen als auch bei den wildtypen Kontrolltieren keine statistisch signifikanten Unterschiede, auch bei paarweisem Vergleich der Altersgruppen wurde kein Signifikanzniveau erreicht. Der Median der Konzentrationen stieg bei den hemizygoten Mäusen von 4,41 pg/mg bei den jungen über 6,53 pg/mg bei den mittelalten auf 6,93 pg/mg bei den alten Tieren. Bei den Wildtyp-Kontrolltieren stiegen die Werte von 3,77 pg/mg bei den Jungtieren über 4,08 pg/mg bei den Tieren mittleren Alters auf 4,50 pg/mg bei den Alttieren. Beim Vergleich der Genotypen war der um 60% höhere Wert der mittelalten hemizygoten gegenüber den gleichaltrigen Kontrolltieren statistisch signifikant.

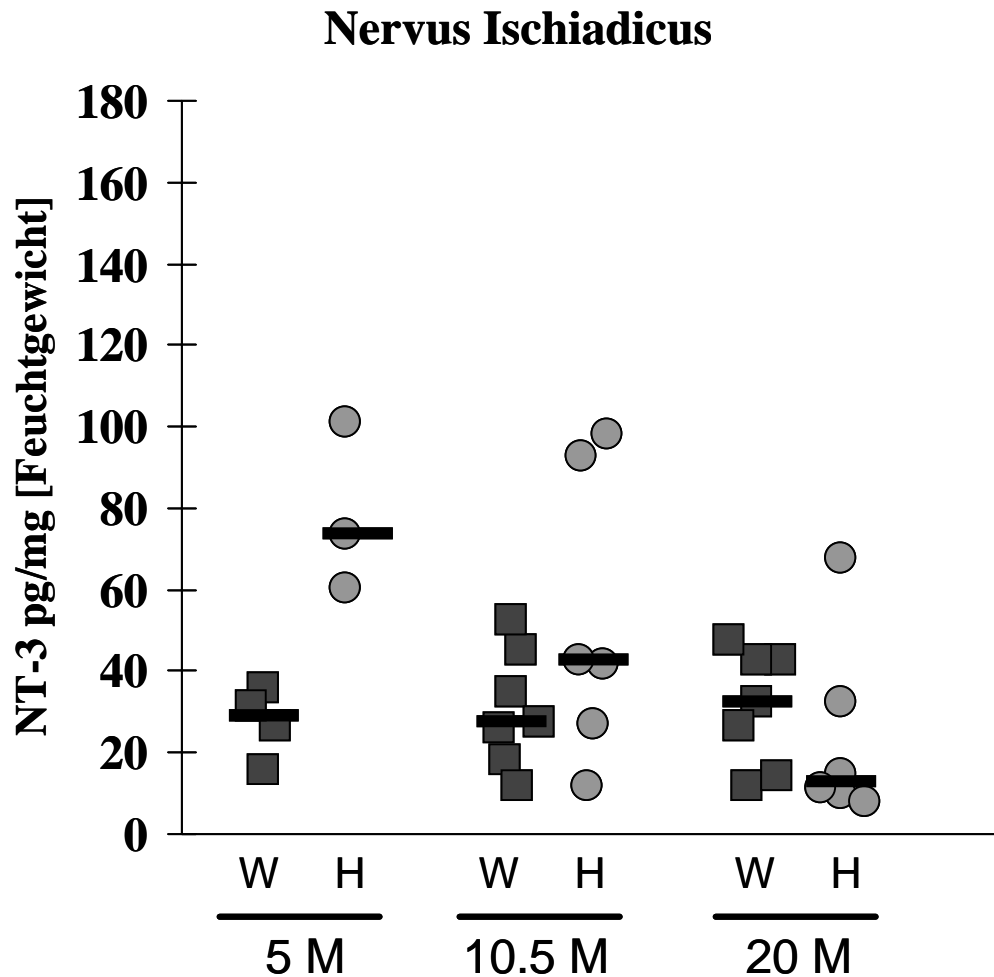


Abbildung 13: NT-3-Konzentrationen im Bereich des Nervus Ischiadicus.

Im Nervus Ischiadicus als Vertreter des peripheren Nervensystems zeigte sich im Alterverlauf der transgenen Mäuse bei simultaner Betrachtung der drei Altersklassen ein statistisch signifikanter Abfall der NT-3-Konzentrationen. Dabei fielen die Werte der hemizygoten Mäuse von 73,44 pg/mg bei den Jungtieren über 42,66 pg/mg bei den mittelalten Tieren auf 12,84 pg/mg bei den alten Tieren, im paarweisen Vergleich der drei Altersgruppen wurde jedoch kein Signifikanzniveau erreicht. Bei den Wildtyp-Kontrolltieren waren die Messwerte auf relativ gleichbleibendem Niveau von 29,07 pg/mg bei den Jungtieren, 27,43 pg/mg bei den mittelalten und 32,46 pg/mg bei den alten Tieren, so waren hier auch keine statistisch signifikanten Unterschiede festzustellen.

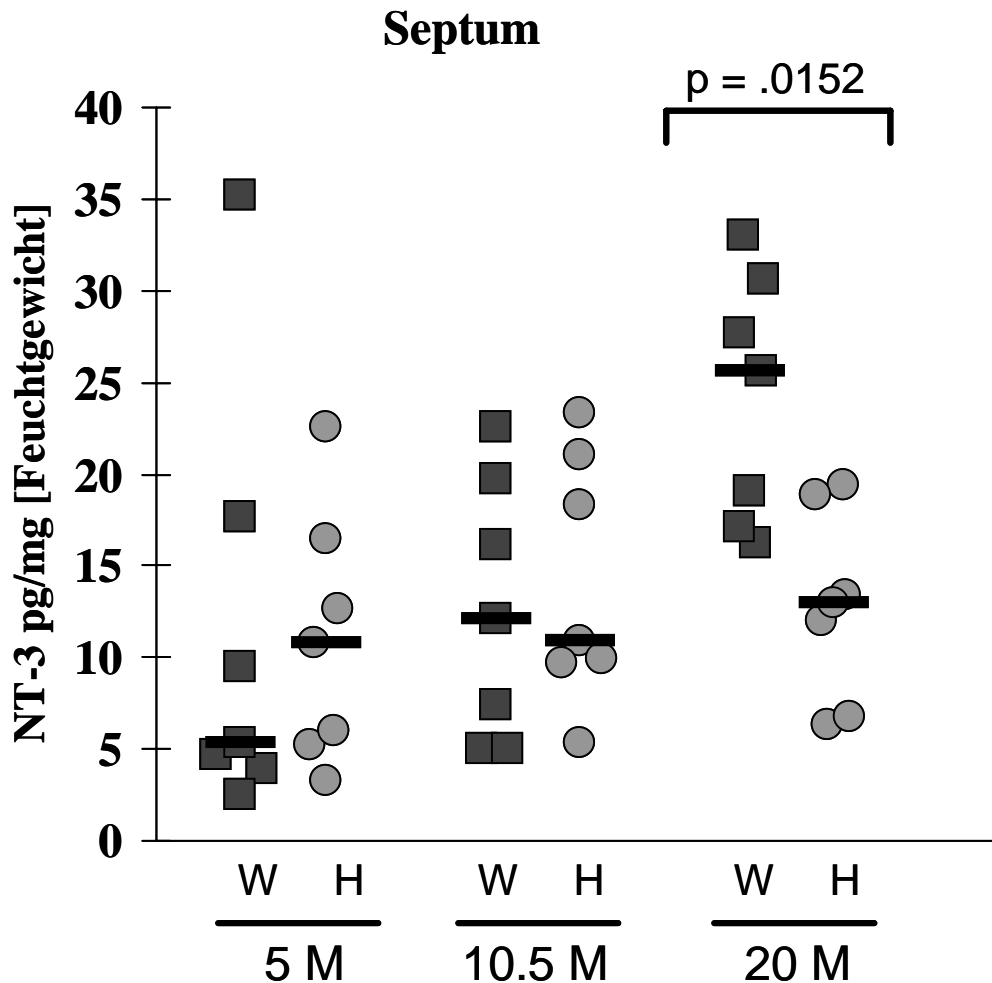


Abbildung 14: NT-3-Konzentrationen im Bereich des Septums.

Die Messwerte des Septums ergaben bei simultaner Betrachtung der Altersgruppen statistisch signifikante Konzentrationsänderungen bei den wildtypen Kontrolltieren, nicht jedoch bei den hemizygoten transgenen Tieren, bei denen die Messwerte relativ konstant blieben (10,76 vs. 10,95 vs. 12,94 pg/mg). Die Werte der Kontrolltiere stiegen von 5,35 pg/mg bei den jungen über 12,09 pg/mg bei den mittelalten auf 25,64 pg/mg bei den alten Tieren. In der paarweisen Prüfung der Altersgruppen war der Anstieg von jung zu alt um 379% und von mittelalt zu alt um 112% statistisch nicht mehr signifikant. Beim Vergleich der Genotypen einer Alterklasse erreichte die Erhöhung der Messwerte der alten Kontrolltiere im Vergleich zu den alten hemizygoten Tieren um 98% statistisches Signifikanzniveau.

Striatum

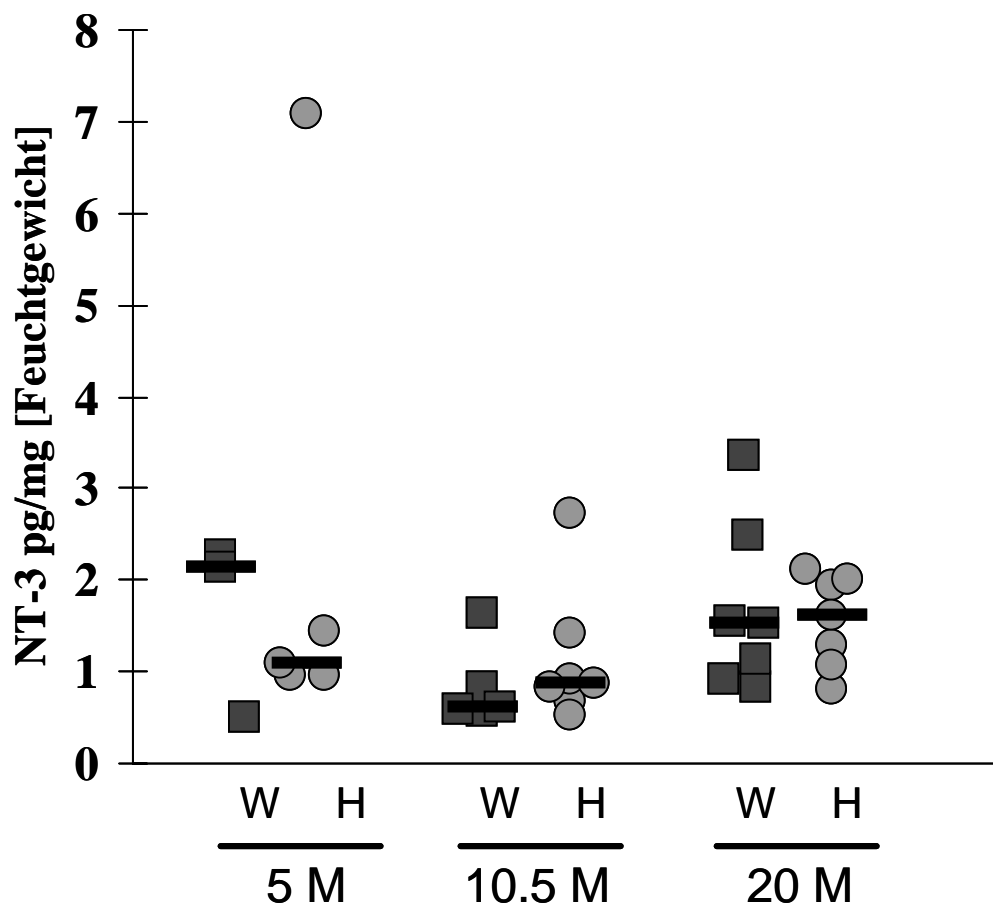


Abbildung 15: NT-3-Konzentrationen im Bereich des Striatums.

Im Bereich des Striatums ergaben sich weder bei den transgenen Tieren noch bei den Kontrolltieren statistisch signifikante Unterschiede. Bei den hemizygoten transgenen Mäusen lag der Median der Werte bei 1,10 pg/mg bei den jungen, bei 0,88 pg/mg bei den mittelalten und bei 1,62 pg/mg bei den alten Tieren. Die Werte der Kontrolltiere lagen bei 2,14 pg/mg bei den Jungtieren, 0,62 pg/mg bei den Tieren mittleren Alters und 1,53 pg/mg bei den Alttieren.

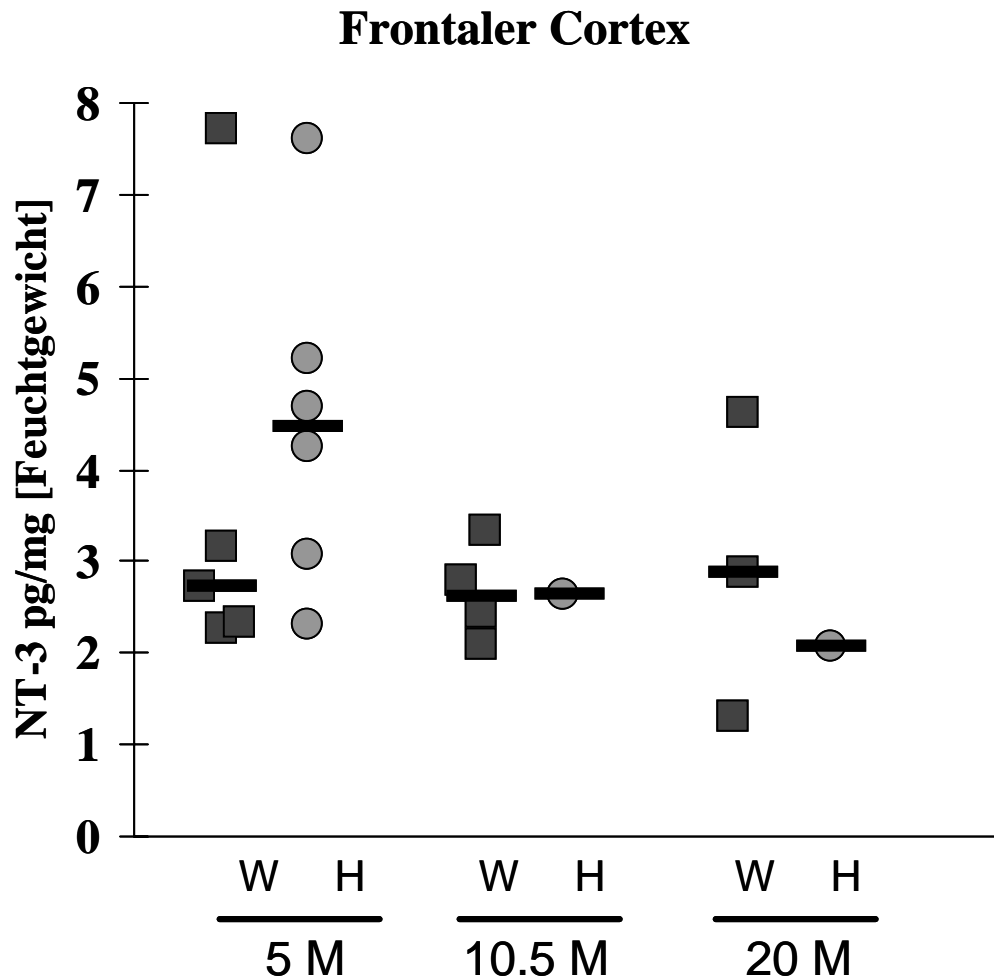


Abbildung 16: NT-3-Konzentrationen im Bereich des frontalen Cortex.

Bei der simultanen Betrachtung der drei Altersklassen im Bereich des frontalen Cortex wiesen weder die Messwerte bei den transgenen noch bei den Mäusen der Kontrollgruppe statistisch signifikante Unterschiede auf. Die Messwerte der hemizygoten transgenen Tiere fielen über 4,47 pg/mg bei den jungen auf 2,64 pg/mg bei den mittelalten und weiter auf 2,07 pg/mg bei den alten Tieren. Die Werte der Kontrollgruppe blieben relativ konstant, sie fielen von 2,72 pg/mg bei den Jungtieren auf 2,27 pg/mg bei den Tieren mittleren Alters, um dann auf 2,88 pg/mg bei den Alttieren zu steigen. Auch bei paarweiser Betrachtung der Altersgruppen und dem Vergleich der Genotypen innerhalb einer Altersgruppe ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

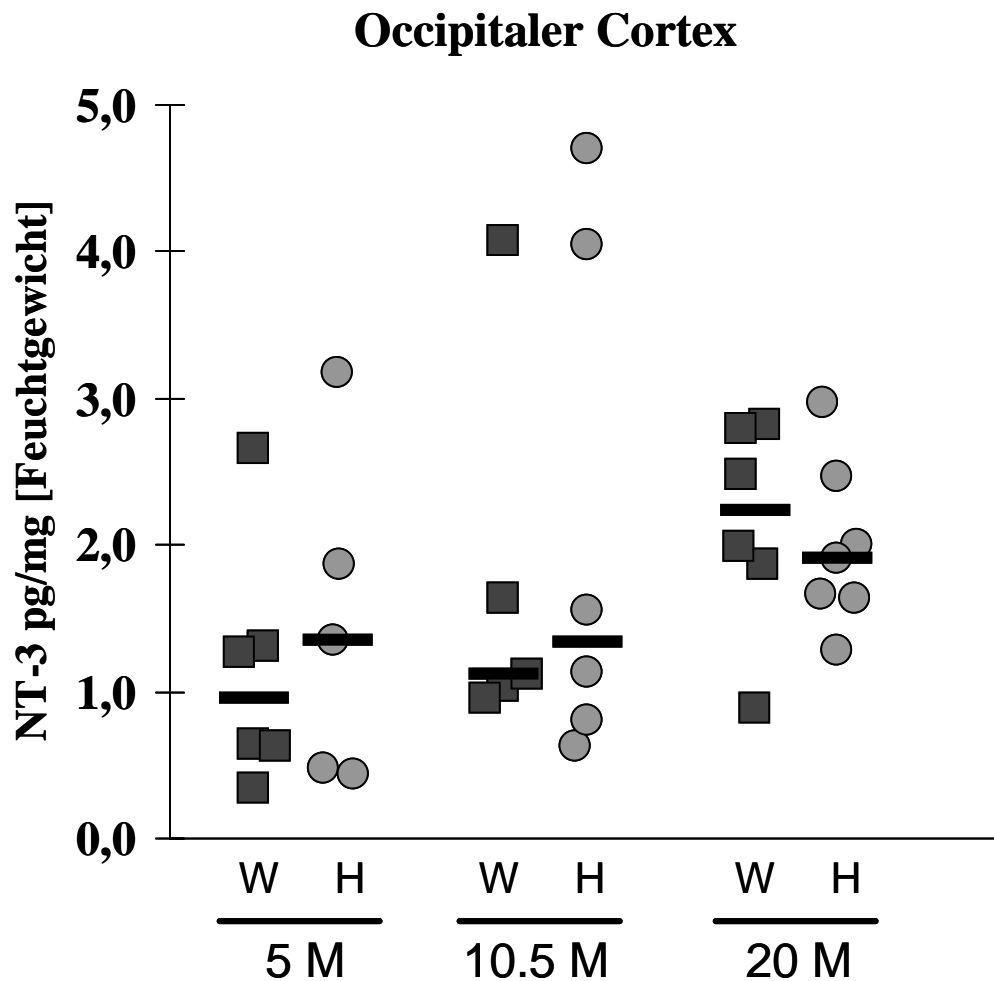


Abbildung 17: NT-3-Konzentrationen im Bereich des occipitalen Cortex.

Auch im Bereich des occipitalen Cortex waren bei der simultanen Betrachtung der drei Altersklassen weder bei den transgenen noch bei den Mäusen der Kontrollgruppe statistisch signifikante Konzentrationsänderungen festzustellen. Die Messwerte der hemizygoten transgenen Tiere veränderten sich kaum von den jungen mit 1,35 pg/mg zu den mittelalten Tieren mit 1,34 pg/mg, die Alttiere wiesen einen Median von 1,91 pg/mg auf. Die Werte der wildtypen Kontrollgruppe steigerten sich von 0,96 pg/mg bei den Jungtieren über 1,12 pg/mg bei den Tieren mittleren Alters auf 2,24 pg/mg bei den Alttieren. Auch bei paarweiser Betrachtung der Altersgruppen und dem Vergleich der Genotypen innerhalb einer Altersgruppe ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.