Aus dem Institut für Experimentelle Neurologie
des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin,
Berlin Buch

DISSERTATION

Aktivitätsabhängige Genregulation von Neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren am transgenen Alzheimer Mausmodell

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Kathrin Lehmann

aus Berlin

Datum der Promotion: 22.06.2014

Meinem Großvater,

Zahnarzt Friedrich Lehmann,

gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt ..... **IV**

Abstract ..... **VI**

Abkürzungsverzeichnis ..... **VII**

Abbildungsverzeichnis ..... **IX**

Tabellenverzeichnis ..... **X**

Vorwort ..... **XI**

1 Einleitung **1**

1.1 Die Alzheimer-Erkrankung 1

1.1.2 Die Bedeutung von Aβ-Peptid und neurofibrillären Bündeln für die Ausbildung einer Alzheimer-Demenz 4
1.1.3 Genetische Risikofaktoren 5
1.1.4 Umwelt- und Verhaltensbedingte Risikofaktoren 6
1.1.5 Therapiemöglichkeiten in der Alzheimer-Erkrankung 7
1.1.6 Aktivität als Prävention zur Alzheimer-Demenz 8

1.2 Der Hippocampus 9

1.2.1 Funktion des Hippocampus 10
1.2.2 Adulte hippocampale Neurogenese 11
1.2.3 Der Hippocampus in der Alzheimer-Demenz 13
1.2.4 Kognitive und neurogene Reserve. 13
1.2.5 Aktivität und adulte hippocampale Neurogenese 14

1.3 Die Alzheimer-Erkrankung im Tiermodell 15

1.3.1 Hippocampale Neurogenese im Tiermodell zur Alzheimer-Erkrankung 16
1.3.2 Aktivität (ENR und RUN) im Tiermodell zur Alzheimer-Erkrankung 17

1.4 Neurotrophe Faktoren und Wachstumsfaktoren 18

1.4.1 Nerve growth factor (NGF) 19
1.4.2 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 21
1.4.3 Neurotrophin-3 (NT-3) 22
1.4.4 Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) 23
1.4.5 Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) 23
1.4.6 Vascular endothelial growth factor-α (VEGF-α) 24

2 Ziele und Fragestellungen der vorliegenden Arbeit **26**

3 Material und Methoden **28**

3.1 Versuchstiere und experimentelles Design 28
3.2 RNA-Extraktion 29
3.3 Reverse Transkription 31
3.4 Primer-Design 33
3.5 Generierung des externen Standards 34

3.5.1 Gewinnung spezifischer Amplifikate mittels konventioneller PCR 35
3.5.2 Gelelektrophorese 36
3.5.3 Aufreinigen von DNA aus Agarosegelen 37
3.5.4 Quantifizierung der dsDNA 38

3.6 Standardvalidierung 38

3.6.1 Standardkurve 38
3.6.2 Temperaturgradient 40

3.7 mRNA-Quantifizierungen von endogenem APP, neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren mittels q-real-time-PCR 41
3.8 Statistik 42

4 Ergebnisse 43

4.1 Körperliche Aktivität (RUN) reduziert die endogene APP-Expression 43
4.2 Hippocampus-spezifische Regulationen von Neurotrophinen in reizreicher Umgebung (ENR) 44
4.3 Signifikanter Einfluss von körperlicher Aktivität (RUN) auf die Expression von FGF-2, NGF und BDNF 46
4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse 48

5 Diskussion 51

5.1 Endogene APP-Expression ist von außen beeinflussbar 51
5.2 Reizreiche Umgebung (ENR) stimuliert die Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im adulten Gyrus dentatus im Alzheimer-Demenz-Modell 52
5.3 Körperliche Aktivität (RUN) steigert die Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im Alzheimer-Demenz-Modell nicht 54
5.4 Reizreiche Umgebung (ENR) stimuliert adulte hippocampale Neurogenese auch im Alzheimer-Demenz-Modell 58
5.5 Klinische Anwendbarkeit: Schützen körperliche Aktivität und geistiges Training vor voranschreitender Neurodegeneration bei Alzheimer-Patienten? 61

6 Literaturverzeichnis 63

Curriculum Vitae 90

Publikationsliste 91

Eidesstattliche Versicherung 92

Danksagung 93

Abstrakt

Einleitung: Hauptsymptome einer Alzheimer-Erkrankung sind der Verlust von Nervenzellen und kognitiven Funktionen. Aufgrund ihrer essenziellen Bedeutung für den Erhalt von adulter Neurogenese und ihrer neuroprotektiven Wirkung stehen neurotrophe Faktoren und Wachstumsfaktoren im Blickpunkt der Forschung. Dies gilt auch für das an der Bildung und Funktion von Synapsen beteiligte und für die neuronale Plastizität bedeutsame APP. Epidemiologische Studien beweisen, dass Menschen mit physisch und mental „aktivem“ Leben ein verringertes Risiko aufweisen, an Alzheimer zu erkranken. In der alternden Maus hält Aktivität die hippocampale Plastizität und adulte hippocampale Neurogenese auf einem gleichsam „jüngeren“ Niveau. Aus Studien mit nicht transgenen Tieren sind die positiven Einflüsse von ENR und RUN auf die Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren und auf die adulte Neurogenese bekannt. In der vorliegenden Studie haben wir untersucht, ob gleiche Mechanismen in der Pathologie der APP23-Maus wirken.

Methodik: Weibliche APP23-Mäuse, die humanes APP_{751} mit der schwedischen Doppelmutation K670N/M671L unter der Kontrolle eines Thy1-Promoters exprimieren, lebten für die Zeit des Experimentes unter drei verschiedenen Untersuchungsbedingungen: ENR, RUN und CTR. In den untersuchten Hippocampi und Kortices dieser Tiere wurde die mRNA-Genexpression des endogenen APP sowie der neurotrophen Faktoren NGF, BDNF, NT-3 und der Wachstumsfaktoren FGF-2, IGF-1 und VEGF-α bestimmt und miteinander verglichen.

Ergebnisse: Die Expression von endogenem APP im Hippocampus und Kortex war unter RUN-Bedingungen im Vergleich zu CTR signifikant reduziert, wohingegen sich unter ENR-Bedingungen keine statistisch signifikante Regulation nachweisen ließ. In den ENR-Mäusen lag eine spezifisch erhöhte mRNA-Expression von Neurotrophinen im Hippocampus vor, während in den RUN-Mäusen eine unerwartet verringerte Regulation von Wachstumsfaktoren im Hippocampus und Kortex gemessen wurde.

Schlussfolgerung: Ich konnte in dieser Arbeit zeigen, dass in ENR und RUN sowohl neurotrophe Faktoren als auch Wachstumsfaktoren unterschiedlich reguliert wurden. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Vorteile von Langzeitaktivität abhängig von der Art der Aktivität sind. Als nachhaltiges Ergebnis unserer Arbeit ist festzustellen, dass

durch ENR auch in Alzheimer-Demenz-Pathologie ein neuroprotektives Milieu geschaffen werden kann. Dies liefert eine mögliche Erklärung auf molekularer Ebene, warum spezielle Trainingsprogramme bei Alzheimer-Patienten positive Auswirkungen auf die Gedächtnisleistung zeigen.

Abstract

Introduction: The main symptoms of Alzheimer's disease are the loss of neurons and cognitive functions. Neurotrophic factors and growth factors are in the focus of Alzheimer's research because of their neuroprotective effects. This also applies to the APP that is involved in the formation and function of synapses and is important for neuronal plasticity. Epidemiological studies have shown that people with physical and mental "active" life have a lower risk of developing Alzheimer's disease. In the aging mouse activity keeps the hippocampal plasticity and adult hippocampal neurogenesis at a "younger" level. From studies with non-transgenic animals positive effect of ENR and RUN on the production of neurotrophic and growth factors are known. In the present study we investigated whether the same mechanisms apply in the pathology of a rodent model for Alzheimer's disease.

Methods: Female APP23 mice that express human APP751 with the Swedish double mutation K670N/M671L under the control of a Thy1 promoter lived for the period of the experiment under three different test conditions: ENR, RUN and CTR. In the examined hippocampi and cortices of these animals, the mRNA expression of the endogenous APP, the neurotrophic factors, NGF, BDNF, NT-3, and the growth factors FGF-2, IGF-1 and VEGF-α were compared.

Results: The expression of endogenous APP in the hippocampus and cortex was in RUN compared to CTR significantly reduced, whereas under ENR conditions we could not detect statistically significant regulation. In the ENR mice we measured increased mRNA expression of neurotrophins in the hippocampus while in RUN mice growth factors were unexpectedly decreased in the hippocampus and cortex.

Conclusion: I was able to show that in ENR and RUN both neurotrophic factors and growth factors are differentially regulated. The results indicate that the advantages of long-term activity are dependent on the type of activity. As a sustainable result of our work is to be noted that a neuroprotective environment can be created by enriched environment also in an Alzheimer's disease pathology. This provides a possible explanation at the molecular level, why special training programs in Alzheimer's patients show positive effects on memory performance.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AChE	Acetylcholinesterasehemmer
AMPA	α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid precurser protein / Amyloid-Vorläuferprotein
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
Aβ	β-Amyloid
BDNF	Brain derived neurotrophic factor / Gehirnstämmiger neurotropher Faktor
Bp	Basenpaare
BrdU	Bromodeoxyuridine
bzw.	beziehungsweise
CA	Cornu Ammonis / Ammonshorn
Ca^{2+}	Calcium
cDNA	complementary Deoxyribonucleic acid / Komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CTR	Control / Kontrolle
C_T-Wert	Fluoreszens Schwellenwert
DCX	Doublecortin
DEPC	Diethylpyrocarbonate
DNA	Deoxyribonucleic acid / Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate
DTT	Dithiothreitol
dsDNA	doppelsträngige DNA
ENR	enriched environment / reizreiche Umgebung
ePP	externes Primerpaar
F	Forward-primer
FAD	Familiäre Form der Alzheimer-Demenz
FGF-2	Fibroblast growth factor-2 / Fibroblasten-Wachstumsfaktor-2
IGF-1	Insulin-like growth factor-1 / Insulinähnlicher Wachstumsfaktor-1
iPP	internes Primerpaar

IQWIG	Institut für Qualitätssicherung und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid / Boten-Ribonukleinsäure
n	Tieranzahl
NFT	Neurofibrillary tangles / Neurofibrillen
NGF	Nerve growth factor / Nervenwachstumsfaktor
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NT-3	Neurotrophin-3
NT-4/5	Neurotrophin-4/5
NT-6	Neurotrophin-6
NT-7	Neurotrophin-7
Oligo-dT	Oligodeoxythymidin
PBS	Phosphate buffered saline / Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PCR	Polymerase chain reaction / Polymerase-Kettenreaktion
PDGF	Platelet-derived growth factor
PS 1	Präsenilin 1
PS 2	Präsenilin 2
q real-time PCR	Quantitative real-time PCR
R	Reverse-primer
RNA	Ribonucleic acid / Ribonukleinsäure
RT	Reverse Transkription
RUN	Running / Körperliche Aktivität
s	Soluble / löslich
SimA	Selbstständig im Alter
SVZ	Subventrikuläre Zone
SGZ	Subgranuläre Zone
Trk	Tyrosinkinase
UV	Ultraviolett
VEGF-α	Vascular endothelial growth factor-α

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1a: Experimentelle Bedingungen in reizreicher Umgebung (ENR) – Equipment des ENR-Käfigs 29

Abbildung 1b: Experimentelle Bedingungen für körperliche Aktivität (RUN) – Maus im Laufrad 29

Abbildung 2: Endogene APP-Expression in Hippocampus und Kortex der APP23-Maus 44

Abbildung 3a: mRNA Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der APP23-Maus im Vergleich CTR und ENR 45

Abbildung 3b: mRNA Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Kortex der APP23-Maus im Vergleich CTR und ENR 46

Abbildung 4a: mRNA Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der APP23-Maus im Vergleich CTR und RUN 47

Abbildung 4b: mRNA Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Kortex der APP23-Maus im Vergleich CTR und RUN 48

Abbildung 5a: mRNA Expression des endogenen APP, neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der APP23-Maus 49

Abbildung 5b: mRNA Expression des endogenen APP, neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Kortex der APP23-Maus 50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1a: Materialien und Konzentrationen RT 31

Tabelle 1b: Reaktionsansatz RT, Schritt 1 32

Tabelle 1c: Reaktionsansatz RT, Schritt 2 32

Tabelle 1d: Reaktionsansatz RT, Schritt 3 32

Tabelle 2a: PCR-Primersequenzen, innere Primerpaare 33

Tabelle 2b: PCR Primersequenzen, externe Primerpaare 34

Tabelle 3a: Platinium® PCR SuperMix High Fidelity PCR 35

Tabelle 3b: Reaktionsansatz PCR 36

Tabelle 3c: Reaktionsprotokoll PCR 36

Tabelle 4a: Reaktionsansatz Standardkurve, Verdünnungsreihe 1 : 10 39

Tabelle 4b: Proben der Alzheimer-Demenz-cDNA 39

Tabelle 4c: Reaktionsprotokoll PCR- Standardkurve 39

Tabelle 5a: Reaktionsansatz Temperaturgradient 40

Tabelle 5b: Reaktionsprotokoll Temperaturgradient 40

Tabelle 6a: Reaktionsansatz Genexpressionsmessung, Verdünnungsreihe 1 : 10. 41

Tabelle 6b: Proben der hippocampalen und cortikalen Alzheimer-Demenz-cDNA 41

Tabelle 6c: Reaktionsprotokoll Genexpressionsmessung 42

Vorwort

Mit Beginn meiner Tätigkeit als Zahnärztin wurde mir klar, dass zunehmend mehr ältere Patienten sowie die steigende Anzahl alter Menschen mit Verhaltensveränderungen in einer zahnärztlichen Praxis zu behandeln sind. Ich finde es wichtig, sich als Zahnärztin auf demenzkranke Patienten, sowohl in der persönlichen Betreuung als auch in diversen Praxisabläufen, einzustellen. Hieraus entstand der Wunsch, meinen Wissensstand um demenzspezifisches Verhalten zu erweitern und auch an ursächlicher Forschung zum umfassenden Gebiet der Alzheimer-Demenz mitzuwirken.

Die vorliegende Arbeit entstand als Teil einer Studie an transgenen Alzheimermäusen, die 2006 unter dem Titel: *Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease* (Wolf und Kronenberg et al. 2006) veröffentlicht wurde.

Das Ergebnis dieser Untersuchung war, dass weibliche Mäuse, die eine mutierte Form des menschlichen Amyloid-Vorläuferproteins (APP) überexprimierten (APP23), unabhängig davon, ob ihr Lebensumfeld reizreich oder reizarm war, die gleiche Ausprägung von Amyloidplaques im Gehirn aufwiesen. Die Versuchsmäuse aus einer reizreichen Umgebung (ENR) zeigten in anschließenden Verhaltenstest jedoch eine bessere kognitive Leistung und eine gesteigerte adulte Neurogenese (Wolf und Kronenberg et al. 2006).

Um das oben beschriebene Phänomen auf molekularer Ebene zu untersuchen, habe ich die Frage „Wie beeinflussen ENR und körperliche Aktivität (RUN) die Expression neurotropher Faktoren, Wachstumsfaktoren und die des APP?“ ins Zentrum der vorliegenden Arbeit gestellt.

Für diese Fragestellung, die molekularbiologisch an transgenen Alzheimer-Mäusen untersucht werden soll, habe ich quantitative Polymerase-Kettenreaktion-(PCR)-Untersuchungen für neurotrophe Faktoren, Wachstumsfaktoren und APP in der Arbeitsgruppe Kempermann etabliert und durchgeführt.

1 Einleitung

Aufgrund der demografischen Entwicklung ist in den westlichen Industrieländern mit einer massiven Veränderung der Altersstruktur zu rechnen. Weil in unserer Gesellschaft der Anteil älterer Mitbürger zunehmen wird, ist auch von einer Zunahme Demenzkranker auszugehen. Genetische Faktoren und das Alter bergen die größten Risiken zu erkranken. In der Altersgruppe der 65- bis 69-Jährigen ist knapp über 1 % von einer Demenz betroffen. Im Alter von 80 bis 90 Jahren erkrankt dagegen schon fast jeder Dritte. Experten rechnen für das Jahr 2047 mit 2,7 Millionen Patienten in Deutschland (Weyer und Bickel 2007). Da sich die Alterspyramide verschiebt und sich dadurch die Prävalenz an Demenzerkrankungen erhöht, ist das Interesse an der Erforschung der Entstehung und Beeinflussung der Erkrankung in den letzten Jahren enorm gestiegen. Demenz ist bislang nicht heilbar. Derzeitige Therapien sind nur in der Lage, die Symptome der Erkrankung zu lindern.

1.1 Die Alzheimer-Erkrankung

Zu Beginn des letzten Jahrhunderts beschrieb der Arzt Alois Alzheimer erstmals eine Erkrankung des Gehirns, die mit einem fortschreitenden Verlust mentaler Fähigkeiten wie Gedächtnisschwund und Orientierungslosigkeit einhergeht und überwiegend bei Menschen höheren Alters beobachtet wird (Alzheimer 1907).

Die Alzheimer-Krankheit ist die häufigste Form der senilen Demenz (60 %), bei der das Gehirn in dramatischer Weise an Substanz verliert. Obwohl der Ablauf der Erkrankung bei jedem Alzheimer-Patienten sehr unterschiedlich ist, scheinen sich die Symptome über die gleichen Stadien zu entwickeln. Typische Anzeichen der strukturellen Degeneration treten im Gehirn zuerst in den Regionen des Hippocampus und in den parietalen Arealen auf und breiten sich im späten Stadium der Alzheimer-Demenz zum Assoziationskortex hin aus (vgl. Braak und Braak 1991, 1993).

Zu den neuropathologischen Kennzeichen der Erkrankung zählen die Anhäufungen von Amyloidplaques und das verstärkte Auftreten intrazellulärer neurofibrillärer Bündel (NFB) (vgl. Goedert et al. 1991). Die Ablagerung des Amyloid-β-(Aβ-)Peptides, als ein Hauptbestandteil der Amyloidplaques, gipfelt in neuronalen und synaptischen Dysfunktionen, Neurodegeneration und Demenz (Hardy und Higgins 1992; Selkoe 2002). Als

Folge der Neurodegeneration kommt es zu Veränderungen in verschiedenen Neurotransmittersystemen (Holzgrabe et al. 2007). Der Untergang cholinerger Neurone im Nucleus basalis Meynert im basalen Vorderhirn bewirkt fast überall im Kortex einen hochgradigen Mangel an Acetylcholin, das neben Glutamat ein wichtiger Neurotransmitter bei Lern- und Gedächtnisprozessen ist (Diehl und Kurz 2002).

Hierzu postulierten Hardy und Higgins erstmals 1992 die sogenannte Amyloid-Kaskaden-Hypothese der Alzheimer-Demenz, die auf den Erkenntnissen der familiären Formen der Erkrankung beruht (Hardy und Higgins 1992). Andere Studienergebnisse haben inzwischen eine entscheidene Rolle intrazellulärer Aβ-Ablagerungen sowie intrazellulärer Prozesse bei der Aβ-induzierten Alzheimer-Pathologie nachgewiesen (Schmitz et al. 2004). So formulierten Wirths und Mitarbeiter die modifizierte Amyloid-Kaskaden-Hypothese, in der die Rolle des intrazellulären Aβ-Peptides hervorgehoben wird. Gemäß dieser modifizierten Hypothese beginnt der neuropathologische Prozess der Alzheimer-Demenz mit einem intraneuronal erhöhten Spiegel des Aβ-Peptides (Wirths et al. 2004).

Die im Blickpunkt der Untersuchungen zur Alzheimer-Erkrankung stehenden Amyloidplaques bestehen aus einem stark verdichteten Amyloid-Proteinkern, umgeben von degenerierten Nervenendigungen. Das die Zellmembran durchspannende APP kommt in den meisten Gewebetypen des Menschen vor (Masters et al. 1985). Während der Entwicklung des Zentralen Nervensystems überschneiden sich eine erhöhte APP-Expression und neuronale Differenzierung (Hung et al. 1992). APP ist an der Bildung und Funktion von Synapsen beteiligt und spielt eine Rolle bei der neuronalen Plastizität (Aydin et al. 2011). Im gesunden adulten Gehirn wird das APP durch das Enzym α-Sekretase in lösliches (soluble) sAPP gespalten, das vom Körper abtransportiert werden kann. Interessanterweise ist dieses sAPP an der Zellproliferation beteiligt (Schmitz et al. 2002). Doch wie werden APP zu pathologischen Plaques, die eine Anhäufung von Aβ-Peptiden enthalten? Bei der Proteinspaltung des APP durch β- und γ-Sekretasen werden in neuronalen und nicht neuronalen Zellen Aβ-Peptide gebildet (Klafki et al. 1996). Sie variieren in ihrer Länge zwischen 39 und 42 Aminosäuren (Glenner 1992). Obwohl dabei zahlenmäßig die lösliche Aβ40-Form vorherrscht, ist das anteilig unterlegene (5 bis10 %), unlösliche und toxische Aβ42-Fragment Hauptbestandteil in den

Amyloidplaques. Dies führt extrazellulär zur Aggregation der charakteristischen Faltblattstruktur (Cummings und Cole 2002; vgl. Selkoe 2008).

Die Aβ-Peptide bewirken, so Ingram, eine Beeinträchtigung der neuronalen Schaltkreise, indem sie sich an α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure-(AMPA)-Rezeptoren anlagern, wodurch zu viel Calcium (Ca^{2+}) in die Zelle strömt und die Signalweiterleitung zwischen den Nervenzellen blockiert wird (Ingram 2005). Zeitlich und räumlich begrenzte Änderungen der intrazellulären Ca^{2+}-Konzentration steuern verschiedene Vorgänge, von der Neurotransmitterausschüttung über die Genexpression bis hin zur Funktion von Zellorganellen. Hält nun aber das Aβ-Peptid die Kanäle dauerhaft offen, bricht das gesamte System zusammen. Das führt dazu, dass die Zelle nicht mehr in der Lage ist, Neurotransmitter auszuschütten sowie auf äußere Reize zu reagieren; dies bewirkt schließlich die Unterbrechung des Informationsflusses im Gehirn. Da sich große Mengen von AMPA-Kanälen in den Zellen des Hippocampus und der Hirnrinde befinden – jenen Regionen, die für Gedächtnis und kritisches Denken unentbehrlich sind – machen sich solche Blockaden bei Alzheimer-Patienten als kognitive Beeinträchtigung bemerkbar (Ingram 2005).

Ahmad und Kollegen weisen in einer *In-vitro*-Studie nach, dass dieser Ca^{2+}-Überschuss innerhalb der Zelle zur Aggregation von Aβ42 führt, nicht jedoch zu einer Aggregation von Aβ40. Die Aβ42-Peptide agglomerieren zu Fibrillen und destabilisieren damit das Zellskelett, woraufhin die Zellen absterben (Ahmad et al. 2009).

Die ebenso im Fokus stehenden NFB lagern sich intrazellulär ab. Diese paarigen Filamente sind normale Bestandteile des mikrotubulären Zytoskeletts. Bestandteil dieser Filamente ist das Tau-Protein, das sich physiologisch an die Mikrotubuli des Zytoskeletts bindet und somit für die Zellstabilität und den axonalen Transport wichtig ist (Heinemann und Zerr 2007). Die krankhafte Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins führt zu einer gestörten Bindung an Mikrotuboli, wodurch es wiederum zu einer Zerstörung der Nervenzellen kommt (Heinemann und Zerr 2007).

1.1.2 Die Bedeutung von Aβ-Peptid und neurofibrillären Bündeln für die Ausbildung einer Alzheimer-Demenz

Die Bedeutung der beschriebenen neuropathologischen Kennzeichen für den Verlauf der Alzheimer-Erkrankung wird kontrovers diskutiert.

Alzheimer-Gehirne weisen im Durchschnitt eine höhere Konzentration von Aβ-Peptiden und NFB auf als gesunde ältere Gehirne oder Gehirne mit anderen neurodegenerativen Prozessen. Einerseits wiesen frühe Studien darauf hin, dass intra- und extrazelluläre Ablagerungen, selbst wenn sie in großen Mengen vorkommen, als unspezifische neuropathologische Marker der Demenz angesehen werden müssen. In frühen Untersuchungen wurde von Fällen berichtet, bei denen zwar eine große Dichte an Amyloidplaques im Gehirn nachgewiesen wurde, eine Alzheimer-Erkrankung aber nicht vorlag (Katzman et al. 1988; Snowdon 1997). Zum Anderen wurde bei Untersuchungen von Demenzpatienten eine Vielzahl von Plaques gefunden, NFB fehlten jedoch größtenteils oder sogar völlig (Terry et al. 1987). Ferner treten diese intrazellulären Ablagerungen nicht nur bei der Alzheimer-Demenz auf, sondern u. a. auch bei anderen neurologischen Erkrankungen mit unterschiedlicher Symptomatik, z. B. der Creuzfeldt-Jakob-Krankheit (Eurelings et al. 2010) und der frühen aggressiven Form der Multiplen Sklerose (Anderson et al. 2009).

Dennoch besteht weitgehend Einigkeit darüber, dass Aβ-Peptid und NFB an der Pathogenese der Alzheimer-Demenz beteiligt und mehr als nur unspezifische Marker sind (Braak et al. 2011; Wolfe 2007). So erklären Jan und Kollegen, dass die Aggregation und die fibrilliäre Formation des Aβ-Peptides ein zentrales Ereignis in der Entwicklung der Alzheimer-Demenz darstellt (Jan et al. 2008). Studien an Alzheimer-Patienten heben – im Gegensatz zur totalen Aβ-Menge – die Gewichtung des Aβ40/Aβ42-Verhältnisses als einen entscheidenden Marker für den Verlauf und den Schweregrad der Alzheimer-Erkrankung hervor (Bibl et al. 2006; Wiltfang et al. 2007). Jan und Mitarbeiter stellten das Ungleichgewicht zwischen Produktion und Abbau von Aβ-Peptid im Gehirn als grundlegend treibende Kraft in der Pathogenese der Alzheimer-Demenz dar (Jan et al. 2011).

Die Bedeutung der NFB wird von Attems und Mitarbeiter bestätigt, deren Ergebnisse zeigen, dass das Ausmaß der Tau-Pathologie im Gehirn sehr gut mit der klinischen Demenz korreliert (Attems et al. 2012). Auch bei der Untersuchung von Post-mortem-

Gehirnen von Alzheimer-Patienten verschiedener Stadien wird die Bedeutung der Tau-Pathologie hervorgehoben (Braak et al. 2011).

1.1.3 Genetische Risikofaktoren

In der Mehrzahl der Fälle stellt sich die Alzheimer-Demenz als multifaktorielle Erkrankung dar, bei der zwischen genetischen und umwelt- bzw. verhaltensbedingten Risikofaktoren unterschieden werden kann.

Bisher sind drei Gene bekannt, die für die früh auftretende, familiäre Form der Alzheimer-Demenz (FAD) verantwortlich sind (Tanzi et al. 1996). Dieser Form liegen die genetischen Mutationen im APP auf Chromosom 21 (Goate et al. 1991) sowie Mutationen des Präsenilin 1 (PS1) auf Chromosom 14 (Sherrington et al. 1995) und Präsenilin 2 (PS2) auf Chromosom 1 (Levy-Lahad et al. 1995) zugrunde. Ihnen gemeinsam ist die Auslösung einer pathophysiologischen Kaskade des APP, die die sequenzielle Spaltung durch die β- und γ-Sekretase begünstigt und zu einer erhöhten Produktion des Aβ-Peptides führt (Scheuner et al. 1996). Die Expression dieser mutierten Gene unterstützt außerdem die Aggregation und Ablagerung des Aβ-Peptides und verschiebt das Aβ40/Aβ42-Verhältnis in Richtung des toxisch wirkenden Aβ42-Fragments (Borchelt et al. 1996; Sherrington et al. 1995).

Bei der zahlenmäßig dominierenden, sporadischen Form der Erkrankung (SDAT) wird die vermehrte Amyloidablagerung auf Faktoren zurückgeführt, die den Abbau oder Transport des Proteins behindern. Am besten belegt sind diese Vorgänge beim Apolipoprotein E (ApoE). ApoE stellt den größten genetischen Risikofaktor für die SDAT dar (vgl. Bu 2009).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Bildung von Aβ-Peptid durch die Mutationen von APP, PS1 und PS2 erhöht werden kann. Eine Beteiligung von APP und Aβ-Peptid an der Alzheimer-Pathogenese ist in einer Vielzahl von Studien dokumentiert, auch wenn bisher nicht klar aufgezeigt wird, wie die Regulation abläuft.

1.1.4 Umwelt- und Verhaltensbedingte Risikofaktoren

Neben den genetischen spielen umwelt- und verhaltensbedingte Faktoren eine entscheidende Rolle für die Ausbildung einer Alzheimer-Demenz.

Mortimer berichtete, dass ein niedriger Bildungsstand einen Risikofaktor für die Alzheimer-Demenz darstellen könnte (Mortimer 1997). In der großen Shanghai-Studie wurde diese Vermutung bestätigt. Mehr als ein Viertel der untersuchten Alzheimer-Patienten erfuhr keinerlei Bildung (Hill et al. 1993). Ähnliche Ergebnisse fanden Moceri und Kollegen anhand ihrer Untersuchungen heraus. Ein geringerer sozioökonomischer Status und damit die schlechtere Entwicklungsmöglichkeit des Gehirns in der Kindheit und während der Pubertät begünstigt demnach das Risiko, an Alzheimer-Demenz zu erkranken (Moceri et al. 2000). Zusätzlich untersuchte ihre Arbeitsgruppe die Verbindung von umweltbedingten und genetischen Prädispositionen. Ihre Daten deuten darauf hin, dass Träger des ApoE4-Allels, die in einem sozial schwachen Milieu aufwuchsen, im Alter häufiger an der Alzheimer-Demenz erkrankten (Moceri et al. 2001).

Auch Snowdon und Markesbery zeigten mit den 1996 als „Nonnen-Studie“ publizierten Ergebnissen, dass sich die Anfälligkeit für Alzheimer-Demenz bereits in der frühkindlichen seelischen und neurophysiologischen Entwicklung ausbildet (Snowdon et al. 1996). Die Wissenschaftler hatten die Möglichkeit, 93 Nonnen im Alter von 75 und 96 Jahren mit quantitativen Demenztests zu untersuchen (Snowdon et al. 1996). Diese Ergebnisse setzten sie in Beziehung zu schriftlichen Aufsätzen, die die Novizinnen beim Eintritt ins Kloster hatten schreiben müssen. Die sprachanalytische Untersuchung der Aufsätze ergab, dass die an Demenz erkrankten Nonnen ca. 20-jährig sprachlich weniger umfassende Aufsätze geschrieben hatten (Snowdon et al. 1996).

Saczynski und Mitarbeiter fanden mit Untersuchungen der Honolulu-Studie heraus, dass Personen, die bereits im mittleren Lebensalter geringere soziale Kontakte pflegen, ein höheres Risiko hatten, an Alzheimer-Demenz zu erkranken (Saczynski et al. 2006).

Klinische und epidemiologische Studien brachten beachtliche Belege, dass ein physisch, mental und sozial aktives Leben das Risiko verringert, an einer Demenz zu erkranken (Ackermann und Oswald 2008; Chang et al. 2010; Colcombe et al. 2004a, b; Katzmann 1993; Kornhuber 2004; Link 2008; Rovio et al. 2005; Scarmeas et al. 2011; Snowdon et al. 1996; Wilson et al. 2002).

1.1.5 Therapiemöglichkeiten in der Alzheimer-Erkrankung

Noch ist die Medizin nicht in der Lage, das Fortschreiten der Alzheimer-Erkrankung ganz zu stoppen und eine kausale Therapie zu ermöglichen. Deshalb erstrecken sich die Anstrengungen der Alzheimer-Forschung neben der Identifikation und Beeinflussung von Risikofaktoren darauf, den Krankheitsverlauf zu verzögern und die Symptome zu mildern (Grüber A et al., unter: http://dgk.de/aiw/altern-in wuerde/aktuelles/was-hilft-bei-alzheimer-wirklich.html, abgerufen am 04.04.2012). Zumeist besteht das Problem darin, dass die Erkrankung erst bei bereits vorhandenen bzw. fortschreitenden neuronalen Zerstörungen diagnostiziert werden kann.

Medikamente mit auf Nervenbotenstoffe wirkenden Substanzen wie Acetylcholinesterasehemmer (AChE) und dem N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptorantagonist Memantine sind für die Alzheimer-Therapie geeignet. Durch AChE lässt sich eine Verbesserung der cholinergen Neurotransmission erreichen. Sie hemmen die Enzyme Acetylcholinesterase und Buterylesterase, die den Transmitter Acetylcholin hydrolysieren, wodurch ein Anstieg der Aktivität von Acetylcholin im Gehirn erreicht wird. Bei knapp 60 % der mit dem AChE-Wirkstoff Galantamin behandelten Patienten wurde die kognitive Leistungsfähigkeit verbessert (Forette und Hauw 2010). Memantine blockieren die schädigende Wirkung des Glutamats auf die Nervenzelle. Das Institut für Qualitätssicherung und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWIG) bestätigte 2011 die positive Wirkung von Memantine auf die kognitive Leistungsfähigkeit der behandelten Patienten (IQWiG, abgerufen am 25.09.2012). Die Behandlung mit Medikamenten ist insofern erfolgreich, als dass eine Verlangsamung des Krankheitsverlaufs und eine Verbesserung der Alltagsaktivitäten patientenabhängig erreicht werden kann.

In einem weiteren Ansatz auf molekularbiologischer Ebene versuchten Forscher die Entstehung des Aβ-Proteins im Gehirn zu verhindern oder die Peptidfragmente mithilfe des Immunsystems abzubauen (Ingram 2005). Mithilfe der aktiven Immunisierung konnten im Tierversuch große Erfolge erzielt werden. Bei Mäusen führte die Impfung mit Aβ-Peptiden zum Abbau der Amyloidablagerung im Gehirn der Tiere (vgl. Selkoe und Schenk 2003). Bei dem Versuch, Menschen mit diesem Impfstoff zu behandeln, kam es jedoch zu schweren Hirnhautentzündungen, sodass die Studie 2002 abgebrochen wurde (vgl. Schenk 2002). Die passive Immunisierung, bei der direkt die fertig produzierten Antikörper injiziert werden, konnten dagegen schon erfolgreich auf den Menschen über-

tragen werden. Von Dodel und Kollegen wurde 2010 die positive Wirkung der Behandlung bestätigt (vgl. Dodel et al. 2010). Bei geimpften Patienten wurde ein Rückgang der Aβ-Peptide im Gehirn beobachtet. Die Teilnehmer zeigten eine Verbesserung bzw. zumindest keine weitere Verschlechterung in kognitiven Leistungstests. Allerdings wird derzeit noch überprüft, ob diese Effekte auch bei einer größeren Patientenanzahl im gleichen Maße auftreten (vgl. Dodel et al. 2010).

Eine wachsende Zahl von Ergebnissen deutet darauf hin, dass ein gesunder, geistig und körperlich regsamer und geselliger Lebensstil die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Alzheimer-Demenz vermindern kann (Ackermann und Oswald 2008; Chang et al. 2010; Oswald und Ackermann 2009a, c; Scarmeas et al. 2011). Bei einem Therapieansatz auf körperlicher und kognitiver Ebene, sprechen Oswald und Mitarbeiter von einem wirkungsvollen Versuch zur Vorbeugung der Alzheimer-Demenz mit nicht medikamentösen Therapien (Ackermann und Oswald 2008). Seit 1991 forscht die Arbeitsgruppe am SimA-Trainingsprogramm (SimA = Selbstständig im Alter). Dabei handelt es sich um eine Therapieform, die die Lebensqualität der Patienten im Alter zu erhöhen vermag sowie die Pflegebedürftigkeit und Demenz hinauszögert. Bedingung dafür ist das ineinandergreifende Angebot von Gedächtnis- und psychomotorischem Training. SimA-Trainierte lebten nach einem Jahr Intensivtraining in den folgenden acht Jahren besser, d. h. es zeigten sich positive Effekte auf die funktionellen Fähigkeiten und die Aktivitäten des täglichen Lebens (Oswald und Ackermann 2009a, c).

1.1.6 Aktivität als Prävention zur Alzheimer-Demenz

Ein möglicher Faktor der Einflussnahme auf die Neurodegeneration in der Alzheimer-Demenz ist Aktivität. Gesichert ist, dass kognitive und körperliche Aktivität zu den wenigen Faktoren gehören, bei denen eine gewisse protektive Wirkung nachgewiesen ist.

Bereits in frühen Studien legten Katzmann und Kollegen den Einfluss der Bildung auf die Entwicklung und Ausprägung einer Demenz dar. Ihre Untersuchungen ergaben, dass Menschen mit Bildungsgrundlagen wie Lesen, Schreiben und Rechnen zwei- bis fünfmal seltener an Alzheimer-Demenz erkrankten, als Menschen ohne Schulbildung (Katzmann 1993).

Unabhängig vom Genotyp sind auch das soziale Umfeld, das Aufgehobensein in Beziehungen, Familie und Gemeinschaft wichtige schützende Aspekte gegen das Entstehen einer Demenz. Soziale Kontakte bedeuten geistige Anregung, und das wiederum scheint das Risiko für Gedächtnisverlust zu senken, wie eine Studie der Columbia Universität in New York ergab (Link 2008).

Chang und Mitarbeiter untersuchten in der Reykjavík-Studie über einen Zeitraum von 26 Jahren die Auswirkungen von physischer Aktivität im mittleren Lebensalter auf die kognitiven Funktionen im hohen Lebensalter. Die Ergebnisse der Studie bestätigen die Annahme, dass physische Aktivität im mittleren Lebensalter zum Erhalt der kognitiven Funktionen beitragen und das Risiko, im späteren Alter an Alzheimer-Demenz zu erkranken, verringern oder sogar verhindern kann (Chang et al. 2010). Einige Studien deuten darauf hin, dass physische Aktivität den kognitiven Verfall verlangsamen kann. So untersuchten Scarmeas und Kollegen den Zusammenhang zwischen physischer Aktivität und Alzheimer-Demenz an Probanden über 65 Jahren. Die Ergebnisse zeigen, dass physische Aktivität nicht nur das Risiko verringert, an Alzheimer-Demenz zu erkranken, sondern auch bei erkrankten Patienten die Überlebensdauer erhöht (Scarmeas et al. 2011).

Die biologische Basis für die Auswirkung der aktivitäts- und trainingsbedingten Plastizität auf das Gehirn ist bis heute noch weitestgehend unklar.

1.2 Der Hippocampus

Als Teil des Gehirns ist der Hippocampus in den Schläfenlappen beider Hirnhälften lokalisiert. Die Erkenntnis, dass der Hippocampus in der Demenz frühzeitig und stark beeinträchtig ist (Braak und Braak 1991), führten zu seiner besonderen Beachtung in der Alzheimer-Forschung.

In den 50er-Jahren des letzten Jahrhunderts zeigte sich bereits bei einer Reihe von Patienten die Bedeutung des Hippocampus für das Lernen und die Gedächtnisbildung (Bischofberger und Schmidt-Hieber 2006). Besondere Beachtung fand der Patient H. M., dem aufgrund einer lebensbedrohlichen Epilepsie im Alter von 27 Jahren der Hippocampus in beiden Gehirnhälften mikrochirurgisch entfernt wurde (Bischofberger und Schmidt-Hieber 2006). Dieser Eingriff führte bei sonst normaler Persönlichkeit des Pa-

tienten H. M. zu massiven Gedächtnisverlusten (Scoville und Milner 2000). Daraufhin ging die Wissenschaft der Frage nach, wie Gedächtnis gebildet und mit räumlichen und zeitlichen Gedächtnisinhalten verknüpft wird und wie neuronale Verschaltung erfolgt (Bischofberger und Schmidt-Hieber 2006).

1.2.1 Funktion des Hippocampus

Der Hippocampus spielt eine zentrale Rolle für das Lernen und für die Gedächtnisbildung. Er ist essenziell für die räumliche Orientierung und Erinnerung räumlicher Strukturen. In ihm fließen Informationen oder Gedächtnisinhalte verschiedener sensorischer Systeme zusammen, die für kurze Zeit gespeichert werden, um den Inhalt für das Langzeitgedächtnis im Kortex vorzubereiten. Damit ist er eminent wichtig für die Überführung von Gedächtnisinhalten aus dem Kurzzeit- in das Langzeitgedächtnis.

Die neuronale Verschaltung innerhalb des Hippocampus folgt einem charakteristischen synaptischen Schema in drei Subregionen: dem Gyrus dentatus und den Regionen CA3 und CA1 im Ammonshorn (Cornu Ammonis, CA). Der Tractus perforans vom entorhinalen Kortex bildet den Haupteingang zum Hippocampus (Anderson und Lomo 1966, Swanson et al.1978). Die ankommenden Axone innervieren Körnerzellschichten des Gyrus dentatus. Die Körnerzellen projizieren mit ihren Axonen zu den CA3-Pyramidenzellen und stellen den Moosfasertrakt dar. Die Schaffer-Kollateralen sind die Projektionsfasern der CA3-Pyramidenzellen in Richtung CA1-Pyramidalneuronen. Mithilfe dieser Neurone gelangen die neuronalen Signale wiederum über das Subiculum zurück zu den tieferen Schichten des entorhinalen Kortex (vgl. Gaarskjaer 1986).

Neuronale Plastizität beinhaltet sowohl Synaptogenese als auch die Reorganisation von Dendriten und die Bildung neuer Nervenzellen (Neurogenese). Die Stärke der synaptischen Übertragung und die neuronalen Verbindungen sind durch den Lernprozess modifizierbar (vgl. Bliss und Collingridge 1993). Bliss und Lomo haben in frühen Studien der Langzeitpotenzierung herausgefunden, dass eine kurzfristige funktionelle Veränderung eine langfristige strukturelle Veränderung bewirkt (Bliss und Lomo 1973). Eine wichtige Eigenschaft des Hippocampus ist die enorme Anpassungsfähigkeit seiner synaptischen Verbindungen. Damit wird er den Anforderungen gerecht, sich an neue Situationen, die ein Individuum erlebt, anzupassen und auch Gelerntes stabil wiederzugeben (vgl. Deadwyler et al. 1987).

Maguire und Mitarbeiter fanden durch morphometrische Untersuchungen eine Korrelation zwischen der Tätigkeit als Taxifahrer, die das Orientierungsvermögen schult, und dem Volumen des dorsalen Hippocampus (Maguire et al. 2000). Eine ähnliche Studie mit Medizinstudenten ergab ebenfalls eine räumliche und zeitliche Veränderung der hippocampalen Strukturen während intensiven Lernens über den Zeitraum von drei Monaten (Draganski et al. 2006).

Erickson und Kollegen zeigten, dass auch körperliche Bewegung zu einer messbaren Volumenzunahme des Hippocampus und zu einer Verbesserung der Hippocampus-abhängigen Lern- und Gedächtnisleistung führt (Erickson et al. 2011).

Somit steuern geistige und körperliche Aktivität messbare Veränderungen in der grauen Substanz des Hippocampus und im neuronalen Netzwerk (Markham und Greenough 2004). Diese Veränderungen sind nicht allein durch im Erwachsenenalt neu gebildete Nervenzellen (adulte Neurogenese) erklärbar, dazu ist die Zahl der neuen Nervenzellen zu gering. Sie zeichnen aber den Hippocampus als eine Region ganz außerordentlicher „struktureller“ Plastizität aus. Dabei ist die Besonderheit der Fähigkeit zur Neurogenese ein wesentlicher Teil der Anpassungsfähigkeit.

1.2.2 Adulte hippocampale Neurogenese

Der Hippocampus enthält eine von zwei Regionen im Gehirn, in der adulte Neurogenese stattfindet (Das und Altman 1970; Kaplan und Hinds 1977; Sierra et al. 2011). Diese sogenannte neurogene Region im Hippocampus ist die Subgranuläre Zone (SGZ) im Gyrus dentatus (Cameron et al. 1993; van Praag et al. 2002). Die zweite neurogene Region liegt in der Subventrikulären Zone (SVZ) – Bulbus olfactorius (Alvarez-Buylla und Nottebohm 1988; Lois und Alvarez-Buylla 1993). In einem komplexen Prozess findet in diesen neurogenen Regionen die Reifung und Differenzierung aus neuronalen Stammzellen statt, die zum Überleben und zur Integration adulter funktionaler Zelltypen in das jeweilige neuronale Netzwerk beitragen (Kempermann et al. 2004; Zhao et al. 2008).

Die ursprünglich von Kempermann aufgestellte Einteilung der Reifung neuronaler Zellen in der SGZ des Gyrus dentatus umfasst sechs verschiedene Entwicklungsstadien (Kempermann et al. 2004). In der subgranulären Zone des Hippocampus kommen die Typ-1-Zellen vor, die höchstwahrscheinlich die neuronalen Stammzellen repräsentieren

(Seri et al. 2001). Ihre Nachkommen sind hochproliferierende Typ-2a-Zellen, die Markerproteine unreifer Nervenzellen wie Nestin tragen und in das nächste Stadium neuronaler Vorläuferzellen vom Typ-2b-Zellen übergehen (gleichzeitige Expression von Doublecortin und Nestin-negativen) (Kronenberg et al. 2003). Diese Zellen verändern ihre Morphologie und wandern eine kurze Distanz in die Körnerzellschicht hinein, wo sie als Typ-3-Zellen (nur noch Expression von Doublecortin) bezeichnet werden und ihren letzten Teil der neuronalen Reifung absolvieren (Expression von Calbindin – Calretinin und schließlich NeuN als reife neuronale Marker) (Brandt et al. 2003; Kuhn, et al. 1996; Mullen et al. 1992). In den Typ-2b- und Typ-3-Stadien (Expression von Doublecortin) sind die Vorläuferzellen besonders empfänglich für positive und negative Stimuli (Plümpe et al. 2006). In diesem Stadium gehen die meisten Zellen durch programmierten Zelltod zugrunde, sodass nur eine ausgewählte geringe Population der ursprünglich gebildeten Vorläuferzellen das postmitotische Stadium erreicht. Nachdem sie den Zellzyklus verlassen haben, senden – gesteuert durch synaptischen Input – diese neuen Neurone ihre Axone für eine funktionelle Verbindung mit der CA3-Region aus und verstärken somit den Moosfasertrakt im Hippocampus (Hastings und Gould 2003; Markakis et al. 2004; Stanfielt und Trice 1988; Zhao et al. 2006). Die neuen Neurone benötigen einen Zeitraum von vier bis sieben Wochen, um sich ganz in das Netzwerk des Gyrus dentatus zu integrieren (Jessberger et al. 2005; van Praag et al. 2002). Ihre dauerhafte Integration in das lokale Netzwerk erlaubt nachhaltige Anpassungsvorgänge. Somit unterstützt adulte Neurogenese wichtige Aspekte des Lernens (Arruda-Carvalho et al. 2011; Burghardt et al. 2012; Garthe et al. 2009).

Verschiedene Faktoren regulieren die Neurogenese. Zu den positiven Regulatoren der adulten Neurogenese zählen sowohl körperliche, als auch kognitive Aktivitäten (Fabel und Kempermann 2008). In frühen Studien erbrachten van Praag und Kempermann den Beweis, dass die Rate der neugebildeten Zellen im Hippocampus durch Verhaltensänderungen wie ENR (Kempermann et al. 1997, 1998) und RUN erhöht werden kann (van Praag et al. 1999).

Als stärkster bekannter negativer Faktor für die Neurogeneserate wurde das Alter identifiziert (Eriksson et al. 1998; Seki und Arai 1995). Ebenso wirken akuter und chronischer Stress direkt negativ auf die Zellproliferation in der SGZ (Mirescu und Gould 2006; Joëls et al. 2007).

Wenn die adulte Neurogenese verringert ist, kann dies zu unterschiedlichen kognitiven Defiziten führen, wie sie bei neurodegenerativen Erkrankungen wie z. B. der Demenz auftreten (vgl. Lazarov et al. 2010; vgl. Mu und Gage 2011).

1.2.3 Der Hippocampus in der Alzheimer-Demenz

In der Alzheimer-Forschung findet der Hippocampus besondere Beachtung, da er in der Alzheimer-Demenz frühzeitig stark beeinträchtigt ist.

Im Verlauf der Alzheimer-Demenz finden schon früh ein selektiver, regionaler Synapsenverlust (Masliah et al. 2001) und Neuronenverlust in Gehirnen von Alzheimer-Patienten statt (Coleman und Yao 2003). Von allen Regionen des Gehirns sind der Hippocampus und der angrenzende entorhinale Kortex besonders früh und stark vom Neuronenverlust betroffen (Wirths et al. 2004). Kril und Mitarbeiter fanden eine starke Korrelation zwischen der Neuronenanzahl und dem Gehirn- bzw. Hippocampusvolumen, was sie vermuten ließ, dass die hippocampale Atrophie bei der Alzheimer-Demenz das Ergebnis des Neuronenverlustes darstellt (Kril et al. 2004). Es wurde herausgefunden, dass die Atrophie zuerst in den hippocampalen Regionen CA1 und CA2 auftritt und frühe kognitive Beeinträchtigungen bewirkt (Apostolova et al. 2010; Thompson et al. 2007; Wang L et al. 2003). Aus diesem Grund bevorzugen Mueller und Kollegen die Untersuchung der CA1-2-Regionen zur Diagnose der frühen Form der Alzheimer-Demenz im Gegensatz zur Messung des Gesamtvolumens des Hippocampus (Mueller et al. 2010).

1.2.4 Kognitive und neurogene Reserve

Ein hohes Bildungsniveau verringert das Risiko, an Alzheimer-Demenz zu erkranken und bringt den Hinweis, dass eine stimulierende Umwelt positive Wirkung auf die mentale Gesundheit hat. Die Beobachtung, dass die klinische Ausprägung der Alzheimer-Erkrankung sehr variieren kann und keine direkte Verbindung zwischen den neuropathologischen Erscheinungsformen hinsichtlich des Ausbruchs und dem Fortschreiten der Erkrankung besteht, führten Katzmann als Ersten zu der Hypothese der kognitiven Reserve (Katzmann 1993). Katzmann und weitere Forscher stellten die These auf, dass das Vorhandensein von Bildung und Intelligenz eine Art kognitive Reserve und Schwelle darstellt, die das Auftreten der Alzheimer-Demenz erschwert (Cummings et al. 1998; Katzmann 1993; Scarmeas und Stern 2003; Stern 2006). Die Theorie der kognitiven

Reserve bietet damit eine Erklärung, warum z. B. im Falle einer neurodegenerativen Erkrankung die neuropathologischen Schäden keine enge Korrelation zu einer funktionalen Schädigung zeigen (Fratiglioni et al. 2004). Das Modell der kognitiven Reserve beschreibt die Diskrepanz verschiedener Individuen, unterschiedlich auf Pathologien zu reagieren, und beinhaltet die Hypothese, dass durch gezieltes kombiniertes Training des Gedächtnisses das „aktive“ Gehirn die bestehende Pathologie besser kompensieren kann (Staff et al. 2004).

Kempermann geht zusätzlich von einer neurogenen Reserve aus (Kempermann 2008). Im Hippocampus werden im Erwachsenenalter neue Nervenzellen aus Stammzellen gebildet. Die Theorie der neurogenen Reserve basiert auf der Annahme, dass die adulte Neurogenese in Abhängigkeit von körperlichen und erfahrungsbedingten Stimuli in der Jugend stattfindet. Durch kontinuierliche Aktivität wird das Potenzial für adulte Neurogenese aufrechterhalten und schafft dadurch einen Pool von potenziell rekrutierbaren Neuronen, die eine stetige Anpassungsfähigkeit des hippocampalen Netzwerks erlauben (Kempermann 2008). Die adulte Neurogenese bewirkt im Hippocampus ein Potenzial für lebenslange kognitive Flexibilität und Anpassungsfähigkeit (Kempermann et al. 2010).

1.2.5 Aktivität und adulte hippocampale Neurogenese

Das Modell der ENR ist durch sensorische Stimuli, soziale Erfahrungen, körperliches und kognitives Training gekennzeichnet (van Praag et al. 2000). Hebb beschrieb als Erster die kognitiven Auswirkungen von komplexer Umgebung auf die – von seinen Kindern als „Haustiere“ gehaltenen – Ratten (Hebb, 1947). Bereits in frühen Studien zeigte ENR eine insgesamt erhöhte Neurogeneserate (Kempermann et al. 1997; van Praag et al. 1999). Es ist inzwischen allgemein akzeptiert, dass Verhaltensänderungen wie das Leben in ENR und RUN die Rate der hippocampalen Neurogenese erhöhen (Kempermann et al. 1997, 1998; van Praag et al. 1999). Diese Steigerungen sind für eine verbesserte Ausführung verschiedenster kognitiver Tests verantwortlich (Kempermann 2008). Die aktivitätsabhängige Steigerung der Neurogeneserate wird auf unterschiedlichen Wegen erreicht. Während RUN den primären Effekt auf die Proliferation der Vorläuferzellen erhöht (Kronenberg et al. 2003, Steiner et al. 2004), fördert ENR das Überleben neugebildeter Nervenzellen und verstärkt damit die Neurogenese in der SGZ des Gyrus dentatus im Hippocampus von Mäusen (van Praag et al. 1999). In bisherigen

Studien der Arbeitsgruppe von Kempermann wurden deutliche Einflüsse von ENR (ohne Laufrad) und RUN auf die aktivitätsabhängige Regulation von adulter hippocampaler Neurogenese gefunden (Brandt et al. 2003; Ehninger und Kempermann 2003; Kronenberg et al. 2003; Steiner et al. 2004), obwohl die Neurogeneserate im Alter physiologisch abnimmt (Kuhn et al. 1996, Kempermann et al. 1998). Kronenberg und Kollegen konnten zeigen, dass kontinuierliche Aktivität (RUN) dem altersbedingten Rückgang der Proliferation der Vorläuferzellen im Hippocampus entgegenwirkt (Kronenberg et al. 2006), wobei jedoch keine Erhöhung der Neurogenese selbst erreicht wurde. Fabel und Kollegen untersuchten daraufhin, ob die durch RUN ausgelöste Vorläuferzellproliferation auch zu einer gesteigerten Neurogenese führt, wenn die Mäuse anschließend einer kognitiven Stimulation, also ENR, ausgesetzt werden. Seine Studie zeigt, dass die Kombination aus RUN und ENR einen additiven Effekt auf die adulte hippocampale Neurogenese hat (Fabel et al. 2009). Diese beiden Studien belegen, dass auch im Alter die Kombination der Aktivitätsmodelle eine Steigerung der Neurogenese im Hippocampus erzielen kann.

1.3 Die Alzheimer-Erkrankung im Tiermodell

Da immer mehr Menschen an Alzheimer-Demenz erkranken, ist die Grundlagenforschung auf diesem Gebiet in den letzten Jahrzehnten gefördert worden. Aus ethischen und praktischen Gründen wird vorwiegend auf Tiermodelle zurückgegriffen.

Aufgrund der beim Menschen auftretenden FAD, die mit APP- und PS1/2-Genveränderungen einhergeht, wurden transgene Mausstämme mit Alzheimer-ähnlicher Pathologie und Alzheimer-ähnlichen Symptomen gezüchtet (Borchelt et al. 1997; Jankowsky et al. 2002; Rozmahel 2002; Sturchler-Pierath et al. 1997; van Leuven 2000). Diese transgenen Mausmodelle reproduzieren pathologische Läsionen der Erkrankung und erlauben den Wissenschaftlern so, krankheitsbedingte Verhaltensänderungen während der Alzheimer-Demenz zu untersuchen. In den transgenen Mausstämmen treten während des Alterungsprozesses, abhängig von der Art der Mutation, zu unterschiedlichen Zeitpunkten und in unterschiedlicher Dichte Amyloidablagerungen im Zentralnervensystem auf.

Für die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit, wurde mit transgenen APP23-Mäusen gearbeitet, die humanes APP751 mit der schwedischen Doppelmutation K670N/M671L

unter der Kontrolle eines Thy1-Promoters exprimieren (Sturchler-Pierath et al. 1997). Das APP23-Mausmodell besitzt eine der Haupteigenschaften der Alzheimer-Demenz beim Menschen, nämlich den typischen Neuronenverlust (vgl. Sturchler-Pierrat und Staufenbiel 2000). Mit stereologischen Methoden wurde bei den transgenen Mäusen im Alter von 14 bis 18 Monaten ein hippocampaler Neuronenverlust in der CA1-Region des Hippocampus ermittelt (Calhoun et al. 1998). Die Ursache des Neuronenverlustes blieb jedoch unklar. Die Mäuse wiesen ab einem Alter von ungefähr sechs Monaten typische Aβ-Ablagerungen auf (Bornemann et al. 2001), die sich mit zunehmendem Alter bis zu siebenfach erhöhten (Calhoun et al. 1998, Bondolfi et al. 2002). Im APP23-Modell korreliert der Neuronenverlust mit den Plaqueablagerungen. Ferner lässt sich bei weiblichen Mäusen eine höhere Anzahl an Plaques finden (vgl. Sturchler-Pierrat und Staufenbiel 2000). Auch konnte eine fortschreitende, altersabhängige Schädigung des kognitiven Verhaltens beobachtet werden (Lalonde et al. 2002, Kelly et al. 2003, Van Dam et al. 2003, Dumont et al. 2004). Zudem beschrieben Phinney und Kollegen ein abweichendes axonales Wachstum sowie Astro- und Mikrogliose in der mittleren Plaqueumgebung in Kortex und Hippocampus (Phinney et al. 1999).

1.3.1 Hippocampale Neurogenese im Tiermodell zur Alzheimer-Erkrankung

In einer frühen *In-vitro*-Studie mit Vorläuferzellen unterbrach die Aβ-Zugabe die neuronale Zellteilung (Haughey et al. 2002). Kuhn bestätigte diese Aussagen für *In-vivo*-Modelle und stellte fest, dass in den meisten APP- und APP/PS1-Mausmodellen die Zellteilung reduziert ist (Kuhn et al. 2007). In einer früheren tierexperimentellen Studie, berichten Jin und Kollegen von einer gesteigerten Neurogeneserate in der transgenen PDGF-(Platelet-derived growth factor-)$APP_{Sw, Ind}$-Maus im Hinblick auf die Zellteilung und die Überlebensrate der Zellen (Jin et al. 2004a). Weitere Studien unterstreichen diese gesteigerte Neurogeneserate an den Mausmodellen PDGF-$APP_{Sw, Ind}$ und $APP_{Sw, Ind}$ (Gan et al. 2008; Lopez-Toledano und Shelanski 2007). Im Gegensatz dazu wurde in Alzheimer-Studien, die auf dem PS1-Transgen basieren, von einer geminderten adulten hippocampalen Neurogeneserate berichtet (Wen et al. 2004; Zhang et al. 2007). Unsere eigene Studie zeigte, dass aktivitätsabhängig eine Steigerung der Neurogenese ebenfalls im APP23-Modell möglich war (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Mirochnic und Kollegen bestätigten die gesteigerte Neurogenese im APP23-Modell im

Vergleich mit Wildtyp-Mäusen und fanden zusätzlich eine durch kognitive Aktivität verstärkte Neurogeneserate in der SGZ des Gyrus dentatus und eine erhöhte Anzahl überlebender Zellen (Mirochnic et al. 2009). Die Neurogeneserate wird auch am doppelttransgenen Mausmodell aktivitätsabhängig erhöht (Catlow et al. 2009; Herring A et al. 2009).

Diese Studien zeigen, dass die Verbindung zwischen hippocampaler Neurogenese und Alzheimer-Demenz kontrovers zu sehen ist. Vergleichbare Aussagen sind daher schwer zu treffen. Gesichert ist, dass humane Transgene, wie APP und PS1/2, die Neurogenese in Alzheimer-Demenz-Modellen beeinflussen.

1.3.2 Aktivität (ENR und RUN) im Tiermodell zur Alzheimer-Erkrankung

Als Folge neuronaler und synaptischer Dysfunktionen, verursacht durch Aβ-Peptid und NFB, kommt es während der Alzheimer-Erkrankung zu kognitiven Verlusten. Veröffentlichungen machen deutlich, dass ENR im Tiermodell auf die Bildung von Plaques und die kognitiven Fähigkeiten wirkt (Arendash et al. 2004; Costa et al. 2007; Hu et al. 2010; Jankowsky et al. 2003, 2005; Mirochnic et al. 2009; Lazarov et al. 2005). Es ist darauf hinzuweisen, dass unterschiedliche Tiermodelle verschiedene Reaktionen bezüglich der Plaquebildung und der kognitiven Funktionen zeigen. Jankowsky und Kollegen bewerteten die Wirkung von ENR am doppelt transgenen Mausmodell (PS1dE9/ APPK670/M671L) der Alzheimer-Demenz. In den Untersuchungsergebnissen bewirkte ENR eine vermehrte Bildung von Aβ-Peptid und verbesserte die Lernfähigkeit (Jankowsky et al. 2003; 2005). Arendash und Kollegen berichten von verbesserter kognitiver Funktion in Verbindung mit gleichbleibenden Aβ-Ablagerungen nach Langzeit-ENR bei betagten transgenen APP_{sw}-Mäusen (Arendash et al. 2004). Lazarov und Mitarbeiter stellten bei der Untersuchung eines weiteren doppelt transgenen Mausstammes (APPswe/PS1dE9) fest, dass ENR die Aβ-Konzentration und Ablagerung reduzieren können (Lazarov et al. 2005). In einer weiterführenden Studie wurde die Reduktion von sAβ-Oligomeren schon nach einem Monat ENR bestätigt (Hu et al. 2010).

In allen genannten Studien waren Laufräder Bestandteil von ENR. Daher kann keine klare Aussage über den Einfluss von RUN auf die beobachteten Ergebnisse getroffen werden. In der vorliegenden Studie wurden die unterschiedlichen Auswirkungen der Untersu-

chungsbedingungen ENR (ohne Laufrad) und RUN (mit Laufrad) auf die Pathologie der Alzheimer-Demenz im Tiermodell untersucht (Wolf und Kronenberg et al. 2006).

In zahlreichen nicht transgenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass ENR und RUN die Produktion von die Neurogenese beeinflussenden neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren bewirken (Adlard et al. 2005a, 2011; Carro et al. 2001; Fabel et al. 2003, Farmer et al. 2004; Gomez-Pinilla et al. 1997; Griesbach et al. 2004; Ickes et al. 2000; Llorens-Martin et al. 2010; Marlatt et al. 2012; Neeper et al. 1995; Pham et al. 1999a, b; Trejo et al. 2001, 2008; van Praag et al. 2000; Vedovelli et al. 2011). Daraus folgend wurde die Untersuchung der Einflüsse von ENR und RUN auf die Genexpression von endogenem APP und verschiedener neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im APP23-Mausmodell durchgeführt.

1.4 Neurotrophe Faktoren und Wachstumsfaktoren

Die Bezeichnung „Neurotrophine“ ist für die heute bekannten sechs verschiedenen neurotrophen Faktoren NGF (Nerve growth factor), BDNF (Brain derived neurotrophic factor), NT-3 (Neurotrophin-3), NT-4/5 (Neurotrophin-4/5), NT-6 (Neurotrophin-6) und NT-7 (Neurotrophin-7) reserviert. Die biologischen Prozesse und ihre zellulären Effekte vermitteln sie über die Aktivierung der hochaffinen Tyrosinkinase-(Trk-)Rezeptoren und über die niedrigaffinen p75-Rezeptoren aus der Gruppe der Tumor-Nekrose-Faktoren-Rezeptoren (Kaplan und Miller 2000). Hierzu sind drei verschiedene Trk-Rezeptoren bekannt TrkA, TrkB und TrkC (Middlemas et al. 1991). Im Hinblick auf neuronale Zellen binden die Neurotrophine vornehmlich an einen speziellen Trk-Rezeptor. NGF bindet an TrkA (Klein et al. 1991), BDNF und NT-4/5 binden an TrkB (Ip et al. 1993) und NT-3 an TrkC (Rodriguez-Tebar et al. 1992, vgl. Barbacid 1995).

Neurotrophe Faktoren, wie NGF, BDNF und NT-3 sind dadurch charakterisiert, dass sie sowohl für die neuronale Neubildung, als auch für Umbildungsprozesse an Nerven verantwortlich sind (Hennigan et al. 2007). Sie haben einen regulierenden Einfluss auf neuronale Prozesse im heranwachsenden und adulten Gehirn. Ein Mangel an den notwendigen Neurotrophinen führt zur Auslösung von Apoptose (vgl. Lewin und Barde 1996).

Wachstumsfaktoren sind lösliche Peptide, die als zelluläres Produkt sezerniert werden. Ihre spezifische Bindung an zellmembranständige Rezeptoren hat ein biologisches Si-

gnal zur Folge (Waltenberger et al. 2001). Je nach Wachstumsfaktor können diese Signale die Zellteilung und Migration, die Expressionsmuster von Genen oder die Differenzierung der Zielzelle beeinflussen (Waltenberger et al. 2001). Die Wachstumsfaktoren FGF-2 (Fibroblast growth factor 2), IGF-1 (Insulin-like growth factor 1) und der VEGF-α (Vascular endothelial growth factor-α) wurden neben den oben genannten neurotrophen Faktoren (NGF, BDNF, NT-3) in der vorliegenden Untersuchung betrachtet.

Alle diese Faktoren sind wichtige Ansatzpunkte für die Therapie neurodegenerativer Krankheiten wie der Alzheimer-Demenz und ihrer pathologischen Merkmale, da ihre Produktion eine Voraussetzung für kognitive Steigerung zu bedingen scheint (Egan et al. 2003; Figurov et al. 1996; Gomez-Pinilla et al. 2008; Kiyota et al. 2011; Laske und Eschweiler 2006; Levi-Montalcini et al. 1996; Llorens-Martin et al. 2010; Tanaka et al. 2008; Trejo et al. 2008; Tuszynski 2000; vgl. Minichiello 2009). Zudem können neurotrophe Faktoren und Wachstumsfaktoren im gesunden und erkrankten Gehirn positiv das Wachstum und die Differenzierung von Stamm- und Vorläuferzellen regulieren und damit adulte Neurogenese beeinflussen (Aberg et al. 2003; Babu et al. 2007; Castellanos et al. 2003; Hennigan et al. 2007; Jin et al. 2000; Kiyota et al. 2011; Kuhn et al. 1997; Palmer et al. 1995, 1999; Rai et al. 2007; Schanzer et al. 2004; Segi-Nishida et al. 2008; Trejo et al. 2001, 2008).

1.4.1 Nerve growth factor (NGF)

NGF wurde als erster Faktor in den 50er-Jahren aus der Reihe der Neurotrophine entdeckt. Er wird physiologisch im Hippocampus und Kortex synthetisiert und zu den cholinergen Zellkörpern des basalen Vorderhirns transportiert (Hefti et al. 1989; Lewin und Barde 1996). Die höchsten Konzentrationen des NGF-Proteins sind im Hippocampus, Kortex und Bulbus olfactoris zu finden (Pitts and Miller 2000). Im Hippocampus wird NGF unter anderem durch die Zellen im Bereich der CA2- und CA3-Region, des Gyrus dentatus und der Körnerzellschicht erzeugt (Pascual et al. 1998; Pitts and Miller 2000).

NGF wird zur Aufrechterhaltung unterschiedlichster zellulärer Funktionen benötigt und ist für die Entwicklung und das Überleben sympathischer und sensorischer Neurone verantwortlich (Hellweg et al. 1998a; Levi-Montalcini et al. 1996; Thoenen et al. 1987). Störungen in der NGF-Synthese und im NGF-Transport können mit Blick auf Erkrankungen pathophysiologisch bedeutsam sein (Hellweg 1992).

Hefti fand heraus, dass NGF eine besonders ausgeprägte schützende Wirkung auf die Nervenzellen hat, die den Überträgerstoff Acetylcholin erzeugen (Hefti 1994). Da das Absterben cholinerger Neurone im basalen Vorderhirn bei der Alzheimer-Demenz tiefgreifende Folgen für die gesamte Informationsverarbeitung im Gehirn hat und an der Entstehung der Gedächtnisstörungen beteiligt ist (Whitehouse et al. 1982; Mufson und Kordower 1989), rückte NGF zunehmend in das Interesse therapeutischer Ansätze. In einem Therapieansatz zu neuroprotektiven Strategien von Tuszynski und Kollegen konnte nach Injektion von NGF eine erhöhte Expression des Faktors im basalen Vorderhirn der Probanden nachgewiesen werden (Tuszynski et al. 2005).

Bei Alzheimer-Patienten wird die NGF-Synthese kontrovers diskutiert. Einerseits berichtet Peng von einem erhöhten Spiegel des Vorläuferproteins des aktiven NGF während des präklinischen Stadiums der Alzheimer-Demenz (Peng et al. 2004). Gestützt wird diese These durch die Untersuchungen von Alzheimer-Patienten, bei denen eine Hochregulation des NGF-Systems dokumentiert werden konnte (Hellweg et al. 1998a; Hörtnagel und Hellweg 1997). In Unterstützung für einen pathologisch veränderten axonalen Transport von NGF in den Neuronen in der Alzheimer-Demenz wurde durch Scott und Kollegen gezeigt, dass erhöhte Mengen von NGF-Protein in den kortikalen Gebieten mit verringerten Mengen des Proteins im basalen Vorderhirn verbunden waren (Scott et al. 1995). Die frühzeitig und stark auftretende Degeneration von hippocampalen und cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns könnte auf die neurotoxische Interaktion von Aβ-Peptiden und NGF zurück zuführen sein (Yankner et al. 1990). Andererseits konnten Studien keine veränderte Genexpression von NGF bei Alzheimer-Patienten dokumentieren (Goedert et al. 1989; Fahnestock et al. 1996).

In tierexperimentellen Studien zeigten Versuche an Ratten, dass NGF das Überleben und die Funktion cholinerger Neurone verbessert und kognitive Defizite vermindert (Levi-Montalcini et al. 1996; Tuszynski 2000). Die Expression von NGF wird durch RUN und ENR im nicht transgenen Tiermodell verstärkt (Ickes et al. 2000; Neeper et al. 1995; van Praag et al. 2000). Weiterführende Studien mit Ratten dokumentierten, dass das Leben in ENR die Genexpression von NGF im Hippocampus steigert und damit eine Anhebung des Proteinlevels von NGF bewirkt (Pham et al. 1999; vgl. Pham et al. 2002). Castellanos beschreibt den positiven neuro-restaurativen Effekt im Gehirn alter Ratten nach intraventrikulärer Injektion von murinem NGF (Castellanos et al. 2003).

1.4.2 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

Da auch BDNF in die neuronale Entwicklung involviert ist, wurde er als zweiter Faktor der Gruppe der Neurotrophine untersucht (Lewin und Barde 1996). BDNF ist im Organismus ubiquitär vorhanden und somit im Zentralen Nervensystem, als auch in peripheren Organen und im Blut nachweisbar (Knaepen et al. 2010; Murer et al. 2001). BDNF haftet an der Zelloberfläche. Hohe Konzentrationen an BDNF wurden im Hippocampus und im Kortex gemessen (Murer et al. 2001), wobei die Konzentrationen des BDNF-Proteins im Alter sinken (Ziegenhorn et al. 2007).

BDNF und sein Rezeptor TrkB stellen sich als Schlüsselmoleküle bei der Neurogenese im Hippocampus dar (vgl. Ernst et al. 2006) und modulieren somit die Gehirnplastizität (Laske und Eschweiler 2006). Ebenso groß ist ihre Bedeutung bei dem Signalweg der Langzeitpotenzierung und der synaptischen Plastizität während des Lernens (Figurov et al. 1996; Laske und Eschweiler 2006; vgl. Minichiello 2009; Tanaka et al. 2008).

BDNF steigert entscheidend die Überlebens- und Regenerationsrate aller davon betroffenen Neuronentypen (Murer et al. 2001). BDNF wirkt unter anderem auf hippocampale, neocorticale, sensorische sowie cholinerge Neurone des Septums und des basalen Vorderhirns (Lindholm et al. 1996; Henderson et al. 1993; Knusel et al. 1991).

Ein Mangel an BDNF führt zu funktionellen Veränderungen der Neuronen (Nanobashvili et al. 2005). Eine Mutation des BDNF-Gens beeinflusst die Sekretion von BDNF im Hippocampus (Egan et al. 2003) und steht in Beziehung zu einer geringeren Serumkonzentration (Ozan et al. 2010). Diese Mutation beeinflusst die aktivitätsabhängige Sekretion von BDNF und steht somit im Zusammenhang mit Gedächtnisleistung und hippocampaler Funktion (Egan et al. 2003). In Studien wurde gezeigt, dass bei jungen gesunden Erwachsenen BDNF nach körperlicher Aktivität verstärkt freigegeben wird (Seifert et al. 2010).

Für die Pathogenese der Alzheimer-Demenz ist BDNF ein wesentliches Regulationsmolekül auf molekularer Ebene.

Klinisch konnte eine geringere BDNF-Konzentration in den Gehirnen von Alzheimer-Patienten dokumentiert werden (Peng et al. 2005; Conour et al. 1997; Fahnenstock et al. 2002), wobei Phillips dies speziell im Hippocampus nachwies (Phillips et al. 1991).

Ebenso ist der BDNF-Spiegel im Serum bei Alzheimer-Demenz-Patienten reduziert (Laske et al. 2007; Yasutake 2006). Dieser erniedrigte BDNF-Spiegel lässt sich durch körperliche Aktivität verändern und führt zu einem transienten Anstieg der BDNF-Konzentration im peripheren Blut (Knaepen et al. 2010). Ein erhöhter BDNF-Serumspiegel weist auf einen verlangsamten negativen Verlust bei Alzheimer-Demenz-Patienten hin (Laske et al. 2011).

In zahlreichen tierexperimentellen Studien konnten die Wirkungen von BDNF nachgewiesen werden. Es wurde gezeigt, dass sich Aktivität, ENR und RUN, förderlich auf die Bildung von BDNF auswirkt (Adlard et al. 2005a; 2011; Berchtold et al. 2010; Falkenberg et al. 1992; Farmer et al. 2004; Marlatt et al. 2012; Neeper et al. 1995). BDNF könnte für die auslösenden Effekte von RUN auf die Langzeitpotenzierung verantwortlich sein (Farmer et al. 2004) sowie für die synaptische Plastizität (Vaymann et al. 2004). Gomez-Pinilla und Mitarbeiter unterstützen diese Theorie, da sie zeigen konnten, dass BDNF die Effekte von Aktivität auf die Kognition vermittelt (Gomez-Pinilla et al. 2008). Die Steigerung von Lernprozessen bei Versuchstieren in RUN könnte auf das erhöhte Level von BDNF zurückgeführt werden (Adlard et al. 2011; Berchtold et al. 2010). Neurogenese kann durch die Infusion von BDNF in den Ventrikel induziert werden (Pancea et al. 2001). Eine viral ausgelöste Überexpression von BDNF bewirkt ebenso Neurogenese in der SVZ (Henry et al. 2007).

In-vitro-Untersuchungen bestätigten, dass BDNF ein Faktor für Differenzierungsfunktionen ist und z. B. eine verringerte Vorläuferzellproliferation bewirkt (Babu et al. 2007). In einer weiterführenden Studie konnte Babu zeigen, dass die Ausschüttung des BDNF aus hippocampalen Neuronen für die Anregung der neuronalen Differenzierung verantwortlich ist (Babu et al. 2009).

1.4.3 Neurotrophin-3 (NT-3)

NT-3 wird vom Hippocampus gebildet und zu den cholinergen Zellkörpern des basalen Vorderhirns transportiert. *In vitro* wurde belegt, dass NT-3 die neuronale Differenzierung von adulten hippocampalen Vorläuferzellen erhöht (Babu et al. 2007). NT-3 fördert hippocampale Plastizität sowie Lernen und Erinnern durch die Regulierung der Neurogenese (Shimazu et al. 2006). Ein Mangel an NT-3 verursachte Defizite bei der Differenzierung von neuronalen Vorläuferzellen und führte zu Ausfällen im räumlichen Lernen,

während die Anwesenheit von NT-3 die Expression von BDNF erhöhte (Schütte et al. 2000). Für das weniger erforschte NT-3 wurden bis jetzt gleichbleibende oder gesunkene Konzentrationen bei Alzheimer-Patienten gefunden (Narisawa-Saito et al. 1996). Die Bedeutung von NT-3 für die Alzheimer-Erkrankung muss in künftigen Forschungsarbeiten genauer geklärt werden.

1.4.4 Fibroblast growth factor-2 (FGF-2)

FGF-2 ist sowohl ein extrazellulärer Wachstumsfaktor als auch ein Protein, das innerhalb des Zellkerns vorkommt. FGF-2 blockiert apoptotische Vorgänge an Nervenzellen und hat damit Einfluss auf das Überleben von Zellen (Okada-Ban et al. 2000). In der Angiogenese ist er ein wichtiger Faktor, da er das Wachstum und die Reaktionsfähigkeit von Astrozyten unterstützt. Physische Aktivität bewirkt eine gesteigerte neuronale Aktivität und eine erhöhte Synthese von FGF-2 im Hippocampus (Gomez-Pinilla et al. 1997).

FGF-2 begünstigt neuronale Differenzierung. Kuhn konnte durch die intrazerebroventrikuläre Applikation des Wachstumsfaktors FGF-2 die Neurogenese im adulten Rattengehirn stimulieren (Kuhn et al. 1997). Hierbei wurde eine Erhöhung der Neurogenese im olfaktorischen System, nicht jedoch im Hippocampus festgestellt (Kuhn et al. 1997). In Tierexperimenten mit älteren Tieren löste die intrazerebroventrikuläre Infusion von FGF-2 die Proliferation und Neurogenese in der SGZ aus (Jin et al.2003; Rai et al. 2007). Durch *In-vitro*-Studien wurde die unterstützende Wirkung von FGF-2 auf die Bildung von hippocampalen neuronalen Vorläuferzellen bestätigt (Babu et al. 2007; Palmer et al. 1995, 1999). Ebenso führte die durch einen in den Hippocampus injizierten Virus erhöhte FGF-2-Produktion in einem murinen APP/PS1-Modell zu einer Verbesserung der kognitiven Leistung und Erhöhung der Neurogeneserate (Kiyota et al. 2011).

1.4.5 Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)

Mit zunehmender Erkenntnis über den Bildungsprozess des Aβ-Peptides im Gehirn lässt sich vermuten, dass der IGF-1 und Insulin, die die Aβ-Peptidabgabe von Nervenzellen stimulieren, pathologisch am Prozess der Alzheimer-Demenz beteiligt sind (Carro und Torres-Aleman 2004).

Bei nicht transgenen Tieren wurde IGF-1 als starker Vermittler sowohl beim aktivitätsabhängigen Schutz von Neuronen (Carro et al. 2001) als auch bei der Hochregulation der adulten Neurogenese ermittelt (Trejo et al. 2001). Wenn IGF-1 peripher oder intrazerebroventrikulär injiziert wurde, erhöhten sich die Proliferation und die Nettoneurogeneserate im Gyrus dentatus von Ratten (Aberg et al. 2000, 2003; Lichtenwalner et al. 2001). Es ist allgemein bekannt, dass IGF-1 die Vorläuferzellproliferation und die Zahl neuer Neuronen sowie die Blutgefäße im Gyrus dentatus des Hippocampus erhöht (vgl. Aberg 2010).

IGF-1 spielt eine entscheidende regulatorische Rolle bei der Vermittlung von positiven Effekten durch RUN auf räumliches Lernen, Angstverhalten und Neurogenese (Trejo et al. 2008; Llorens-Martin et al. 2010). Gleichzeitig wird er als ein schützender neurotropher Faktor bei *In-vivo*- und *In-vitro*-Modellen der Alzheimer-Demenz beschrieben (Carro und Torres-Aleman 2004; Niikura et al. 2001; Freude et al. 2009).

1.4.6 Vascular endothelial growth factor-α (VEGF-α)

VEGF-α ist ein wichtiges Signalmolekül, dessen Bildung durch Hypoxie ausgelöst wird. Da ein klinisches Symptom der Alzheimer-Demenz die verringerte Hirndurchblutung ist (Alegret et al. 2012; Tonini et al. 2003), stand VEGF-α im Interesse dieser Arbeit. Bekannt ist, dass VEGF-α sowohl die Vaskulogenese an endothelialen Vorläuferzellen als auch die Angiogenese mittels VEGF-Rezeptor Typ1 und Typ2 an Endothelzellen reguliert (Yla-Herttuala et al. 2007). VEGF-α hat eine wichtige Funktion bei der Gefäßentwicklung im Gehirn und erzielt dort an Neuronen neuroprotektive Effekte (Jin et al. 2000; Ogunshola et al. 2002). Yang und Kollegen konnten zeigen, dass VEGF-α gleichzeitig mit dem Aβ-Peptid bei der Alzheimer-Demenz auftritt (Yang et al. 2004). Andere Studien dokumentierten eine verringerte Freisetzung von VEGF-α bei Alzheimer-Patienten (Solerte et al. 2005) sowie eine geringere Freisetzung von VEGF-α bei Patienten der milden Form der Alzheimer-Demenz im Vergleich mit gesunden älteren Menschen (Luppi et al. 2009).

Klinische und tierexperimentelle Studien belegen, dass VEGF-α mit hippocampalen Funktionen und hippocampaler Neurogenese im Alter mit RUN und ENR verknüpft ist (Cao et al. 2004; Fabel et al. 2003; Schanzer et al. 2004; During and Cao 2006). Kru-

cker und Mitarbeiter deckten bei ihren Untersuchungen von Nagetieren mit Alzheimer-Demenz-ähnlicher Pathologie die altersabhängigen Änderungen der Durchblutung und Anomalitäten von Gefäßen im Gehirn auf (Krucker et al. 2004). Die Erhöhung von VEGF durch die Implantation von VEGF-exprimierenden Zellen führte im Tierexperiment mit APP/PS1-Tieren zu erhöhter Neurogenese und Angiogenese (Antequera et al. 2012).

2 Ziele und Fragestellungen der vorliegenden Arbeit

Die Alzheimer-Demenz beeinflusst als neurodegenerative Erkrankung in verschiedener Weise den Hippocampus und den zerebralen Kortex. Hier treten die frühesten neuropathologischen Läsionen auf, die in der Alzheimer-Demenz zu kognitiven Symptomen wie Gedächtnisstörungen führen. Daher besteht großes Interesse an der Untersuchung des Hippocampus von transgenen Alzheimer-Mäusen. In der vorliegenden Arbeit liegt der Fokus auf Untersuchungen zum Einfluss von körperlichen und geistigen Aktivitäten auf den Verlauf der Alzheimer-Demenz sowie ihrem möglichen Einsatz als vorbeugende und therapeutische Faktoren.

Ausgangspunkt hierzu sind die Feststellungen, dass Alzheimer-Demenz mit Plaqueablagerungen, also mit Neuronenverlust, im Hippocampus einhergeht und dass im Gehirn lebenslang aus Stammzellen Neuronen gebildet werden können. Bei gleicher Plaqueansammlung in den Gehirnen von APP23-Mäusen zeigten Tiere der ENR-Bedingung eine bessere Lernleistung im Test zur räumlichen Orientierung (Morris-Water-Maze-Test) als Tiere der RUN-Umgebung (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Folglich kann davon ausgegangen werden, dass trotz einer Alzheimer-Pathologie durch ENR die Neurogenese stimuliert werden kann.

Tierexperimentelle Studien belegen, dass Aktivität (ENR und RUN) einen positiven Einfluss auf die hippocampale Produktion von, die Neurogenese beeinflussenden, neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren ausübt.

Daher sollen im Rahmen dieser Arbeit aus der molekularbiologischen Analyse des Hippocampus und des Kortex transgener APP23-Mäuse Rückschlüsse auf neurologische Basisaspekte im Gehirn gezogen und Aussagen über aktivitäts- und trainingsbedingte Abhängigkeiten getroffen werden. In der vorliegenden Arbeit wird die Regulation von endogenem APP, den neurotrophen Faktoren NGF, BDNF, NT-3 und den Wachstumsfaktoren, FGF-2, IGF-1 und VEGF-α im APP23-Mausmodell untersucht. Es soll geprüft werden, inwieweit die Untersuchungsbedingungen ENR und RUN eine Auswirkung auf die Expression von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren haben. Das Interesse ist u. a. damit begründet, dass ENR das Modell für die biologische Umsetzung

der kognitiven oder neurogenen Reservekapazität beim Menschen im Tiermodell ermöglicht.

Für die durchzuführende Studie wird postuliert, dass im APP23-Modell ENR und RUN die Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der Tiere erhöhen.

Um diese Hypothese zu prüfen, wird die mRNA-Konzentrationen des endogenen APP sowie der neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren BDNF, NGF, NT-3, FGF-2, IGF-1und VEGF-α im Hippocampus und Kortex der APP23-Tiere bestimmt und verglichen. Dazu ist es notwendig, eine Methode zur Untersuchung und Auswertung der Genexpression zu etablieren und anzuwenden, mit der die mRNA-Expression von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren in der APP23-Maus bestimmt werden kann.

In der Studie zu dieser Arbeit sollen folgende offene Fragen untersucht werden:

1. Welchen Einfluss üben ENR und RUN auf die Expression von endogenem APP im APP23-Modell aus?
2. Stimuliert ENR die hippocampale Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren in Hippocampus und Kortex im APP23-Modell der cerebralen Amyloidopathie?
3. Stimuliert RUN die hippocampale Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren in Hippocampus und Kortex im APP23-Modell der cerebralen Amyloidopathie?
4. Stimmen die Ergebnisse der Genexpression mit denen der morphologischen und kognitiven Untersuchungen an den gleichen APP23-Mäusen überein?

3 Material und Methoden

Die durchgeführten Untersuchungen umfassen die im Folgenden dargestellte Gewinnung von Ribonukleinsäure (RNA) aus dem Hippocampus und dem Kortex der Gehirne von APP23-Tieren, sowie ihre Aufbereitung. Um die Genexpression von endogenem APP sowie der neurotrophen Faktoren NGF, BDNF, NT-3 und Wachstumsfaktoren FGF-2, IGF-1 und VEGF-α bewerten zu können, entwickelte ich in meiner Arbeitsgruppe ein neues Verfahren. Meine molekularbiologischen Untersuchungen schlossen an denen von Dr. Susanne Wolf und Prof. Dr. Golo Kronenberg, ehemals Arbeitsgruppe Prof. Dr. Gerd Kempermann des MDC-Berlin Buch, durchgeführten histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen an den APP23-Mäusen an.

3.1 Versuchstiere und experimentelles Design

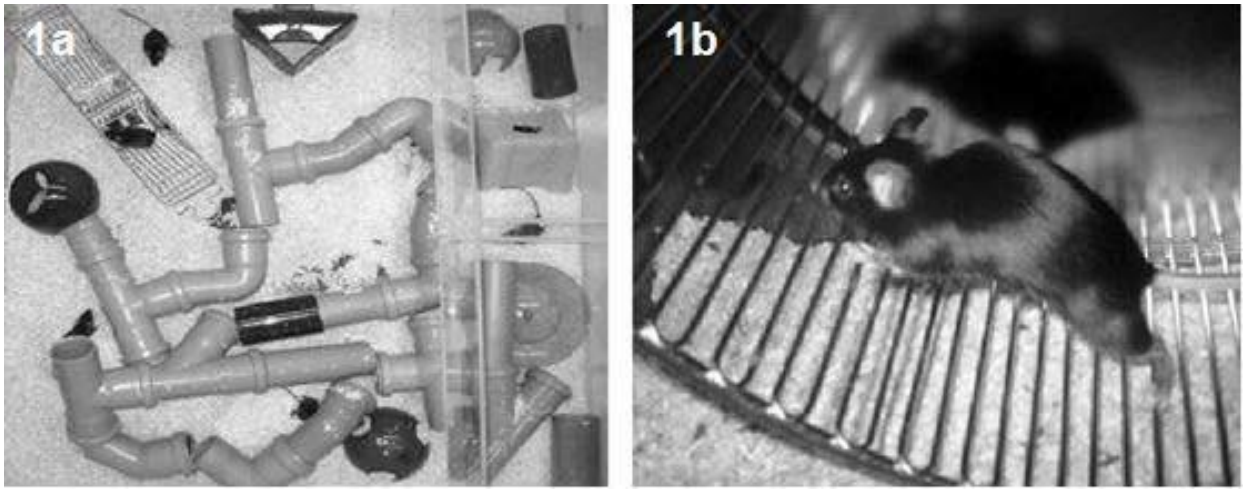
Für die durchgeführten Untersuchungsreihen wurden transgene APP23-Mäuse verwendet, die humanes APP751 mit der schwedischen Doppelmutation K670N/M671L unter der Kontrolle eines Thy1-Promoters exprimieren. Die Generierung der Mäuse erfolgte gemäß Sturchler-Pierrat (Sturchler-Pierrat et al. 1997).

Dreißig weibliche Tiere wurden nach dem Zufallsprinzip gleichmäßig auf die unterschiedlichen Untersuchungsbedingungen ENR, RUN und CTR (ohne Laufrad und reizreicher Umgebung) aufgeteilt. Zu Beginn des Experiments waren die Tiere zehn Wochen alt. Die zehn Mäuse der Umgebung ENR lebten, vergleichbar mit früheren Studien (van Praag et al. 2000), in geräumigen Käfigen mit zu Tunnelsystemen angeordneten Kunststoffröhren, als Wippe umgebauten Metallbestandteilen, Papphäusern und Plastikbällen (Abb. 1a). Die Gruppe der zehn Mäuse in der Umgebung RUN lebte in Käfigen mit der Möglichkeit, ein Laufrad (Abb. 1b) beliebig zu nutzen. Die zehn Mäuse der Gruppe CTR lebten in kleinen Käfigen ohne Laufrad, Spielgegenstände oder Tunnelsystemen.

Die Zahl der überlebenden APP23-Mäuse in den drei Untersuchungsbedingungen ENR, RUN und CTR betrug am Ende des Experiments sechs Tiere der CTR-, sechs Tiere der ENR- und sieben Tiere der RUN-Bedingungen. Im Alter von elf Monaten erfolgten durch Frau Dr. Susanne Wolf und Kollegen die Verhaltenstests mittels Morris-Water-Maze-Test zur Überprüfung der räumlichen Orientierung und Fitness im Rotarod. Mit zwölf

Monaten erhielten alle Mäuse an fünf aufeinander folgenden Tagen eine tägliche Bromodeoxyuridine-(BrdU-)Injektion (50 mg/kg Körpergewicht; Sigma). Alle Mäuse wurden im selben Raum mit zwölfstündig wechselnden Hell- und Dunkelphasen zur Simulation der Tagesrhythmik untergebracht. Wasser und Trockenpellets erhielten sie ad libitum. Wöchentlich wurden die Tierkäfige gereinigt und die Mäuse mit neuer Streu versorgt. Das Tierprotokoll war vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin zugelassen (TVA G 0321/00).

Drei Wochen nach der BrdU-Injektion wurden die Tiere anästhesiert, perfundiert und eine Hemisphäre des Gehirnes für immunhistochemische Versuche aufbereitet. Von den verbleibenden anderen Hemisphären wurde durch Frau Dr. Susanne Wolf der Hippocampus mithilfe eines Zeiss-Stereomikroskops isoliert und anschließend mit den restlichen Kortices in RNA-Later (Qiagen-GmbH, Hilden, Deutschland) gelagert und bei −80 °C bis zur RNA-Extraktion gefroren.



Abbbildungen 1a und 1b: Experimentelle Bedingungen für die Untersuchungen transgener Mäuse 1a) links: reizreiche Umgebung (ENR) – Equipment des ENR-Käfigs (Techniplast, Hohenpleißenberg, Deutschland); 1b) rechts: körperliche Aktivität (RUN) – APP23-Maus im Laufrad

3.2 RNA-Extraktion

Aus Hippocampus und Kortex wurde die Gesamt-RNA mit dem RNeasy® Lipid Tissue Kit (Qiagen-GmbH, Hilden, Deutschland) isoliert. Dafür kam ein System aus Wasch- und Trennsäulen mit verschiedenen Pufferlösungen zur Anwendung.

Die zu isolierenden Proben wurden in 1,5 ml Reaktionsgefäßen mit 1 ml QIAzol Lyse Reagenz (Qiagen-GmbH, Hilden, Deutschland) aufbewahrt und dort mittels des Homogenisators 20 bis 40 Sekunden homogenisiert. Nach dem Ruhen der Proben für 5 Minuten bei Raumtemperatur wurde nach Zugabe von 200 µl Chloroform die Mischung 15 Sekunden geschüttelt und erneut bei Raumtemperatur zur Phasenauftrennung 2 bis 3 Minuten ruhen gelassen. Nach dem Zentrifugieren (bei 4 °C für 15 Minuten) mit einer Geschwindigkeit von 12.000 × g schloss sich eine Weiterverarbeitung der entstandenen oberen Phase an. Diese RNA enthaltende Phase wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt, mit 600 µl Ethanol (70 %) aufgefüllt und geschüttelt.

Für die folgenden Extraktionsschritte wurde das Material bei 8.000 × g 15 Sekunden lang zentrifugiert. Die RNA wurde durch Pipettieren von 700 µl der Probe in ein sauberes RNeasy Mini-Spin-Röhrchen mit anschließender Zentrifugation gebunden. Dies wurde mit größeren Probenmengen wiederholt, die Überstände wurden verworfen. Zum Waschen der Probe wurden 700 µl des RW1-Puffers pipettiert, erneut zentrifugiert und der Inhalt des RNeasy Mini-Spin-Röhrchens in ein neues 2-ml-Sammelröhrchen gegeben. Ein zweiter Waschschritt schloss sich unter Zugabe von 500 µl des Puffers RPE und folgender Zentrifugation an. Das erneute Pipettieren von 500 µl des RPE-Puffers und das Zentrifugieren für 2 Minuten bewirkte ein nochmaliges Waschen und Reinigen bzw. Trocknen der Membran. Die Abkürzungen der Puffer RW1 und RPE aus dem Extraktionskit stammen vom Hersteller. Die genaue Zusammensetzung ist nicht bekannt.

Für die abschließende Elution wurde auf das Membran-Röhrchen 30 µl RNAse-freies Wasser (Qiagen-GmbH, Hilden, Deutschland) pipettiert und 1 Minute zentrifugiert. Um größere Mengen der RNA zu gewinnen, erfolgte eine zweifache Wiederholung dieses Schrittes. Mit diesem Arbeitsschritt war die RNA-Extraktion abgeschlossen.

Da zwei hippocampale RNA-Extraktionen fehlschlugen, reduzierte sich die auswertbare Anzahl der Tiere (n) mit Hippocampusproben auf n = 5 für die Untersuchungsbedingung ENR und auf n = 6 für die Untersuchungsbedingung RUN. Die Tierzahl für die Untersuchungsbedingung CTR blieb bei n = 6. Die Anzahl der Tiere für die Proben aus dem Kortex blieben unverändert und ergaben für CTR n = 6, für ENR n = 6 und für RUN n = 7.

Zur anschließenden Konzentrationsmessung wurden 2 µl RNA entnommen und mit 98 µl RNAse-freiem Wasser aufgefüllt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mithilfe

des UV-Spektrophotometers (BioPhotometer 6131, Eppendorf AG). Dabei wurde die Absorption der RNA-Lösung bei einer Wellenlänge von 260 nm sowie 280 nm gemessen (eine Extinktion von 1 entsprechen 40 μg/ml RNA). Die teilweise Überlagerung der Absorptionen von Nukleinsäuren bei 260 nm und 280 nm kann ebenfalls dazu genutzt werden, die Reinheit einer Nukleinsäurepräparation abzuschätzen. Der Quotient E260 / E280 sollte zwischen 1,8 und 2,0 liegen.

Nach der Konzentrationsbestimmung der gewonnenen RNA wurde mit der reversen Transkription fortgefahren.

3.3 Reverse Transkription

Für die PCR kann der Einsatz von RNA nicht direkt erfolgen. Die RNA wurde daher in den komplementären Desoxyribonukleinsäure(cDNA)-Strang umgeschrieben. Für jede hippocampale bzw. kortikale Alzheimer-Demenz-RNA-Probe wurde die Reverse Transkription (RT) dreimal separat durchgeführt.

Bei der angewandten Two-Step-Variante erfolgte zunächst die cDNA-Erst-Strangsynthese der RNA und im zweiten Schritt die RT dieses Erststranges. Dadurch konnten in beiden Reaktionen die Bedingungen optimal auf die jeweils verwendeten Enzyme eingestellt werden. Die so gebildete cDNA fand in der in 3.7 beschriebenen quantitativen real-time PCR (q real-time PCR) ihren Einsatz. In den nachfolgenden Tabellen1 a–c werden die eingesetzten Materialien und die Reaktionsansätze für die RT beschrieben.

Tabelle 1a: Materialien und Konzentrationen RT

Materialien (Invitrogen™)	SuperScript® II Reverse Transcriptase, (200 U/μl)
	First-Strand-Puffer, (5 ×) (250 mM Tris-HCl, pH 8.3 bei Raumtemperatur; 375 mM KCl; 15 mM MgCl2)
	DTT (dithiothreitol), (0,1 M)
	Oligo $(dT)_{12-18}$ – Primer, (500 μg/μl)
	dNTP (2'-Deoxynucleoside 5'-Triphosphat) Mix, (je 10 mM der Nucleotide dATP, dCTP, dGTP,dTTP)
	Template-RNA, (1 μg/μl)
	RNase H, (2 U)
	DEPC-Wasser (Diethylpyrocarbonat)

Tabelle 1b: Reaktionsansatz RT, Schritt 1

	Substanz	**Volumen**
	Oligo $(dT)_{12-18}$ – Primer	1 µl
+	dNTP Mix	1 µl
+	Template - RNA	x µl
+	DEPC-Wasser	x µl
	∑	12 µl

Der Inhalt der Reaktionsgefäße wurde für 5 Minuten bei 65 °C inkubiert und danach auf Eis gestellt.

Tabelle 1c: Reaktionsansatz RT, Schritt 2

	Substanz	**Volumen**
	First-Strand-Puffer	4 µl
+	0,1 M DTT	2 µl
	∑	6 µl

Zuerst wurde ein Mastermix erstellt und anschließend einheitlich 6 µl je Reaktionsgefäß pipettiert. Es erfolgte eine erneute Inkubation für 2 Minuten bei 72 °C.

Tabelle 1d: Reaktionsansatz RT, Schritt 3

	Substanz	**Volumen**
	SuperScript® II Reverse Transcriptase	1 µl
+	RNase H	1 µl
	∑	2 µl

Der dritte Schritt umfasste eine kurze Zentrifugation mit nachfolgender Inkubation bei 42 °C für 50 Minuten. Diese Reaktion wurde durch Erhitzen auf 70 °C für 15 Minuten gestoppt. Um die noch vorhandene RNA vollständig zu zerstören, wurde 1 µl RNAse H pipettiert und bei 37 °C für 20 Minuten erneut inkubiert.

Nach den o. g. Schritten entstand eine einzelsträngige Alzheimer-Demenz cDNA. Sie wurde als Probe im Thermocycler eingesetzt. Aus dem Produkt der RT-Reaktion wurden 2 µl entnommen, mit 98 µl RNAse-freiem Wasser aufgefüllt und anschließend die Konzentration, wie in Punkt 3.2 beschrieben, gemessen. Darauf folgend wurden die Proben mit TE-Puffer auf eine einheitliche Konzentration von 1 µg/µl verdünnt.

3.4 Primer-Design

Um die Expression von APP, der neurotrophen Faktoren und der Wachstumsfaktoren quantitativ zu bestimmen, wurden externe Standards generiert. Die dafür erforderlichen externen Primerpaare (ePP) generierten ein PCR-Produkt in einer Länge von ca. 500 Basenpaaren und enthielten das kürzere spezifische Zielfragment (iPP/interne Primerpaare). In den Tabellen 2a und b sind die Sequenzen der verwendeten Primer ausgewiesen.

Tabelle 2a: PCR-Primersequenzen, innere Primerpaare

Gen		Tm (°C)	innerer Primer (5' => 3')	GC-Anteil (%)
BDNF	F	60	gcg gca gat aaa aag act gc	50
	R	58	ctt atg aat cgc cag cca at	45
NGF	F	62	cag gca gaa ccg tac aca ga	55
	R	64	gtc tga aga ggt ggg tgg ag	60
NT-3	F	62	tgc aac ggc aca gag cta c	55
	R	58	tgc cca cat aat cct cca tt	45
FGF-2	F	62	ctg ggc tag gaa ctg tga gc	55
	R	60	gcc gtc cat ctt cct tca ta	50
IGF-1	F	64	ctg ggc tag gaa ctg tga gc	60
	R	62	taa gtg ccg tat ccc aga gg	55
VEGF-α	F	62	cca gga gga cct tgt gtg at	55
	R	62	ggg aag gga aga tga gga ag	55
endog. APP	F	62	cgg aag aga tct cgg aag tg	55
	R	58	tgt tcg aac cca cat ctt ca	45

F = Forward-Primer, R = Reverse-Primer, Tm = Schmelztemperatur

Tabelle 2b: PCR-Primersequenzen, externer Primerpaare

Gen		Tm (°C)	externer Primer (5' => 3')	GC-Anteil (%)
BDNF	F	62	agc tga gcg tgt gtg aca gt	55
	R	60	ttc ccc ttt taa tgg tca gtg	43
NGF	F	62	gca gtg agg tgc ata gcg ta	55
	R	62	cac tga gaa ctc ccc cat gt	55
NT-3	F	60	gat cca ggc gga tat ctt ga	50
	R	60	cgg aca tag gtt tgc gaa gt	50
FGF-2	F	60	acc agg cca ctt caa gga c	58
	R	64	tca gct ctt agc aga cat tgg a	45
IGF-1	F	60	tgg atg ctc ttc agt tcg tg	50
	R	60	tcc cat gtg taa gtg ccg ta	50
VEGF-α	F	62	gagagaggc cga agt cct tt	55
	R	62	ggg aag gga aga tga gga ag	55
endog. APP	F	60	gtg atc tac gag cgc atg aa	50
	R	60	gtg atg aca atc acg gtt gc	50

F = Forward-Primer, R = Reverse-Primer, Tm = Schmelztemperatur

Die erforderlichen Primersequenzen wurden mithilfe der Software Primer3 (Rozen und Skatelsky 2000) entwickelt und von der Firma Biotez Berlin-Buch GmbH synthetisch hergestellt. Endogenes APP sowie folgende neurotrophe Faktoren und Wachstumsfaktoren wurden in diese Arbeit einbezogen: BDNF, NGF, NT-3, FGF-2, IGF-1 und VEGF-α.

3.5 Generierung des externen Standards

Für die Generierung des externen Standards wurden die Primer (spezifische Ziel-dsDNA) mittels einer konventionellen PCR getestet. Die dadurch gewonnenen spezifischen Amplifikationsprodukte konnten durch Gel-Elektrophorese aufgetrennt und sichtbar gemacht werden. Anschließend wurden sie aufgereinigt und photometrisch vermessen. Daraus konnte die Konzentration in der Stammlösung berechnet und eine Verdünnungsreihe des Standards hergestellt werden.

3.5.1 Gewinnung spezifischer Amplifikate mittels konventioneller PCR

Die konventionelle PCR wurde im Eppendorf-Thermocycler (Eppendorf AG, Hamburg) mit dem Platinium® PCR SuperMix High Fidelity (Invitrogen™, Eggenstein, Deutschland) durchgeführt. Die Primer (iPP und ePP) wurden jeweils in TE-Puffer gelöst, um eine Konzentration von je 100 µM zu erhalten. Alle eingesetzten Materialien wurden auf Eis gelagert. Die eingesetzte Mischung bestand aus den in Tabelle 3a aufgelisteten Komponenten:

Tabelle 3a: Platinium® PCR SuperMix High Fidelity PCR

Platinium® PCR SuperMix High Fidelity (Invitrogen™)	22 U/ml Komplex von Recombined Taq DNA-Polymerase
	Tyrococus spezie GB-D thermostabile Polymerase
	Platinium® Taq Antikörper
	66 mM Tris-SO_4 (pH 8,9)
	19.8 mM $(NH_4)_2$ SO_4
	2.4 mM $MgSO_4$
	220 µM dNTPs
	Stabilisatoren

Es wurde wie folgt pipettiert: Der Mastermix, bestehend aus dem Highfidelity-Mix und den Primern (iPP oder ePP), wurde in 250 µl-Eppendorf-PCR-Reaktionsgefäße pipettiert. Anschließend wurden die Proben hinzugegeben. Bei dieser PCR-Methode wurde stets eine Negativkontrolle mitgeführt. Das Gesamtvolumen des PCR-Ansatzes betrug 50 µl. Bei der Erstellung des Mastermix orientierte sich die jeweilige Ansatzmenge an der Anzahl der vorhandenen Proben. Es wurde für jeden Versuch bei einer Probenzahl x jeweils der Mastermix für x+2 Proben angesetzt, dadurch erhielt man eine Mastermix-Reserve, die im Falle eines auftretenden Pipettierfehlers Zeitverlust durch Erstellen eines neuen Mastermix verhinderte. Der Reaktionsansatz umfasste die in Tabelle 3b aufgeführten Substanzen.

Tabelle 3b: Reaktionsansatz PCR

	Substanz	Volumen
	Primer f	1 µl
+	Primer r	1 µl
+	Probe cDNA	0,2 µl
+	Platinium® PCR SuperMix High Fidelity	47,8 µl
	Σ	50 µl

Nach einigen Abstimmungsschritten konnte für APP (endogen), sowie alle neurotrophen Faktoren (NGF, BDNF, NT-3) und Wachstumsfaktoren (FGF-2, IGF-1, VEGF-α) ein PCR-Reaktionsprotokoll etabliert werden (Tab. 3c). Die Dauer einer kompletten PCR betrug ca. 60 Minuten bei 35 Zyklen.

Tabelle 3c: Reaktionsprotokoll PCR

Schritt	Bezeichnung	Temperatur (°C)	Zeit
1	Inkubation	95	3 min
2	Denaturierung	94	30 sec
3	Annealing	Tm-5/58	30 sec
4	Elongation	72	30 sec
5	Wiederholung der Schritte 2 bis 4 für 35 Zyklen		

3.5.2 Gelelektrophorese

Nach der Amplifikation fand die Auftrennung der Amplifikate in einem 1 % TEA-Agarosegel (Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland) durch eine angelegte Spannung von 70 bis 80 Volt (Laufzeit 1 Stunde) statt. Die Auftrennung erfolgte in der Gelelekrophorese unter Verwendung eines DNA-Größenmarkers (100 bp DNA Ladder, Invitrogen). 20 µl jedes Amplifikations-Produktes wurden mit 2-µl-Puffer (1 % SDS, 250 mM EDTA, 0,25 % Xylencyanol, 0,25 % Bromphenolblau, 50 % Glycerin) versetzt und das neu entstandene Probevolumen gleichmäßig in die einzelnen Taschen des ca. 6 mm starken TEA-Agarosegels pipettiert. Die Pufferung der Gelkammer entstand durch 50 × TAE-Puffer (242 g Tris, 57,1 ml Eisessig, 100 ml 0,5 M EDTA,

pH = 8,0). Durch Zugabe von Ethidiumbromid bei der Gelherstellung konnten die Banden sofort unter UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert werden.

Mithilfe des Fotos konnten die Banden der Amplifikate in Bezug zum mitgeführten DNA-Größenmarker verglichen werden. Die Spezifität eines Amplifikats war bestätigt, wenn die im Gel abgezeichnete Amplifikatlänge in Basenpaaren mit der jeweiligen Länge für den Primer und der jeweiligen berechneten mRNA (endogenes APP, neurotrophe Faktoren und Wachstumsfaktoren) übereinstimmte.

3.5.3 Aufreinigen von DNA aus Agarosegelen

Die spezifischen Amplifikate wurden mithilfe des E.Z.N.A.®-Gel-Extraktionskits (Peqlap-Biotechnologie GmbH, Erlangen) aus dem Gel aufgereinigt, mit dem Ziel, reine cDNA, ohne PCR-Beiprodukte zu erhalten. Die Aufreinigung wurde in folgenden Schritten durchgeführt:

Bei jedem Vorgang wurden die Gelstücke mit dem PCR-Produkt ausgeschnitten, abgewogen und in dem vierfachen Volumen an Bindepuffer gelöst (Geldichte 1 g/ml).

Das Gelfragment wurde für 7 Minuten bei 60 °C im Heizblock inkubiert und dabei alle 2 bis 3 Minuten geschüttelt. Nach dem vollständigen Lösen der Agarose sollte der Bindepuffer eine hellgelbe Farbe aufweisen. Diese zeigt den korrekten pH-Wert > 7,5 an. Damit ist die vollständige Bindung der DNA an die Matrix gewährleistet. Das Laden und Binden der DNA-Agaroselösung erfolgte dann durch das Pipettieren von 650 µl der Lösung auf eine High-Bind-Zentrifugensäule. Nach dem Zentrifugieren bei Raumtemperatur für 1 Minute bei 10.000 × g wurde der Säulendurchfluss verworfen und bei Volumina > 650 µl die Säule erneut geladen und der Zentrifugationsschritt wiederholt. Zweimaliges Waschen der Lösung erfolgte durch das Zufügen von jeweils 600 µl DNA-Waschpuffer. Dieser wurde 2 bis 3 Minuten in der Säule belassen und anschließend für 1 Minute bei 10.000 × g zentrifugiert. Die Zentrifugensäule wurde durch Zentrifugieren getrocknet. Die DNA-Elution erfolgte durch Zugabe von 30 µl Elutionspuffer auf das Zentrifugensäulchen, das vorher in ein sauberes 1,5 ml Zentrifugenröhrchen gesteckt wurde. Abschließend erfolgte wiederholt eine Zentrifugation (1 Minute, 10.000 × g). Um den absoluten Betrag auf bis zu 95 % zu verbessern, wurde eine zweite Elutionsrunde vorgenommen.

3.5.4 Quantifizierung der dsDNA

Die gewonnenen DNA-Lösungen wurden mit TE-Puffer 1 : 10 verdünnt. Für die Berechnung der Konzentration wurde die optische Dichte (1O D = 50 μg/ml dsDNA) berücksichtigt. Alle auf diese Weise gewonnenen DNA-Lösungen wurden für die weitere Standardvalidierung auf eine Konzentration von 4 ng/μl angeglichen.

3.6 Standardvalidierung

Die erhaltenen Standards wurden in jeder q-real-time-PCR-Messung mitgeführt, um eine Standardkurve zu erhalten. Diese q-real-time-PCR wurde unter Verwendung des DNA-bindenden Fluoreszenzfarbstoffes SYBR Green (Quantitect SYBR Green PCRKit, Qiagen-GmbH, Deutschland) im Thermocycler Opticon^{TM} II DNA Engine (MJ Research, Waltham, MR, USA) ausgeführt. Eine Schmelzkurvenanalyse sicherte die Spezifität der Reaktion ab. Die Quantifizierung der PCR basierte auf der Berechnung des Fluoreszenz-Schwellenwerts (C_T-Wert). Hier stieg die Fluoreszenz erstmalig signifikant über die Hintergrundfluoreszenz an. Mittels Software ließ sich die gemessene Fluoreszenz gegenüber der Zyklenzahl darstellen. Die Quantifizierung der DNA-Menge beruhte nicht auf absoluten Mengen an PCR-Produkt, sondern auf der Kinetik der PCR-Reaktion. Parallel dazu wurde in jedem q-real-time-PCR-Messdurchgang bekannte Probemengen amplifiziert, die einen Vergleich ermöglichten, welche Probemenge bei welchem C_T-Wert entstand. Daraus ließ sich eine Standardkurve erstellen, anhand derer aus einem bestimmten C_T-Wert auf eine Templatekonzentration geschlossen werden konnte.

3.6.1 Standardkurve

Für alle sieben Primerpaare wurde eine Standardkurve erstellt. Bei dieser q-real-time-PCR kamen die gewonnenen Standards von je 4 ng/μl (bei IGF 2,6 ng/μl,) als Template-cDNA zur Standardbestimmung zum Einsatz. Zusätzlich wurde in jedem Experiment mit einer Probendoppelbestimmung (unspezifische und spezifische cDNA) und einer Negativkontrolle gearbeitet. In allen Fällen wurde ein Mastermix pipettiert. Die Reaktionsansätze und das Reaktionsprotokoll der PCR-Standardkurve sind in den folgenden Tabellen (Tab. 4a bis c) dargestellt.

Tabelle 4a: Reaktionsansatz Standardkurve, Verdünnungsreihe 1 : 10

	Substanz	**Volumen**
	SYBR Green I	8 µl
+	iPP r	1 µl
+	iPP f	1 µl
+	Template-DNA (spezifisch ePP)	1 µl
+	Bidest	9 µl
	∑	20 µl

Tabelle 4b: Proben der Alzheimer-Demenz-cDNA

	Substanz	**Volumen**
	SYBR Green I	8 µl
+	iPP r	1 µl
+	iPP f	1 µl
+	Template-DNA	1 µl
+	Bidest	9 µl
	∑	20 µl

Tabelle 4c: Reaktionsprotokoll PCR-Standardkurve

Schritt	**Bezeichnung**	**Temperatur (°C)**	**Zeit**
1	Inkubation	95	3 min
2	Denaturierung	94	30 sec
3	Primeranlagerung	60	30 sec
4	Elongation	72	30 sec
5	Messung		
6	Wiederholung (40 Zyklen)		
7	Schmelzkurve		alle 0,3 °C, gehalten 1 sec

3.6.2 Temperaturgradient

Mit allen verwendeten Primerpaaren wurde ein Temperaturgradienten-Experiment durchgeführt. Um die optimale „Arbeitstemperatur“ der spezifischen iPP herauszufinden (Konzentration 100 nmol/µl), wurde die Temperatur in 2-°C-Schritten von 55 °C bis 65 °C gewählt. Der Mastermix enthielt alle Reagenzien bis auf die Template-cDNA. Zur Bestimmung des Temperaturgradienten sind der Reaktionsansatz und das Reaktionsprotokoll in den Tabellen 5a und b aufgeführt.

Tabelle 5a: Reaktionsansatz Temperaturgradient

	Substanz	**Volumen**
	SYBR Green I	8 µl
+	iPP r	1 µl
+	iPP f	1 µl
+	Probe-DNA (spezifisch ePP)	1 µl
+	Aqua bidest	9 µl
	$\sum$	20 µl

Tabelle 5b: Reaktionsprotokoll Temperaturgradient

Schritt	**Bezeichnung**	**Temperatur (°C)**	**Zeit**
1	Inkubation	90	2 min
2	Denaturierung	94	15 sec
3	Primeranlagerung mit Temperaturgradient	55 – 65	je 15 sec
4	Elongation	72	30 sec
5	Messung		
6	Wiederholung (40 Zyklen)		
7	Schmelzkurve	50 – 95	alle 0,3 °C, gehalten 1 sec

3.7 mRNA-Quantifizierungen von endogenem APP, neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren mittels q-real-time-PCR

Die Konzentrationen der Alzheimer-Proben wurden von mir mit den Verdünnungsreihen des externen Standards (4.000 bis 0,0004 fmol/µl) für das endogene APP, sowie jeden trophischen Faktor bestimmt. In den Genexpressionsmessungen wurde für jedes getestete Primerpaar (iPP) ein Mastermix der Bestandteile des Reaktionsansatzes hergestellt und mittels Multipipette (Eppendorf AG, Hamburg) in ein 96-well-Microplatten-Format der Firma Opticon eingebracht. Die hippocampale und kortikale cDNA der APP23-Tiere wurden zuletzt einzeln pipettiert. Zur Quantifizierung wurden je eine Standardkurve, eine Doppelbestimmung und eine Nullprobe pro Messdurchgang mitgeführt. Die Messdurchgänge wurden pro Primerpaar mindestens dreimal wiederholt. Die Reaktionsansätze sind in Tabellen 6a und b und das Reaktionsprotokoll in Tabelle 6c aufgeführt.

Tabelle 6a: Reaktionsansatz Genexpressionsmessung, Verdünnungsreihe 1 : 10

	Substanz	**Volumen**
	SYBR Green I	8 µl
+	iPP r	1 µl
+	iPP f	1 µl
+	Probe-DNA (spezifisch ePP)	1 µl
+	Aque bidest.	9 µl
	∑	20 µl

Tabelle 6b: Proben der hippocampalen und kortikalen Alzheimer-Demenz-cDNA

	Substanz	**Volumen**
	SYBR Green I	8 µl
+	iPP r	1 µl
+	iPP f	1 µl
+	Probe-DNA (spezifisch AD)	1 µl
+	Aque bidest.	9 µl
	∑	20 µl

Tabelle 6c: Reaktionsprotokoll Genexpressionsmessung

Schritt	Bezeichnung	Temperatur (°C)	Zeit
1	Inkubation	95	3 min
2	Denaturierung	94	30 sec
3	Primeranlagerung	58 o. 60	30 sec
4	Elongation	72	30 sec
5	Messung		
6	Wiederholung Schritt 2 – 5 (44 Zyklen)		
7	Schmelzkurve	50 – 95	alle 0,3 °C, gehalten 1 sec

Da sich SYBR Green unspezifisch in die dsDNA einlagert, erfolgte zur Differenzierung zwischen spezifischem Produkt und Primerdimeren bzw. zur Mutationsanalyse im Anschluss an jeden q-real-time-PCR-Messdurchgang eine Schmelzkurvenanalyse. Primerdimere oder Mutationen weisen eine geringere Schmelztemperatur als spezifische größere PCR-Produkte auf. Zeigten die Proben bei der Messung der Schmelzkurven die gleichen Schmelztemperaturen, konnten sie miteinander verglichen werden. Die Methode hat sich als geeignet und zuverlässig erwiesen.

3.8 Statistik

Für die statistische Analyse der Ergebnisse wurde die Analysesoftware SPSS 11.0 (IBM) verwendet. Nach der Erhebung wurden alle Daten für SPSS aufbereitet.

Der Vergleich für alle drei Untersuchungsgruppen (CTR, ENR, RUN) erfolgte mithilfe des nonparametrischen Kruskal-Wallis-Tests (H-Test) und der Monte-Carlo-Signifikanz. Anschließend wurde der Mann-Whitney-U-Test (U-Test) für den paarweisen Vergleich der Gruppen ENR versus CTR bzw. RUN versus CTR herangezogen. Statistisch signifikant ist ein p-Wert von $p \leq 0.05$.

4 Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurde an sechs CTR-Tieren, fünf ENR-Tieren und sieben RUN-Tieren die Genexpression von endogenem APP, den neurotrophen Faktoren NGF, BDNF, NT-3 und den Wachstumsfaktoren FGF-2, IGF-1 und VEGF-α im Hippocampus und Kortex des APP23-Mausmodell bestimmt und miteinander verglichen. Der Vergleich der Messwerte der drei Untersuchungsgruppen erlaubt Rückschlüsse auf die aktivitätsabhängige Regulation der untersuchten Faktoren in der Pathologie der Alzheimer-Demenz. Alle Konzentrationswerte wurden in der Einheit fmol/µl gemessen, zu Mittelwerten zusammengefasst und statistisch ausgewertet wie im folgenden Kapitel dargestellt ist.

4.1 Körperliche Aktivität (RUN) reduziert die endogene APP-Expression

Die erste Frage war, ob RUN die Regulation von endogenem APP bei gleichzeitiger konstitutiver Überexpression des humanen APP23 beeinflusst. Wolf zeigte in ihrem Studienanteil, dass RUN nicht direkt auf das Transgen wirkte (CTR 128 ± 26 ng/µg cDNA, ENR 174 ± 56 ng/µg cDNA, RUN 116 ± 32 ng/µg cDNA; Kruska-Wallis-Test; p = 0.6) (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Die Expression der humanen transgenen cDNA war in den Gruppen ENR, RUN und CTR ähnlich.

Daraufhin wurde die Konzentration von endogenem APP im Hippocampus und Kortex gemessen. Wie die Abbildung 2 zeigt, ist in RUN die endogene APP-Expression im Hippocampus und Kortex im Vergleich zur Kontrolle signifikant reduziert (Mann-Whitney-U-Test, Hippocampus p = 0.04, Kortex p = 0.002), wohingegen sich unter ENR-Bedingungen keine statistisch signifikante Regulation nachweisen ließ (Mann-Whitney-U-Test, Hippocampus p = 0.93, Kortex p = 0.7). Dieser Befund legt nahe, dass Training zu einer Reduktion von APP führt.

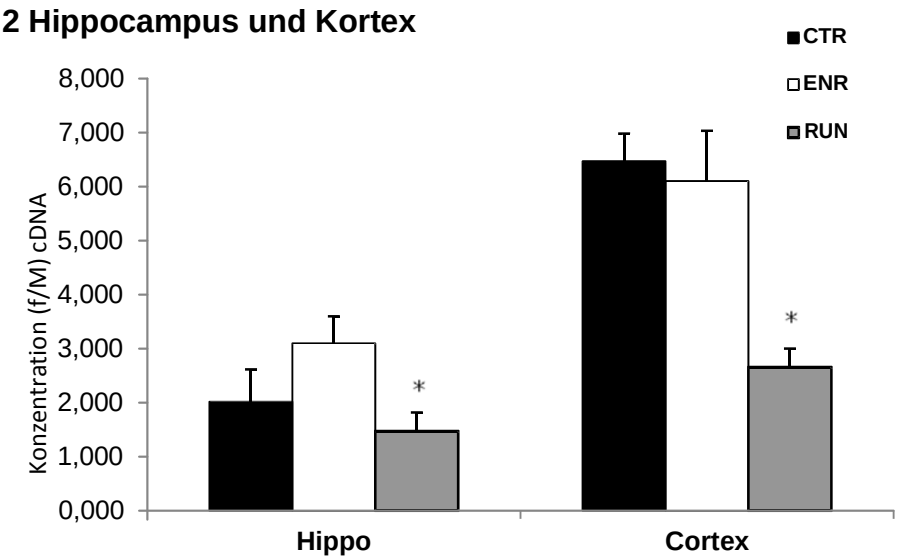


Abbildung 2: Endogene APP-Expression in Hippocampus und Kortex der APP23-Maus. Im Alter von 13 Monaten zeigten die RUN-Mäuse (graue Balken) nach 11 Monaten körperlicher Aktivität (RUN) eine signifikante Reduktion des endogenen APPs im Vergleich zur Kontrollgruppe (CTR) (schwarze Balken, Mann-Whitney-U-Test: APP-Hippocampus p = 0.04, n = 6 Tiere; APP-Kortex p = 0.002, n = 7 Tiere). Im Gegensatz dazu zeigten die ENR-Tiere (weiße Balken) nach 11 Monaten keine statistisch relevante Auswirkung auf die endogene APP-Expression (Mann-Whitney-U-Test: APP-Hippocampus p = 0.93, n = 5 Tiere; APP-Kortex p = 0.7, n = 6 Tiere). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4 ng/μl.

4.2 Hippocampus-spezifische Regulationen von Neurotrophinen in reizreicher Umgebung (ENR)

Aus dem vorherigen Ergebnis stellte sich die Frage, in welchem Kontext die Regulation von endogenem APP abläuft. Dazu wurde die Expression der Gene diverser neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren gemessen. Aus Studien mit nicht-transgenen Tiermodellen ist bekannt, dass die Regulation von NGF, BDNF, IGF-1 und VEGF-α in ENR Hippocampus-spezifisch ist (Falkenberg et al. 1992; Pham et al. 1999b; Torasdotter et al. 1998). Um zu prüfen, ob diese Regulation auch im APP23-Modell stattfindet, verglichen wir die Expression dieser Faktoren bei Tieren im ENR mit CTR-Tieren (Abb. 3a, b).

Die nachstehenden Ergebnisse zeigen, dass sowohl neurotrophe Faktoren als auch Wachstumsfaktoren im Hippocampus der ENR-Mäuse vermehrt exprimiert werden. BDNF und NT-3 waren in ENR signifikant gegenüber CTR erhöht (Mann-Whitney-U-Test; BDNF p = 0.01, NT-3 p = 0.04).

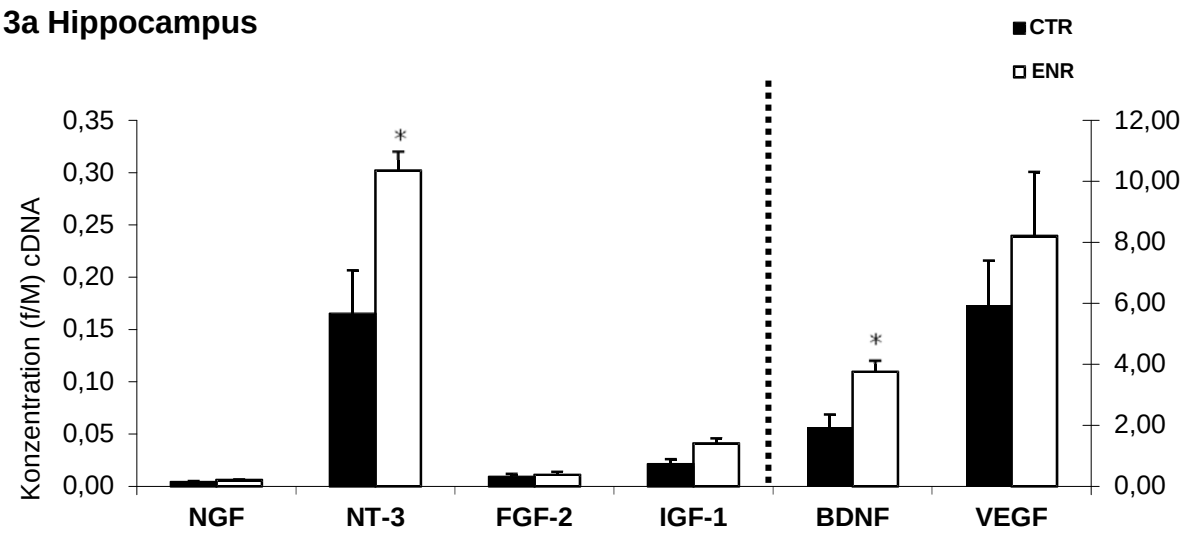


Abbildung 3a: mRNA-Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der APP23-Maus im Vergleich der Gruppen CTR (schwarze Balken, n = 6 Tiere) und ENR (weiße Balken, n = 5 Tiere). Die 13 Monate alten Tiere zeigten nach 11 Monaten reizreicher Umgebung (ENR) im Hippocampus eine signifikante Erhöhung der BDNF- und NT-3-Expression (Mann-Whitney-U-Test: BDNF p = 0.01; NT-3 p = 0.04), statistisch nicht signifikant sind die Expressionsniveaus von NGF, FGF-2, IGF-1, VEGF-α. (Mann-Whitney-U-Test: IGF-1 p = 0.06, VEGF-α p = 0.07, NGF p = 0.2, FGF-2 p = 0.144). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4 ng/μl, für IGF-1: 2,6 ng/μl.

Es gab einen Trend in Richtung verstärkter Genexpression bei IGF-1 und VEGF-α (Mann-Whitney-U-Test; IGF-1 p = 0.06; VEGF-α p = 0.07). NGF und FGF-2 zeigten ebenfalls erhöhte Expressionsstufen; die nicht statistisch signifikant waren (Mann-Whitney-U-Test; NGF p = 0.2, FGF-2 p = 0.144). Im Gegensatz dazu waren im Kortex die Faktoren nahe dem Expressionsniveau der CTR-Mäuse exprimiert.

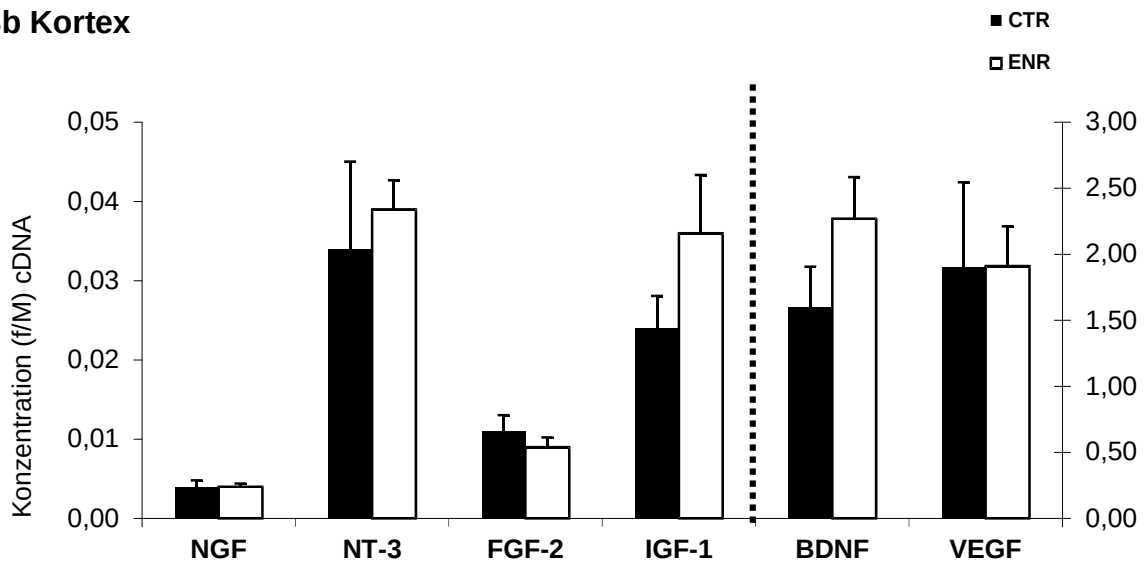


Abbildung 3b: mRNA-Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Kortex der APP23-Maus im Vergleich der Gruppen CTR (schwarzer Balken, n = 6 Tiere) und ENR (weißer Balken, n = 6 Tiere). Die 13 Monate alten Tiere zeigten nach 11 Monaten reizreicher Umgebung (ENR) im Kortex die Expressionsniveaus der Faktoren nahe denen der CTR-Tiere (Mann-Whitney-U-Test: BDNF p = 0.15, NGF p = 0.631, NT-3 p = 1, FGF-2 p = 0.471, IGF-1 p = 0.43, VEGF-α p = 0.631). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4 ng/μl, für IGF-1: 2,6 ng/μl.

Folglich zeigt die Regulation der neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren eine relative Spezifität für den Hippocampus. Die Befunde legen nahe, dass die Produktion einiger endogener, potenziell neuroprotektiver Faktoren im Hippocampus auch unter pathologischen Bedingungen durch eine reizreiche Umgebung gesteigert werden kann.

4.3 Signifikanter Einfluss von körperlicher Aktivität (RUN) auf die Expression von FGF-2, NGF und BDNF

Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Auswirkung von RUN. Um zu prüfen, ob dies auch unter den Bedingungen der Alzheimer-Pathologie zutrifft, wurde die Genexpression der genannten Faktoren zwischen CTR und RUN verglichen (Abb. 4a, b)**.**

Die Untersuchungen ergaben im Hippocampus der RUN-Mäuse eine tendenzielle Erhöhung der IGF-1-Expression im Vergleich zu CTR, die allerdings nicht statistisch signifikant war. Hingegen waren die Werte für FGF-2 im Vergleich der Gruppen CTR und RUN bei insgesamt sehr niedrigen Werten signifikant verringert. Die Expressionen von BDNF, NFG, NT-3 und VEGF-α und der Kontrolltiere lagen nah beieinander (Mann-Whitney-U-

Test: BDNF: p = 0.15, NGF: p = 0.26, NT-3: p = 0.337, FGF-2: p = 0.02, IGF-1: p = 0.1, VEGF-α: p = 0.15).

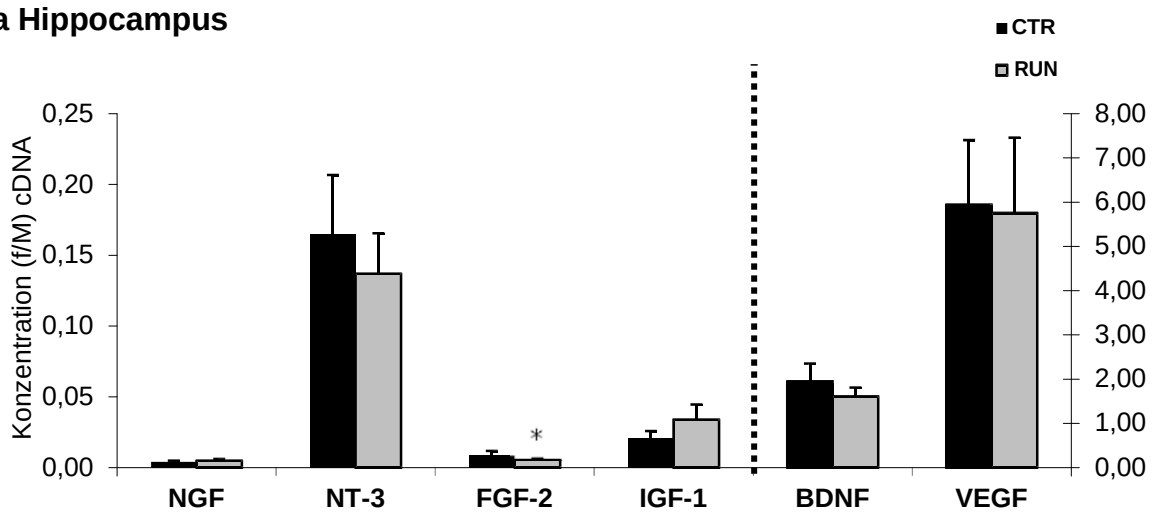
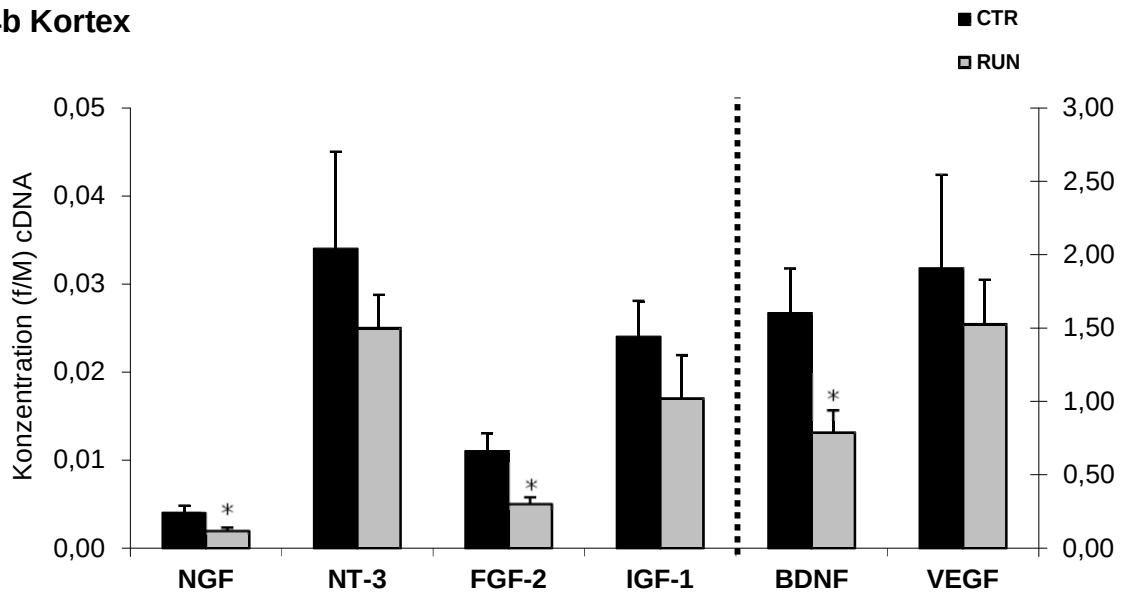


Abbildung 4a: mRNA-Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der APP23-Maus im Vergleich der Gruppen CTR (schwarzer Balken, n = 6 Tiere) und RUN (grauer Balken, n = 6 Tiere). Im Alter von 13 Monaten zeigten die RUN-Mäuse nach 11 Monaten körperlicher Aktivität im Hippocampus eine tendenzielle Erhöhung von IGF-1 (Mann-Whitney-U-Test: IGF-1 p = 0.1) und eine signifikante Verringerung von FGF-2 (Mann-Whitney-U-Test: FGF-2 p = 0.02). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4 ng/μl, für IGF-1: 2,6 ng/μl.

Im Kortex exprimierten die Faktoren unter RUN-Bedingungen ebenfalls geringer. Der Vergleich der Gruppen CTR und RUN ergab Signifikanzen für BDNF, NGF und FGF-2 (Mann-Whitney-U-Test: BDNF: p = 0.04, NGF: p = 0.02, NT-3: p = 0.945, FGF-2: p = 0.01, IGf-1: p = 0.153, VEGF-α: p = 1).



Abbbildung 4b: mRNA-Expression neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Kortex der APP23-Maus im Vergleich der Gruppen CTR (schwarzer Balken, n = 6 Tiere) und RUN (grauer Balken, n = 7 Tiere). Nach 11 Monaten körperlicher Aktivität (RUN) waren im Kortex BDNF, NGF und FGF-2 signifikant reduziert (Mann-Whitney-U-Test: BDNF p = 0.04 NGF p = 0.02, FGF-2 p = 0.01). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4ng/μl, für IGF-1: 2,6 ng/μl.

4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass RUN im APP23-Modell mit zerebraler Amyloidopathie zu einer signifikanten Reduktion der Expression von endogenem APP sowohl im Hippocampus als auch im Kortex führt. RUN kann unter pathologischen Bedingungen, also bei einer Überexpression von mutiertem APP, die Produktion von endogenem APP drosseln.

Es zeigte sich, dass RUN nicht direkt auf das Transgen wirkte. Die Expression der humanen transgenen cDNA war in den Gruppen ähnlich (CTR 128 ± 26 ng/µg cDNA, ENR 174 ± 56 ng/µg cDNA, RUN 116 ± 32 ng/µg cDNA; Kruska-Wallis-Test: p = 0.6).

Es stellte sich also die Frage, in welchem Kontext diese Regulation von APP abläuft. Dazu wurde die Regulation der Gene von NFG, BDNF, NT-3, FGF-2, IGF-1 und VEGF-α gemessen.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Langzeiteinfluss von ENR auf die APP23-Maus eine tendenziell verstärkte Hippocampus-spezifische Regulation von neurotrophen Faktoren

und Wachstumsfaktoren zur Folge hat. BDNF und NT3 sind sogar signifikant höher exprimiert. RUN hingegen zeigte keine klare unterstützende Wirkung hippocampal exprimierter Faktoren, FGF-2 war sogar herunterreguliert (Abb. 5a).

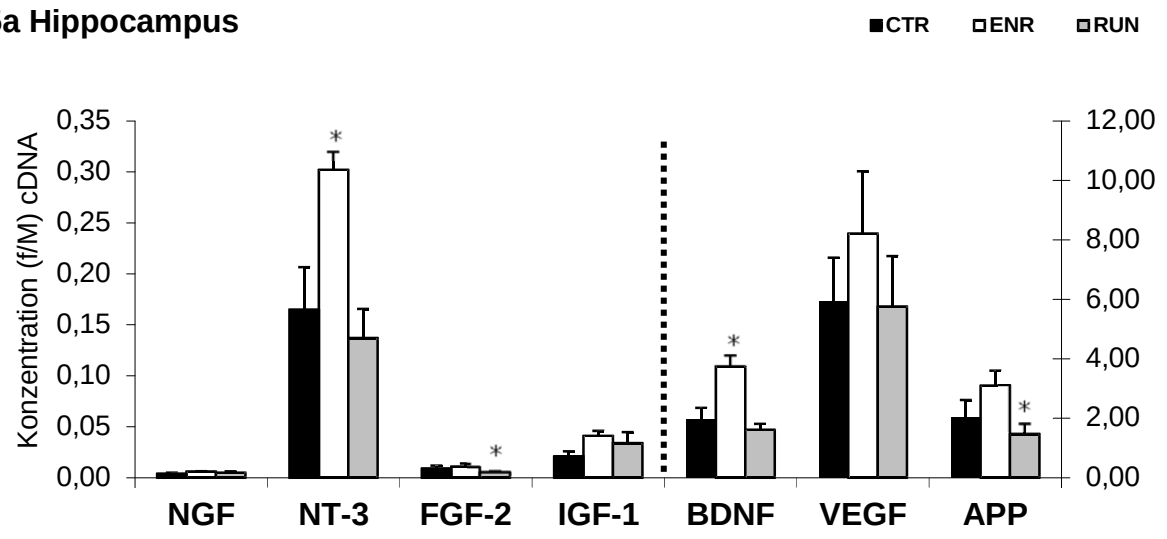


Abbildung 5a: mRNA-Expression des endogenen APP, neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Hippocampus der APP23-Maus, mRNA-Expression im Hippocampus: Alle Faktoren zeigten einen Trend in Richtung erhöhte Expression im Vergleich zu ENR und CTR. Der Trend erreichte statistische Signifikanz für die NT-3- und BDNF-Expressionen, während FGF-2- und APP-Expressionen im Vergleich der Gruppen RUN mit CTR signifikant verringert waren. IGF-1 war der einzige Faktor, der den Trend zur erhöhten Expression im Hippocampus der RUN-Mäuse zeigte (Kruska-Wallis-Test gefolgt vom Mann-Whitney-U-Test: n = 6 (CTR), 5 (ENR), 6 (RUN); BDNF: p = 0.01; NT-3: p = 0.04). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4 ng/μl, für IGF-1: 2,6 ng/μl.

Des Weiteren zeigen die Daten eine auffällig verringerte Expression einiger Faktoren im Kortex der APP23-Maus (Abb. 5b).

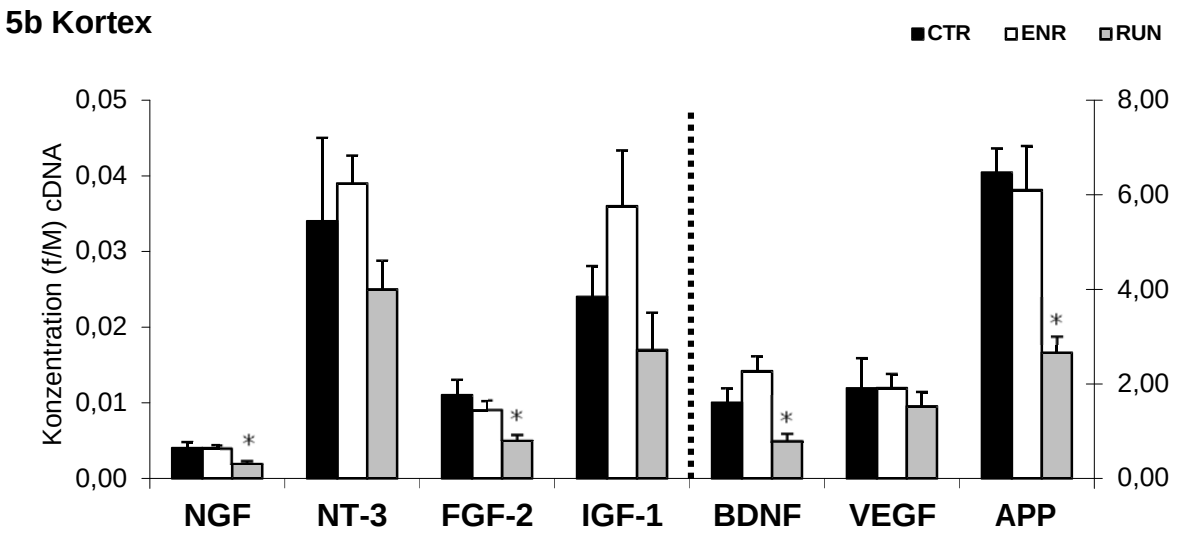


Abbildung 5b: mRNA-Expression des endogenen APP, neurotropher Faktoren und Wachstumsfaktoren im Kortex der APP23-Maus, mRNA-Expression im Kortex: Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen ENR und CTR für diesen Gehirnbereich, obwohl ein Trend für höhere Werte für NT-3 und IGF-1 in reizreicher Umgebung (ENR) erkennbar war. Alle Faktoren waren bei den RUN-Mäusen verglichen mit den CTR-Tieren verringert, signifikant für BDNF (p = 0.04), NGF (p = 0.03), FGF-2 (p = 0.01) und endogenes APP (p = 0.002). Ein Sternchen * zeigt eine statistische Signifikanz von p ≤ 0.05 an. Eingesetzte Menge an cDNA: 4 ng/μl, für IGF-1: 2,6 ng/μl.

5 Diskussion

In der vorliegenden Studie galt es zu untersuchen, inwieweit Leben in ENR und RUN Einfluss auf die Regulation von endogenem APP in Hippocampus und Kortex sowie auf die Expression der neurotrophen Faktoren NGF, BDNF, NT-3 und der Wachstumsfaktoren FGF-2, IGF-1, VEGF-α im APP23-Mausmodell ausüben.

Die Ergebnisse zeigen, dass RUN über einen Zeitraum von 11 Monaten zu einer signifikanten Reduktion der Expression von endogenem APP in APP23-Mäusen führt. Ein derartiger Effekt ist bei der Untersuchungsgruppe ENR nicht festzustellen. ENR und hier speziell deren Langzeiteinfluss, bewirkten jedoch eine erhöhte hippocampale Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im Vergleich zu CTR. RUN zeigt hingegen im Ergebnis dieser Untersuchungen keine Beeinflussung der Expression der untersuchten neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren. Körperliche und kognitive Stimulation nehmen also unterschiedlich Einfluss auf das APP23-Modell einer zerebralen Amyloidopathie.

5.1 Endogene APP-Expression ist von außen beeinflussbar

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die molekularbiologische Untersuchung der Auswirkung von ENR und RUN auf die endogene APP-Expression bei 13 Monate alten, weiblichen transgenen APP23-Mäusen mit der schwedischen Doppelmutation (K670N, M671L). Ein Vergleich zwischen gesundem und pathologischem APP blieb dabei unbeachtet.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, dass bei gleichbleibender Menge von Aβ-Plaques innerhalb der drei Untersuchungsbedingungen (ENR, RUN, CTR) (Wolf und Kronenberg et al. 2006) die verschiedenen Aktivitäten (ENR und RUN) Auswirkung auf die endogene APP-Expression hatten. RUN führte zu einer signifikanten Reduktion von endogenem APP. Im Gegensatz dazu zeigte die ENR-Gruppe regionale Unterschiede im Einfluss auf die endogene APP-Produktion. Im Hippocampus wurde in der vorliegenden Studie mehr APP und im Kortex weniger APP gebildet, allerdings in beiden Fällen ohne statistische Signifikanz.

Diese Regulationen sind nicht einfach zu interpretieren, da sie im Kontext der Überexpression des humanen APP23 stattfinden. In den hier untersuchten, transgenen APP23-Mäusen, liegt das humane APP in höherer Kopienanzahl vor, als in nicht transgenen Mäusen. Im realen Fall läge beim Patienten nur ein, mutmaßlich regulierbares APP-Gen vor. Dabei reicht die Kopienzahl des humanen APP in der APP23-Maus nicht an die Zahl der Kopien des APP im Menschen heran.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass RUN unter den pathologischen Bedingungen der Überexpression von humanem APP die Produktion von murinem APP, sowohl im Hippocampus als auch im Kortex drosseln kann.

In einer weiterführenden Studie konnten Mirochnic und Kollegen den Einfluss von Aktivität auf die endogene APP-Expression im APP23-Mausmodell bestätigen, wobei diese Ergebnisse gegensätzliche Effekte zu unserer Studie zeigten. ENR senkte die Expression von endogenem APP (ohne statistische Signifikanz), während RUN selbige steigerte (Mirochnic et al. 2009).

Die Wirkung der herausgefundenen Regulationen des APP ist noch recht unklar und muss, wie auch andere physiologische Zusammenhänge zum APP, weiter erforscht werden. Ausgehend davon, dass APP eine Schlüsselrolle in synaptischen Prozessen und neuronaler Plastizität spielt (Aydin et al. 2012), legen unsere Ergebnisse nahe, dass Training zumindest partiell Einfluss auf pathogenetisch relevante Parameter der Alzheimer-Erkrankung nehmen könnte.

5.2 Reizreiche Umgebung (ENR) stimuliert die Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im adulten Gyrus dentatus im Alzheimer-Demenz-Modell

Unabhängig von einer neuroprotektiven Wirkung und der Plaquebildung wurde die Regulierung der neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren unter ENR-Bedingungen im Alzheimer-Demenz-Modell untersucht. Unsere Ergebnisse zeigen, dass durch ENR die hippocampale Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im APP23-Modell erhöht wird. Im Hippocampus der ENR-Tiere waren die mRNA-Expressionsspiegel von BDNF und NT-3 statistisch signifikant vermehrt reguliert. Es lag nahezu kein Effekt von ENR auf die Produktion von NGF und FGF-2 vor. Ebenso wurde im Kortex für fast alle neurotrophen Faktoren sowie Wachstumsfaktoren eine Erhöhung

beobachtet, was jedoch nur als eine Tendenz betrachtet werden kann, da keine statistische Signifikanz vorlag.

Zahlreiche Studien an nicht transgenen Tieren kommen zu den übereinstimmenden Ergebnissen (Ickes et al. 2000, Torasdotter et al. 1998; Pham et al. 1999b; Falkenberg et al. 1992), dass das bessere Leistungsvermögen von ENR-Tieren mit einer hippocampalen Erhöhung von BDNF, NT-3, IGF-1 und VEGF-α korrelierte.

Bezüglich des unveränderten NGF-Wertes konnten wir die Übereinstimmung zu klinischen Studien bei Alzheimer-Demenz-Patienten dokumentieren (Goedert et al. 1989, Fahnestock et al. 1996). Van Praag und Kollegen belegten, dass das Leben in ENR mit beliebiger Nutzung des Laufrades die Produktion von BDNF und NGF beeinflusst (van Praag et al. 2000). Pham und Kollegen berichten von einem erhöhten hippocampalen NGF-Spiegel nach Langzeiteinfluss von ENR, allerdings bei nicht transgenen Tieren (Pham et al. 1999a). Ickes und Kollegen zeigten, dass NGF im Gehirn von in ENR lebenden Ratten verstärkt positiv reguliert wurde (Ickes et al. 2000).

Zudem zeigen wir in der Studie, dass ENR eine Auswirkung auf die Expression neurotropher Faktoren hatte, obwohl die Plaqueanhäufung durch ENR nicht beeinflusst wurde (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Ein Leben in ENR verhindert im APP23-Mausmodell folglich nicht das Ausbrechen der Pathologie selbst, sondern scheint den Krankheitsverlauf nur verzögern zu können und nimmt vermutlich indirekten, kompensatorischen Einfluss.

Die neue Aussage dieser vorliegenden Studie ist, dass die endogene Produktion der meisten neuroprotektiven Faktoren im Hippocampus durch ENR sogar unter Alzheimer-Demenz-ähnlichen Bedingungen erhöht sein kann. Die erhöhten Konzentrationen der mRNA der in dieser Arbeit untersuchten trophischen Faktoren im Hippocampus legen nahe, dass sie Einfluss auf seine Funktionen ausüben, genau so, wie sie in Beziehung mit Prozessen des Lernens und Erinnerns stehen (vgl. Aberg 2010; Antequera et al. 2012; Castellanos et.al 2003; Egan et al. 2003; Freude et al. 2009; Jin et al.2003; Kiyota et al. 2011; Kuhn et al. 1997; Rai et al. 2007; Shimazu et al. 2006; Vaymann et al. 2004). Dabei ist der Hippocampus als dynamische Gehirnstruktur entscheidend bei dem Prozess der Gedächtniskonsolidierung beteiligt, da in der Region des Gyrus dentatus durchgängig, d. h. auch während des Alterungsprozesses, Neurogenese stattfindet

(Kempermann et al. 2003; Knoth et al. 2010). Die Verhaltensänderungen durch ENR beeinflussen die hippocampale Neurogeneserate (Kempermann et al. 1997, 1998). Dabei werden ständig neue Zellen funktional in das bestehende neuronale Netzwerk eingebaut (van Praag et al. 2002). Diese interessante Verbindung führte zur Neubewertung von Neurogenese bei verschiedenen humanen Erkrankungen, die mit einem Verlust von hippocampalen Funktionen verbunden sind. Dazu gehört auch die Alzheimer-Demenz. Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen somit diese Aussage auch für die Alzheimer-Demenz-Pathologie und bestärken das Modell der kognitiven und neuralen Reserve.

Überdies besteht eine Mehrfachwirkung von ENR auf adulte Neurogenese im Alzheimer-Demenz-Modell. So hat die Erhöhung der neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren als Konsequenz einer ENR nicht nur Auswirkung auf Vorläuferzellen allein, sondern beeinflusst auch bestehende adulte Nervenzellen und Synapsen (Kumar et al. 2011). Die neurotrophe Hypothese neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer-Demenz sieht die Degeneration als Folge des Fehlens trophischer Unterstützung an.

Zusammenfassend stellen wir fest, dass ein Zusammenhang zwischen ENR und der Produktion von Neurotrophinen existiert. Ihre Produktion ist bei pathologischen Prozessen häufig lokal erhöht und sie sind somit an Schutz- und Reparaturvorgängen beteiligt (Carro et al. 2001; Doré 1997; Larsson et al. 1999; Young et al. 1999). Diese Aussagen scheinen auch auf die Alzheimer-Demenz-Pathologie zuzutreffen. Es ist deutlicher geworden, dass der schützende Effekt von ENR nach pathologischen Prozessen auch im Alzheimer-Demenz-Modell durch die Bildung der Neurotrophine (BDNF, NT-3) vermittelt wird. Dies stimmt mit den Befunden anderer Forschungsgruppen überein (vgl. Bekinschtein et al. 2011). ENR schützt vor kognitiven Einbußen über die Vorbeugung sekundärer Degeneration und erhält Überleben und Funktion der Neurone.

5.3 Körperliche Aktivität (RUN) steigert die Produktion von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren im Alzheimer-Demenz-Modell nicht

In der vorliegenden Studie fanden wir keine durch RUN ausgelöste erhöhte Expression von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren, wie sie in anderen Studien dokumentiert ist (Adlard et al. 2005a, 2011; Berchtold et al. 2010; Carro et al. 2001; Fabel et al. 2003, Farmer et al. 2004; Gomez-Pinilla 1997; Griesbach et al. 2004; Llorens-

Martin et al. 2010; Marlatt et al. 2012; Neeper et al. 1995; Trejo et al. 2001, 2008; Vedovelli et al. 2011). Vielmehr fanden wir eine unerwartete Reduzierung der Expression von BNDF, NGF und FGF-2 im Hippocampus oder Kortex der RUN-Tiere im Vergleich zu CTR. Im Gegensatz zu anderen Untersuchungen in Bezug auf Alterungsprozesse oder neurodegenerative Prozesse (Adlard et al. 2005a, 2011; Berchtold et al. 2010; Marlatt et al. 2012), bestätigt die vorliegende Studie nicht die positive Wirkung von RUN auf ältere Mäuse mit Alzheimer-Erkrankung.

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass die BDNF-Expression im nicht transgenen Tiermodell durch RUN gesteigert wurde (Adlard et al. 2005a, 2011; Berchtold et al. 2010; Farmer et al. 2004; Griesbach et al. 2004; Neeper et al.1995; Marlatt et al. 2012; Zajac et al. 2010). Die BDNF-Expression dieser Arbeit steht im Gegensatz zu den Ergebnissen eben genannter Studien. Es zeigen sich Unterschiede in der Wahl des Tiermodells, des Alters und im experimentellen Design.

Neeper und Kollegen untersuchten die BDNF-Expression in Nagetieren nach sehr kurzem Verbleib der Tiere in der RUN-Umgebung (0 bis 7 Nächte). Die größten Effekte auf BDNF traten durch vermehrte Regulation im Hippocampus und kaudalen Neokortex auf (Neeper et al. 1995). Es war die erste Studie, die daraufhin deutete, dass Wachstumsfaktoren unterstützende Effekte von Aktivität im Gehirn vermitteln (van Praag et al. 1999). Speziell die freiwillige Nutzung des Laufrades von Ratten erhöht den BDNF-mRNA-Anteil im Hippocampus und Kortex (van Praag et al. 1999). In der Studie von Farmer und Kollegen wurden ebenfalls männliche Ratten untersucht. Im Gyrus dentatus der RUN-Tiere trat eine signifikant erhöhte BDNF- und Glutamat-Rezeptor-5-Expression auf (Farmer et al. 2004). Darauf basierend untersuchten Adlard und Kollegen die Wirkung von RUN auf die BDNF-Expression im Hippocampus an Nagetieren unterschiedlichen Alters (2, 15 und 24 Monate). Ein weiterer Unterschied war die Dauer der Exposition der Tiere in der RUN-Umgebung von vier Monaten. Als Ergebnis dieser Studie fanden auch hier die Wissenschaftler eine erhöhte BDNF-Expression nach einer Woche, die allerdings nach zwei Wochen zurückging und nach drei Wochen erneut anstieg (Adlard et al. 2005a). Gießbach und Kollegen gingen der Frage nach, ab wann die bekannte Regulation von Aktivität auf BDNF seine Wirkung zeigt. Die Ergebnisse bestätigten die höchste BDNF-Expression im Gehirn nach einem posttraumatischen Zeitfenster von einer Woche. RUN führt ebenfalls zu erhöhter endogener BDNF-Produktion, auch

wenn die Tiere erst zwei bis drei Wochen nach dem Trauma dieser Umweltbedingung ausgesetzt werden (Grießbach et al. 2004). Nachhaltig verfügbar ist BDNF im Hippocampus unmittelbar, sowie ein bis zwei Wochen nach RUN (Berchtold et al. 2010). BDNF könnte für eine zeitlich verzögerte Verbesserung von Lernleistungen der Versuchstiere verantwortlich sein (Berchtold et al. 2010). Bei älteren Versuchstieren erleichtert milder Stress das Lernen, und die Erhaltung dieser Wirkung wird durch RUN verbessert und könnte auf das erhöhte Level von BDNF zurückgeführt werden (Adlard et al. 2011). Marlatt und Mitarbeiter untersuchten neun Monate alte Tiere, die für einen oder sechs Monate Zugang zum Laufrad hatten. Sowohl hippocampale Neurogenese als auch die BDNF-Expression waren nach der Langzeitaktivität erhöht. Training über diesen Zeitraum wirkt dem altersbedingten Rückgang von räumlicher Orientierung entgegen (Marlatt et al. 2012).

Die unterschiedlichen Ergebnisse von RUN auf die BDNF-Expression können damit erklärt werden, dass wir ein transgenes Tiermodell benutzten und in den genannten Studien der Verbleib der Tiere mit Laufrad (von einer Wochen bis sechs Monaten) kürzer war anstelle von 11 Monaten in unserer Arbeit. Zusätzlich zur Alzheimer-Pathologie waren unsere Tiere (bis auf die Marlattstudie) auch älter als die in den erwähnten Studien verwendeten Tiere.

IGF-1 war der einzige neurotrophe Faktor, der eine Tendenz in Richtung erhöhter Expression im Hippocampus der RUN-Gruppe aufzeigte. IGF-1 wird als starker Vermittler für den aktivitätsabhängigen Schutz von Neuronen gehalten (Carro et al. 2001). Trejo und Kollegen zeigten, dass die Steigerung adulter Neurogenese durch Laufradaktivität von IGF-1 vermittelt wird: Inhibition der IGF1-Wirkung blockierte die Wirkung auf die adulte Neurogenese (Trejo et al. 2001). In weiterführenden Studien spielt IGF-1 eine entscheidende regulatorische Rolle bei der Vermittlung von positiven Effekten durch RUN auf räumliches Lernen, Angstverhalten und die Neurogenese (Trejo et al. 2008; Llorens-Martin et al. 2010). IGF-1 ist als neuroprotektiver Faktor in In-vivo- und In-vitro-Modellen der Alzheimer-Demenz bekannt (Aquado-Llera et al. 2005; Carro und Torres-Aleman 2004; Freude et al. 2009; Niikura et al. 2001). Außerdem lässt die Blockade des IGF-1-Rezeptors Alzheimer-Demenz-ähnliche Pathologien entstehen (Carro und Torres-Aleman 2004).

In dieser Arbeit war VEGF-α im Hippocampus der RUN-Mäuse verringert exprimiert, wenn auch nicht statistisch signifikant. Auch Luppi und Solerte fanden eine verringerte VEGF-α-Freisetzung im Alzheimer-Demenz-Modell (Luppi et al. 2009; Solerte et al. 2005). Diese verringerte Expression könnte die altersabhängigen Durchblutungsstörungen und cerebrovaskulären Veränderungen im Gehirn widerspiegeln (Krucker et al. 2004). Im Gegensatz zu dem Ergebnis dieser Arbeit konnte in anderen nicht transgenen Tieren gezeigt werden, dass VEGF-α RUN mit adulter hippocampaler Neurogenese und hippocampalen Funktionen verbindet (Cao et al. 2004; Fabel et al. 2003; Schanzer et al. 2004). So untersuchten Fabel und Kollegen den Effekt von VEGF-α auf isolierte Vorläuferzellen aus dem adulten Hippocampus von Nagetieren, um den möglichen Einfluss von physiologisch gebildetem VEGF-α zu bestimmen. Auch hier verhindert die Blockade von VEGF-α die aktivitätsinduzierte Neurogenese (RUN für 1 Woche, Alter der Tiere 8 Wochen). Also scheint VEGF-α notwendig bei der aktivitätsabhängigen adulten Neurogenese zu sein (Fabel et al. 2003).

Die erhöhte IGF-1 und verringerte VEGF-α-Expression im Hippocampus der RUN-Mäuse weist auf eine unterschiedliche Auswirkung von RUN auf nicht transgene Tiere und Mäuse mit Alzheimer-Demenz-Pathologie hin. Der Mangel an anderen neurotrophen Faktoren, wie BDNF und NGF oder des Wachstumsfaktors FGF-2 im Hippocampus oder die geringe Expression dieser Faktoren im Kortex der RUN-Mäuse kann teilweise die gleichbleibende Neurogeneserate in Bezug auf CTR und die verringerte kognitive Leistung dieser Mäuse erklären (Wolf und Kronenberg et al. 2006).

In unserem Alzheimer-Demenz-Mausmodell stellt RUN allein keinen ausreichenden Schutz vor kognitiven Verlusten dar. Man braucht mutmaßlich zusätzliche stimulierende Reize – so, wie Kronenberg und Kollegen an nicht transgenen Mäusen dokumentieren konnten. Sie zeigten, dass kontinuierliches Rennen dem altersbedingten Rückgang der Vorläuferzellaktivität im Gyrus dentatus der Mäuse entgegenwirkt, aber nicht automatisch zur gesteigerten Neurogenese führte (Kronenberg et al. 2006). Wenn die kognitive Stimulation durch ENR fehlt, kann das Potenzial der Neurogenese nicht voll erreicht werden. Fabel und Kollegen untersuchten in einer weiterführenden Studie, ob die Proliferation der Vorläuferzellen nach RUN ebenfalls zur gesteigerten Neurogenese führt, wenn RUN ein Neuronen-überlebensfördernder Stimulus (ENR) nachgeschaltet wird. Fabel zeigte, dass die Kombination aus 10 Tagen RUN, gefolgt von 35 Tagen ENR

einen additiven Effekt auf die adulte hippocampale Neurogenese (30 % mehr neue Neurone) in Mäusen, im Vergleich zu den einzelnen Aktivitätsmodellen bewirkte (Fabel et al. 2009).

RUN steigert die Anzahl der Zellen, die sich bilden (Zellproliferation, für kurze Zeit von bis zu 10 Tagen), wenn diese nicht gebraucht werden, sterben sie wieder ab. ENR wiederum fördert das Überleben neugebildeter Zellen und damit die Neurogenese. Somit steigert ENR die Plastizität. RUN und ENR beeinflussen die hippocampale Neurogenese auf unterschiedlichen Wegen.

5.4 Reizreiche Umgebung (ENR) stimuliert adulte hippocampale Neurogenese auch im Alzheimer-Demenz-Modell

Interessant ist der Befund, den wir in der Studie zur aktivitätsabhängigen Plastizität im Modell der Alzheimer-Demenz-Erkrankung machten (Wolf und Kronenberg et al. 2006). In der histologischen Untersuchung an den von mir molekularbiologisch untersuchten 13 Monate alten weiblichen transgenen APP23-Mäusen, fanden sich unveränderte Aβ-Plaques innerhalb der drei Untersuchungsbedingungen (ENR, RUN, CTR) sowohl im Kortex als auch im Hippocampus (Wolf und Kronenberg et al. 2006).

Trotz gleichbleibender Aβ-Plaques zeigten die Tiere nach 8,5 Monaten ENR bei Verhaltenstests, wie dem von Wolf und Kollegen angewandten Morris-Water-Maze-Test (räumliche Orientierung), im Vergleich zu den RUN- und CTR-Tieren bessere Lernergebnisse (Wolf und Kronenberg et al. 2006).

Diese Steigerung der kognitiven Funktionen ging, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt, einher mit spezifisch hippocampal erhöhten Genexpressionen von neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren (Wolf und Kronenberg et al. 2006).

Die Studie von Arendash und Kollegen zeigen ähnliche Befunde. 16 Monate alte weibliche APP23-Mäuse, erzielten nach vier Monaten in ENR trotz gleichbleibender Aβ-Plaqueanzahl, bessere kognitive Testergebnisse als die CTR-Tiere (Arendash et al. 2004). Der kurze Verbleib in ENR verbessert bei älteren, erkrankten Mäusen die Fähigkeit, Neues zu erlernen und sich zu erinnern.

Lazarov et al. und Hu et al. verwendeten ein doppelt transgenes Mausmodell (APPswe/PS1dE9) der Alzheimer-Demenz und zeigen in ihren Ergebnissen eine Reduktion der Aβ-Konzentration und eine reduzierte Aβ-Ablagerung nach fünf Monaten RUN und ENR (Lazarov et al. 2005) sowie eine Reduktion von sAβ-Oligomeren nach einem Monat ENR (HU et al. 2010). Wie Wolf diskutierte, erforschten die Arbeitsgruppen im Gegensatz zu den oben genannten Studien männliche Tiere, was voneinander abweichende Ergebnisse zum Teil erklären könnte, da geschlechtsspezifische Unterschiede in der Plaqueablagerung bekannt sind (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Wang und Kollegen fanden heraus, dass weibliche, doppelt transgene Mäuse (APPswe/PS1) mehr Aβ-Ablagerungen aufwiesen als ihre männlichen Artgenossen (Wang et al. 2003).

Im Gegensatz zu den Studien (Arendash et al. 2004; Hu et al. 2010; Lazarov et al. 2005; Wolf und Kronenberg et al. 2006) berichten Jankowsky und Kollegen bei der Untersuchung eines weiteren PS1/APP-Mausstamms (PS1dE9/ APPK670/M671L) von einer erhöhten endogenen und transgenen Aβ-Ablagerung nach sechs Monaten reizreicher Umgebung (Jankowsky et al. 2003). Wie Wolf und Kollegen feststellten, war ein wichtiger Unterschied der Jankowsky-Studie der stetige Wechsel der sozialen Struktur innerhalb der ENR-Gruppe im Vergleich zur CTR-Gruppe (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Anhaltender Wechsel der sozialen Struktur in der ENR-Gruppe könnte der Grund für Stress sein, der zur Änderung der zellulären Antwort im Vergleich zur ungestörten CTR-Gruppe führte. Sapolsky und Kollegen zeigten, dass derartige Gruppenumgestaltung zur Induktion von anhaltendem sozialem Stress führen kann (Sapolsky 2005).

Wenn Mäuse der ENR-Bedingung in frühem Lebensalter ausgesetzt werden, können die Tiere die Alzheimer-Demenz-Pathologie kompensieren. Im späteren Lebensalter kann ENR die kognitiven Fähigkeiten verbessern, aber nicht mehr die Plaquebildung verhindern.

Zusammengefasst deuten die genannten Studien auf eine nicht kausale Verbindung zwischen einerseits ENR und der Aβ-Plaqueanzahl und andererseits kognitiver Funktion und Aβ-Plaqueanzahl hin. Demzufolge konnte eine deutliche Trennung dieser Parameter erkannt werden. Wenn auch in verschiedenen Studien der Effekt von ENR auf die Alzheimer-Demenz-Pathologie im Tiermodell untersucht wurde (Arendash et al.2004; Costa 2007; Jankowsky 2003, 2005; Lazarov et al. 2005; Hu et al. 2010), machen deren

kontroverse Ergebnisse weitere Untersuchungen erforderlich, um den Einfluss einer komplexen Umgebung auf den Amyloid-Methabolismus beurteilen zu können.

Wolf und Kronenberg zeigen, dass der Einfluss von ENR auf die adulte hippocampale Neurogenese unabhängig von endogenem APP und damit der Plaquebildung zu sehen ist (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Die Bildung neuer Nervenzellen im Gyrus dentatus findet trotz einer Alzheimer-ähnlichen Pathologie im Tiermodell weiterhin statt.

Jin und Kollegen berichten sogar von einer gesteigerten Neurogeneserate in der Subgranularen Zone des Gyrus dentatus als Antwort auf die Pathologie bei der PDGF-$APP_{Sw,Ind}$-transgenen Maus (Jin et al. 2004b). Weiterführende Studien an Mausmodellen PDGF-$APP_{Sw,\ Ind}$ und $APP_{Sw,\ Ind}$ unterstreichen diese gesteigerte Neurogeneserate (Gan et al. 2008; Lopez-Toledano et al. 2007). Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass trotz unveränderter Plaqueansammlung das neurogene Milieu bewahrt blieb. Die Anzahl der Calretinin exprimierender Zellen war in ENR-Umgebung erhöht, was auf den Einfluss von ENR für die spätere Phase der neuronalen Entwicklung im Hippocampus der APP23-Maus hinweist (Wolf und Kronenberg et al. 2006). Dieses Ergebnis bestätigt frühere Beobachtungen über den vorrangigen Einfluss von ENR auf das Überleben differenzierter Körnerzellen bei älteren Mäusen (Kempermann et al. 2002). Mirochnic und Kollegen bestätigten mit ihrer weiterführenden Studie, dass bei gleichbleibender Plaqueansammlung im Hippocampus der APP23-Maus das Potenzial zur adulten Neurogenese in Abhängigkeit von Aktivität und Erfahrung erhalten bleibt (Mirochnic et al. 2009). Diese Studien untersuchten den Effekt von ENR und RUN auf die Neurogeneserate in älteren Tieren (fünf Monate und älter) nach der Amyloidablagerung (Mirochnic et al. 2009; Wolf und Kronenberg et al. 2006). Die Ergebnisse zeigen, dass ENR die hippocampale Neurogenese in verschiedenen Alzheimer-Demenz Modellen erhöht (Catlow et al. 2009; Herring et al. 2009; Mirochnic et al. 2009; Wolf und Kronenberg et al. 2006).

Trotz auftretender Unterschiede in den Ergebnissen unterstützen diese Studien die Hypothese der „neuralen Reserve“. Entsprechend dieser Theorie widersteht das neuronale Netzwerk, gestärkt durch kognitive Herausforderungen, einer Störung durch eine Erkrankung besser, als ein weniger trainiertes (Kempermann 2008).

5.5 Klinische Anwendbarkeit: Schützen körperliche Aktivität und geistiges Training vor voranschreitender Neurodegeneration bei Alzheimer-Patienten?

Die Beobachtungen, dass Plaque und NFB sich auch in pathologisch nicht betroffenen älteren Gehirnen wiederfinden, und zwar häufig mit der gleichen Verteilungsdichte wie bei Alzheimer-Demenz-Patienten, zeigen, dass die klinische Ausprägung der Alzheimer-Demenz sehr variieren kann. Außerdem besteht kein zwangsläufiger Zusammenhang zwischen den neuropathologischen Erscheinungsformen der Alzheimer-Demenz und dem Ausbruch oder dem Fortschreiten der Erkrankung. Dies führte zur Hypothese der kognitiven Reserve (Cummings et al. 1998; Katzmann et al. 1993; Scarmeas und Stern 2003; Staff et al. 2004; Stern et al. 2006).

Sie lässt darauf schließen, dass fortschreitende Neurodegeneration kompensiert werden kann, abhängig von der früher erworbenen funktionalen Reserve. Zu genau diesem Ergebnis kamen Hofman und Mitarbeiter in ihrer prospektiven Verlaufsstudie zur Epidemiologie der Alzheimer-Demenz mit 7.983 Rotterdamer Probanden im Alter von 55 Jahren und älter. Prävention hat das größte Potenzial neurologischen Erkrankungen bei älteren Menschen vorzubeugen (Hofman et al. 2006).

Geistige Aktivität schützt vor Demenz. Der Grund dafür wird in der Jugend durch Bildung gelegt (Kornhuber 2004). Generell reduzieren Bildung und berufliche Weiterentwicklung das Risiko einer Demenz und im Besonderen die Entwicklung einer Alzheimer-Demenz (Katzmann et al.1993). Ähnlich dem Leben im ENR-Mausmodell, hat mentale Aktivität des Menschen einen vorbeugenden Effekt gegen Alzheimer-Demenz. Auch soziale Kontakte bedeuten geistige Anregung. Das bewirkt gesteigerte Gehirntätigkeit und beugt einer Demenz vor (Link 2008). Andere Studien haben bestätigt, dass ein gesunder Lebensstil mit täglicher körperlicher Aktivität deutlich gegen die Ausbildung einer Alzheimer-Demenz wirken (Fratiglioni et al. 2004; Chang et al. 2010), dass physische Aktivität im mittleren Lebensalter zum Erhalt der kognitiven Funktionen beitragen kann und das Risiko, im späteren Alter an Demenz zu erkranken, verringern oder sogar verhindern kann (Chang et al. 2010). Die Ergebnisse zeigen, dass physische Aktivität nicht nur das Risiko verringert, an Alzheimer-Demenz zu erkranken, sondern auch bei erkrankten Patienten die Überlebensdauer erhöht (Scarmeas et al. 2011).

Der Nachweis eines potenziell positiven Effekts von körperlicher und geistiger Aktivität auf die Entwicklung einer Demenz in einer Interventionsstudie würde einen bedeutenden Fortschritt mit sich bringen. Solange im Frühstadium der Demenz keine anderen Therapien verfügbar sind, gilt dies nicht nur für die Demenzprävention, sondern auch für die allgemeine Gesundheit (Weih et al. 2009).

Geistige und körperliche Aktivität wirken protektiv gegen Alzheimer-Demenz (Colombe et al. 2004a, b; Fratiglioni et al. 2004; Hofman et al. 2006; Rovio et al. 2005; Wilson et al. 2002). Dass mentaler und körperlicher Hirnsport sich auszahlt und geistige Reserven schafft, die das Gehirn vor altersbedingtem Verfall bewahren, haben Oswald und Kollegen mit ihrer SimA-Studie belegt. Nur die Kombination aus Gedächtnis- und körperlichem Training schützte die Teilnehmer vor geistigem Abbau (Ackermann und Oswald 2008). Für ein erfülltes Leben ist die Kombination von körperlicher und kognitiver Stimulation erforderlich, um kognitive Verluste zu verzögern oder zu kompensieren (Oswald und Ackermann 2009a, c).

6 Literaturverzeichnis

Aberg MA, Aberg ND, Hedbäcker H, Oscarsson J, Eriksson PS: Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci*. (2000) 20(8):2896–903.

Aberg MA, Aberg ND, Palmer TD: IGF-I has a direct proliferative effect in adult hippocampal progenitor cells. *Mol Cell Neurosci*. (2003) (1):23–40.

Aberg D: Role of the growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis in neurogenesis. *Endocr Dev*. (2010) 17:63–76. Epub 2009 Nov 24. Review.

Ackermann A, Oswald WD: Selbständigkeit erhalten, Pflegebedürftigkeit und Demenz verhindern. In: Oswald WD, Gatterer G, Fleischmann UM (Hg) *Gerontopsych*. (2008) 2:129–37.

Adlard PA, Perreau VM, Cotman CW: The exercise-induced expression of BDNF within the hippocampus varies across life-span. *Neurobiol Aging* (2005a) 26:511–20.

Aguado-Llera D, Arilla-Ferreiro E, Campos-Barros A, Puebla-Jimenez L, Barrios V: Protective effects of insulin-like growth factor-I on the somatostatinergic system in the temporal cortex of beta-amyloid-treated rats. *J Neurochem* (2005) 92:607–15.

Ahmad A, Muzaffar M, Ingram VM: Ca (2+), within the physiological concentrations, selectively accelerates Abeta42 fibril formation and not Abeta40 in vitro. *Biochim Biophys Acta* (2009) 1794:1537–48.

Alegret M, Cuberas-Borrós G, Vinyes-Junqué G et al.: A two-year follow-up of cognitive deficits and brain perfusion in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. (2012) 30(1):109–20.

Alvarez-Buylla A, Nottebohm F: Migration of young neurons in adult avian brain. *Nature* (1988) 6188:353–4.

Alzheimer A: Über eine eingenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und phychish-Gerichtliche Medizin. (1907) 64:146–8.

Anderson JM, Patani R, Reynolds R, et al.: Evidence for abnormal tau phosphorylation in early aggressive multiple sclerosis. *Acta Neuropathol* (2009) 117:583–9.

Anderson P, Lomo T: Mode of activation of hippocampal pyramidal cells by excitatory synapses on dendrites. *Exp Brain Res* (1966) 2:247–60.

Antequera D, Portero A, Bolos M, et al.: Encapsulated VEGF-secreting cells enhance proliferation of neuronal progenitors in the hippocampus of AβPP/Ps1 mice. *J Alzheimers Dis* (2012) 29(1):187–200.

Apostolova LG, Mosconi L, Thompson PM, et al.: Subregional hippocampal atrophy predicts Alzheimer's dementia in the cognitively normal. *Neurobiol Aging* (2010) 31:1077–88.

Arendash GW, Garcia MF, Costa DA, Cracchiolo JR, Wefes IM, Potter H: Environmental enrichment improves cognition in aged Alzheimer's transgenic mice despite stable beta-amyloid deposition. *Neuroreport* (2004) 15:1751–4.

Arruda-Carvalho M, Sakaguchi M, Akers KG, Josselyn SA, Frankland PW: Posttraining ablation of adult-generated neurons degrades previously acquired memories. *J Neurosci*. (2011) 42:15113–27.

Attems J, Thal DR, Jellinger KA: The relationship between subcortical tau pathology and Alzheimer's d isease. *Biochem Soc Trans.* (2012) 40(4):711–5.

Aydin D, Weyer SW, Müller UC: Functions of the APP gene family in the nervous system: insights from mouse models. *Exp Brain Res*. (2012) 217(3–4):423–34.

Babu H, Ramirez-Rodriguez G, Fabel K, Bischofberger J, Kempermann G: Synaptic Network Activity Induces Neuronal Differentiation of Adult Hippocampal Precursor Cells through BDNF Signaling. *Front Neurosci.* (2009) 30;3:49.

Babu H, Cheung G, Kettenmann H, Palmer TD, Kempermann G: Enriched monolayer precursor cell cultures from micro-dissected adult mouse dentate gyrus yield functional granule cell-like neurons. *PLoS One*. (2007) 2(4):e388.

Barbacid M: Structural and functional properties of the TRK family of neurotrophin receptors. *Ann N Y Acad Sci*. (1995) 766:442–58.

Beck T, Lindholm D, Castrén E, Wree A: Brain-derived neurotrophic factor protects against ischemic cell damage in rat hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab*. (1994) (4):689–92.

Bekinschtein P, Oomen CA, Saksida LM, Bussey TJ: Effects of environmental enrichment and voluntary exercise on neurogenesis, learning and memory, and pattern separation: BDNF as a critical variable? *Semin Cell Dev Biol*. (2011) 22(5):536–42.

Berchtold NC, Castello N, Cotman CW: Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. *Neuroscience*. (2010) 167(3):588–97.

Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, et al.: CSF diagnosis of Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *J Neural Transm* (2006) 113:1771–8.

Bischofberger J, Schmidt-Hieber C: Adulte Neurogenese im Hippocampus. *Neuroforum* (2006) 3:212–221.

Bliss TV, Collingridge GL: A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus.*Nature* (1993) 361(6407):31–9.

Bliss TV, Lomo T: Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol.* (1973) 232(2):331–56.

Boche D, Denham N, Holmes C, Nicoll JA: Neuropathology after active Abeta42 immunotherapy: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol*. (2010) 120(3):369–84.

Bondolfi L, Calhoun M, Ermini F, et al.: Amyloid-associated neuron loss and gliogenesis in the neocortex of amyloid precursor protein transgenic mice. J *Neurosci* (2002) 22:515–22.

Bonhoeffer T: Neurotrophins and activity-dependent development of the neocortex. *Curr Opin Neurobiol* (1996) 6: 119–26.

Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman C, et al.: Familial Alzheimer's disease–linked presenilin 1 variants elevate Aβ1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron* (1996) 17:1005–13.

Borchelt DR, Ratovitski T, van Lare J, et al.: Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. *Neuron*. (1997) (4):939–45.

Bornemann KD, Wiederhold KH, Pauli C, et al.: Abeta-induced inflammatory processes in microglia cells of APP23 transgenic mice. *Am J Pathol* (2001) 158:63–73.

Braak H, Braak E: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*. (1991) 82(4):239–259.

Braak H, Braak E, Bohl J: Staging of Alzheimer-related cortical destruction. *Eur.Neurol*. (1993) 33(6):403–8.

Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, Del Tredici K: Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol*. (2011) 70(11):960–9.

Brandt MD, Jessberger S, Steiner B, et al.: Transient calretinin-expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol Cell Neurosci* (2003) 24:603–13.

Bu G: Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. Nature reviews (2009) 10:333–44.

Burghardt NS, Park EH, Hen R, Fenton AA: Adult-born hippocampal neurons promote cognitive flexibility in mice. *Hippoc* (2012) 9:1795–808.

Calhoun ME, Wiederhold KH, Abramowski D, et al.: Neuron loss in APP transgenic mice. *Nature* (1998) 395:755–6.

Cameron H, Woolley C, McEwen B, Gould E: Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neurosci* (1993) 2:337–44.

Cao L, Jiao X, Zuzga DS, et al.: VEGF links hippocampal activity with neurogenesis, learning and memory. *Nat Genet* (2004) 36:827–35.

Carro E, Torres-Aleman I: The role of insulin and insulin-like growth factor I in the molecular and cellular mechanisms underlying the pathology of Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol* (2004) 490:127–33.

Carro E, Trejo JL, Busiguina S, Torres-Aleman I: Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci* (2001) 21:5678–84.

Castellanos MR, Aguiar J, Fernández CI, Almaguer W, Mejias C, Varela A: Evaluation of the neurorestorative effects of the murine beta-nerve growth factor infusions in old rat with cognitive deficit. *Biochem Biophys Res Commun*. (2003) 26;312(4):867–72.

Catlow BJ, Rowe AR, Clearwater CR, Mamcarz M, Arendash GW, Sanchez-Ramos J: Effects of environmental enrichment and physical activity on neurogenesis in transgenic PS1/APP mice. *Brain Res*. (2009) 23:173–179.

Chang M, Jonsson P, Snaedal J, et al.: The effect of midlife physical activity on cognitive function among older adults: AGES – Reykjavik Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. (2010) 65:1369–74.

Colcombe SJ, Kramer AF, Erickson KI, et al.: Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. *Proc Natl Acad Sci USA* (2004a) 101:3316–21.

Colcombe SJ, Kramer AF, McAuley E, Erickson KI, Scalf P: Neurocognitive aging and cardiovascular fitness: recent findings and future directions. *J Mol Neurosci* (2004b) 24:9–14.

Coleman P, Yao P: Synaptic slaughter in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* (2003) 24:1023–7.

Costa DA, Cracchiolo JR, Bachstetter AD, et al.: Enrichment improves cognition in AD mice by amyloid-related and unrelated mechanisms. *Neurobiol Aging* (2007) 6:831–44.

Cummings JL, Cole G: Alzheimer disease. *JAMA* (2002) 287: 2335–8.

Cummings JL, Vinters HV, Cole GM, Khachaturian ZS: Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve and treatment opportunities. *Neurology* (1998) 512–17.

Das GD, Altman J: Postnatal neurogenesis in the caudate nucleus and nucleus accumbens septi in the rat.Brain Res. (1970) 21(1):122–7.

Deadwyler SA, Foster TC, Hampson RE: Processing of sensory information in the hippocampus. *Crit Rev Clin Neurobiol*. (1987) 2(4):335–55.

Diehl J, Kurz A: Treatment of Alzheimer's disease. The status quo. *Med Monatsschr Pharm* (2002) 25:8–12.

Dodel R, Neff F, Noelker C, et al.: Intravenous immunoglobulins as a treatment for Alzheimer's disease: rationale and current evidence. *Drugs*. (2010) 70(5):513–28. Review.

Draganski B, Gaser C, Kempermann G, et al.: Temporal and spatial dynamics of brain structure changes during extensive learning. *J Neurosci* (2006) 26:6314–7.

Dore S, Kar S, Quirion R: Insulin-like growth factor-I protects and rescues hippocampal neurons against beta-amyloid- and human amylin-induced toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* (1997) 94:4772–7

Dumont M, Strazielle C, Staufenbiel M, Lalonde R: Spatial learning and exploration of environmental stimuli in 24-month-old female APP23 transgenic mice with the Swedish mutation. *Brain Res* (2004) 1024:113–21.

During MJ, Cao L: VEGF, a mediator of the effect of experience on hippocampal neurogenesis. *Curr Alzheimer Res* (2006) 3:29–33.

Egan MF, Kojima M, Callicott JH: The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*. (2003) 112(2):257–69.

Ehninger D, Kempermann G: Regional effects of wheel running and environmental enrichment on cell genesis and microglia proliferation in the adult murine neocortex. *Cereb Cortex* (2003) 13:845–51.

Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, et al.: Exercise training increases size of hippocampus and improves memory.*Proc Natl Acad Sci U S A*. (2011) 108(7):3017–22.

Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al.: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* (1998) 4:1313–7.

Ernst C, Olson AK, Pinel J, et al: Antidepressant effects of exercise: evidence for an adult-neurogenesis hypothesis? *J Psychiatry Neurosci* (2006) 31:84–92

Eurelings L, Richard E, Carrano A, Eikelenboom P, van Gool W, Rozemuller A: Dyshoric capillary cerebral amyloid angiopathy mimicking Creutzfeldt-Jakob disease. J Neurol Sci (2010) 295:131–4.

Fabel K, Tam B, Kaufer D, et al.: VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci* (2003) 18:2803–12.

Fabel K, Kempermann G: Physical activity and the regulation of neurogenesis in the adult and aging brain. *Neuromolecular Med* (2008)10:59–66.

Fabel K, Wolf SA, Ehninger D, Babu H, Leal-Galicia P, Kempermann G: Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice. *Front Neurosci*. (2009) 3(50):1-7.

Fahnestock M, Scott SA, Jetté N, Weingartner JA, Crutcher KA: Nerve growth factor mRNA and protein levels measured in the same tissue from normal and Alzheimer's disease parietal cortex. *Brain Res Mol Brain Res*. (1996) 42(1):175–8.

Fahnestock M, Garzon D, Holsinger RM, Michalski B: Neurotrophic factors and Alzheimer's disease: are we focusing on the wrong molecule? *J Neural Transm Suppl*. (2002) 62:241–52.

Falkenberg T, Mohammed AK, Henriksson B, Persson H, Winblad B, Lindefors N: Increased expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus is associated with improved spatial memory and enriched environment. *Neurosci Lett* (1992) 138:153–6.

Farmer J, Zhao X, van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR: Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* (2004) 124:71–9.

Figurov A, Pozzo-Miller LD, Olafsson P, Wang T, Lu B: Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature*. (1996) 381(6584):706–9.

Foundas AL, Leonard CM, Mahoney SM, Agee OF, Heilman KM: Atrophy of the hippocampus, parietal cortex, and insula in Alzheimer's disease: a volumetric magnetic resonance imaging study. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* (1997) 10:81–9.

Forette F, Hauw JJ: Treatment of Alzheimer's disease and future approaches. *Therapie* (2010) 65(5):429–37.

Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B: An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet Neurol* (2004) 3:343–53.

Freude S, Hettich MM, Schumann C, et al.: Neuronal IGF-1 resistance reduces Abeta accumulation and protects against premature death in a model of Alzheimer's disease. FASEB J. (2009) 23(10):3315–24.

Gaarskjaer FB: The organization and development of the hippocampal mossy fiber system. *Brain Res* (1986) 396(4):335–57.

Gan L, Qiaoa S, Lana X, et al.: Neurogenic responses to amyloid-beta plaques in the brain of Alzheimer's disease-like transgenic (pPDGF-APPSw,Ind) mice. *Neurobiol Dis* (2008) 29:71–80.

Garthe A, Behr J, Kempermann G: Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies. *PLoS ONE* (2009) 4 (5):e5464

Glenner GG: Alzheimer's disease. *J Intern Med* (1992) 232:533–4.

Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al.: Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* (1991) 349:704–6.

Goedert M, Fine A, Dawbarn D, Wilcock GK, Chao MV: Nerve growth factor receptor mRNA distribution in human brain: normal levels in basal forebrain in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res*. (1989) 5(1):1–7.

Goedert M, Sisodia SS, Price DL: Neurofibrillary tangles and beta-amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurobiol*. (1991) 1(3):441–7.

Gomez-Pinilla F, Dao L, So V: Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. *Brain Res* (1997) 764:1–8.

Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z: Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci*. (2008) 28(11):2278–87.

Griesbach GS, Hovda DA, Molteni R, Wu A, Gomez-Pinilla F: Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *Neurosci* (2004) 125:129–39.

Grüber A, Köllstadt M, Ley-Köllstadt S, et al.: „Was hilft bei Alzheimer wirklich?", unter: http://dgk.de/aiw/altern-in-wuerde/aktuelles/was-hilft-bei-alzheimer-wirklich.html, abgerufen am 04.04.2012

Hardy J, Higgins GA: Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* (1992) 256:184–185.

Hastings NB, Gould E: Neurons inhibit neurogenesis.*Nat Med.* (2003) (3):264–6.

Haughey NJ, Liu D, Nath A, Borchard AC, Mattson MP: Disruption of neurogenesis in the subventricular zone of adult mice, and in human cortical neuronal precursor cells in culture, by amyloid beta-peptide: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med*. (2002);1(2):125–35

Hebb, D: The effects of early experience on problem solving at maturity. *Amer Psychol* (1947) 2:306.

Hefti F, Hartikka J, Knusel B: Function of neurotrophic factors in the adult and aging brain and their possible use in the treatment of neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging* (1989) 10:515–533.

Hefti F: Development of effective therapy for Alzheimer's disease based on neurotrophic factors. *Neurobiol Aging* (1994) 15:193–4.

Hefti F: Nerve growth factor promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transection. *J Neurosci* (1994)6:2155–2162.

Heinemann U, Zerr I: Demenzen: pathogenetische Grundlagen, biochemische Diagnostik sowie reversible Demenzsyndrome. Neuro forum (2007) 2:47–54.

Hellweg R, Gericke CA, Jendroska K, Hartung HD, Cervos-Navarro J: NGF content in the cerebral cortex of non-demented patients with amyloid-plaques and in symptomatic Alzheimer's disease. *Int J Dev Neurosci* (1998a) 16:787–794.

Hellweg, R.:Nerve growth factor (NGF): pathophysiologic importance and possible therapeutic consequences]. *Nervenarzt* (1992) 63(1):52–6.

Henderson CE, Camu W, Mettling C, et al.: Neurotrophins promote motor neuron survival and are present in embryonic limb bud. *Nature*. (1993) 363(6426):266–70.

Hennigan A, O'Callaghan RM, Kelly AM: Neurotrophins and their receptors: roles in plasticity, neurodegeneration and neuroprotection. *Biochem Soc Trans* (2007) 35:424–427.

Henry RA, Hughes SM, Connor B: AAV-mediated delivery of BDNF augments neurogenesis in the normal and quinolinic acid-lesioned adult rat brain. *Eur J Neurosci*. (2007) 25(12):3513–25.

Herring A, Ambrée O, Tomm M, et al.: Environmental enrichment enhances cellular plasticity in transgenic mice with Alzheimer-like pathology. *Exp. Neurol*. (2009) 216:184–92.

Hill LR, Klauber MR, Salmon DP, et al.: Functional status, education and the diagnosis of dementia in the Shanghai survey. *Neurology* (1993) 43:138–45.

Hofman A, de Jong PT, van Duijn CM, Breteler MM: Epidemiology of neurological diseases in elderly people: what did we learn from the Rotterdam Study? *Lancet Neurol* (2006) 5(6):545–50.

Holzgrabe U, Kapkova P, Alptuzun V, Scheiber J, Kugelmann E:. Targeting acetylcholinesterase to treat neurodegeneration. *Expert Opin Ther Targets* (2007) 11:161–79.

Hörtnagl H, Hellweg R: Insights into the role of the cholinergic component of the septohippocampal pathway: what have we learned from experimental lesion studies? *Brain Res Bull* (1997) 43:245–55.

Hu YS, Xu P, Pigino G, Brady ST, Larson J, Lazarov O: Complex environment experience rescues impaired neurogenesis, enhances synaptic plasticity, and attenuates neuropathology in familial Alzheimer's disease-linked APPswe/PS1DeltaE9 mice. *FASEB J*. (2010) (6):1667–81.

Hung AY, Koo EH, Haass C, Selkoe DJ: Increased expression of beta-amyloid precursor protein during neuronal differentiation is not ccompanied by secretory cleavge. Proc Natl Acad Sci USA (1992); 89:9439–43.

Ickes BR, Pham TM, Sanders LA, et al.: Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp Neurol* (2000) 164:45–52.

Ingram VM: The role of Alzheimer Abeta peptides in ion transport across cell membranes. *Subcell Biochem* (2005) 38:339–49.

Ip NY, Stitt TN, Tapley P, et al.: Similarities and differences in the way neurotrophins interact with the Trk receptors in neuronal and nonneuronal cells. *Neuron*. (1993) 10(2):137–49.

IQWiG: Rapid Report A10-06, Version 1.0 „Responderanalysen zu Memantin bei Alzheimer Demenz“, 28.03.2011, Seite 1, unter: https://www.iqwig.de/download/A1006_RapidReport_Kurzfassung_Responderanalysen_zu_Memantin_bei_Alzheimer_Demenz.pdf (abgerufen am 25.09.2012).

Jan A, Adolfsson O, Allaman I, et al.: Abeta42 neurotoxicity is mediated by ongoing nucleated polymerization process rather than by discrete Abeta42 species. *J Biol Chem* (2011) ;286(10):8585–96.

Jan A, Gokce O, Luthi-Carter R, Lashuel HA: The ratio of monomeric to aggregated forms of Abeta40 and Abeta42 is an important determinant of amyloid-beta aggregation, fibrillogenesis, and toxicity. *J Biol Chem*. (2008)283(42):28176–89.

Jankowsky JL, Savonenko A, Schilling G, et al.: Transgenic mouse models of neurodegenerative disease: opportunities for therapeutic development. *Curr Neurol Neurosci Rep* (2002) 2:457–64.

Jankowsky JL, Xu G, Fromholt D, Gonzales V, Borchelt DR: Environmental enrichment exacerbates amyloid plaque formation in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* (2003) 62:1220–7.

Jankowsky JL, Melnikova T, Fadale DJ, Xu GM, Slunt HH, Gonzales V, Younkin LH, Younkin SG, Borchelt DR, Savonenko AV: Environmental enrichment mitigates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer’s disease. *J Neurosci*. (2005) 25:5217–24.

Jessberger S, Romer B, Babu H, Kempermann G: Seizures induce proliferation and dispersion of doublecortin-positive hippocampal progenitor cells. Exp Neurol. (2005) 196, 2:342–351.

Jin K, Galvan V, Xie L et al.: Enhanced neurogenesis in Alzheimer’s disease transgenic (PDGF-APPSw, Ind) mice. *Proc Natl Acad Sci USA* (2004a) 101(36): 13363–7.

Jin K, Peel AL, Mao X, et al.: Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer’s disease. *Proc Natl Acad Sci USA* (2004b) 101(1):343–7.

Jin K, Mao X, Greenberg DA: Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotektive effect in invitro ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* (2000) 97:10242–7.

Jin K, Sun Y, Xie L, Batteur S: Neurogenesis and aging: FGF-2 and HB-EGF restore neurogenesis in hippocampus and subventricular zone of aged mice. *Aging Cell*. (2003) 2(3):175–83.

Joëls M, Karst H, Krugers HJ, Lucassen PJ: Chronic stress: Implications for neuronal morphology, function and neurogenesis*. Front Neuroendocrinol (*2007*) 28:*72–96*.*

Kaplan DR, Miller FD: Neurotrophin signal transduction in the nervous system. Curr Opin Neurobiol (2000) 10:381–91.

Kaplan MS, Hinds JW: Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* (1977) 197:1092–4.

Katzman R, Terry R, DeTeresa R, Brown T, Davies P, Fuld P, Renbing X, Peck A: Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: A subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* (1988) 23:138–144.

Katzman R: Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology* (1993) 43:13–20.

Kelly PH, Bondolfi L, Hunziker D, et al.: Progressive age-related impairment of cognitive behavior in APP23 transgenic mice. *Neurobiol Aging* (2003) 24:365–78.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH: More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* (1997) 386:493–495.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH: Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J. Neurosci.* (1998) 18:3206–12.

Kempermann G, Gast D, Gage FH: Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Ann Neurol* (2002) 52:135–43.

Kempermann G, Gast D, Kronenberg G, Yamaguchi M, Gage FH: Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. Development. (2003) 130(2):391–9.

Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G: Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* (2004) 27:447–52.

Kempermann G: The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for? Trends in Neuroscience. (2008) 31:163–9.

Kempermann G, Fabel K, Ehninger D, et al.: Why and how physical activity promotes experience-induced brain plasticity. *Front Neurosci*. (2010) (4)189:1-9.

Kiyota T, Ingraham KL, Jacobsen MT, Xiong H, Ikezu T: FGF2 gene transfer restores hippocampal functions in mouse models of Alzheimer's disease and has therapeutic implications for neurocognitive disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (2011)108(49):E1339-48. Epub 2011 Oct 31. Erratum in: Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Dec 27;108(52):21282.

Klafki H, Abramowski D, Swoboda R, Paganetti PA, Staufenbiel M: The carboxyl termini of beta-amyloid peptides 1-40 and 1-42 are generated by distinct gamma-secretase activities. *J Biol Chem* (1996) 271:28655–9.

Klein R, Jing SQ, Nanduri V, O'Rourke E, Barbacid M: The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell* (1991) 65:189–97.

Knaepen K, Goekint M, Heyman EM, Meeusen R: Neuroplasticity – exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor. Sports Med (2010) 40:765–801

Knoth R, Singec I, Ditter M, et al.: Murine features of neurogenesis in the human hippocampus across the lifespan from 0 to 100 years. PLoS One. 2010 Jan 29;5(1):e8809.

Knüsel B, Winslow JW, Rosenthal A, et al.: Promotion of central cholinergic and dopaminergic neuron differentiation by brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin 3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (1991) 88(3):961–5.

Kornhuber HH: Prevention of Dementia (Including Alzheimer's Disease). *Gesundheitswesen* (2004) 66:346–51.

Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH: Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*. (1996) 16:2027–33.

Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, Thal LJ, Gage FH: J Neurosci. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain *J Neurosci* (1997) 17(15):5820–9.

Kuhn HG, Cooper-Kuhn C, Boekhoorn K, Lucassen P: Changes in neurogenesis in dementia and Alzheimer mouse models: are they functionally relevant? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. (2007) 257:281–9.

Kumar A, Rani A, Tchigranova O, Lee WH, Foster TC. Influence of late-life exposure to environmental enrichment or exercise on hippocampal function and CA1 senescent physiology. *Neurobiol Aging*. (2012)33(4):828.e1–17

Kril JJ, Hodges J, Halliday G: Relationship between hippocampal volume and CA1 neuron loss in brains of humans with and without Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* (2004) 361:9–12.

Kronenberg G, Reuter K, Steiner B, et al.: Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J Comp Neurol* (2003) 467:455–63.

Kronenberg G, Bick-Sander A, Bunk E, Wolf C, Ehninger D, Kempermann G: Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. *Neurobiol Aging* (2006) 10:1505–13.

Krucker T, Schuler A, Meyer EP, Staufenbiel M, Beckmann N: Magnetic resonance angiography and vascular corrosion casting as tools in biomedical research: application to transgenic mice modeling Alzheimer's disease. *Neurol Res* (2004) 26:507–16.

Lalonde R, Dumont M, Staufenbiel M, Sturchler-Pierrat C, Strazielle C: Spatial learning, exploration, anxiety, and motor coordination in female APP23 transgenic mice with the Swedish mutation. *Brain Res* (2002) 956:36–44.

Larsson E, Nanobashvili A, Kokaia Z, Lindvall O: Evidence for neuroprotective effects of endogenous brain-derived neurotrophic factor after global forebrain ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* (1999) 19:1220–8.

Laske C, Stellos K, Hoffmann N, et al.: Higher BDNF serum levels predict slower cognitive decline in Alzheimer's disease patients. *Int J Neuropsychopharmacol*. (2011) 14(3):399–404.

Laske C, Stransky E, Leyhe T, et al.: BDNF serum and CSF concentrations in Alzheimer's disease, normal pressure hydrocephalus and healthy controls. *J Psychiatr Res*. (2007) 41(5):387–94.

Laske C, Eschweiler G: Brain-derived neurotrophic factor. Vom Nervenwachstumsfaktor zum Plastizitätsmodulator bei kognitiven Prozessen und psychischen Erkrankungen. *Nervenarzt* (2006) 77:523–37.

Lazarov O, Robinson J, Tang YP, et al.: Environmental enrichment reduces Abeta levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell* (2005) 120:701–13.

Lazarov O, Mattson MP, Peterson DA, Pimplikar SW, van Praag H: When neurogenesis encounters aging and disease. *Trends Neurosci.* (2010)3 3(12):569–79.

Lee E, Son H. Adult hippocampal neurogenesis and related neurotrophic factors. *BMB Rep*. (2009)42(5):239–44.

Levi-Montalcini R, Skaper SD, Dal Toso R, Petrelli L, Leon A: Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokine. *Trends Neurosci* (1996) 19:514–20.

Levy-Lahad E*,* Wasco W*,* Poorkaj P, et al.: Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus*. Science (*1995*)* 269:973–7*.*

Lewin GR, Barde YA: Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci*. (1996) 19:289–317.

Lichtenwalner R, Forbes M, Bennett S, Lynch C, Sonntag W, Riddle D: Intracerebroventricular infusion of insulin-like growth factor-I ameliorates the age-related decline in hippocampal neurogenesis. *Neuroscience* (2001) 107:603–13.

Lindholm D, Carroll P, Tzimagiogis G, Thoenen H: Autocrine-paracrine regulation of hippocampal neuron survival by IGF-1 and the neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4. *Eur J Neurosci*. (1996) 8(7):1452–60.

Link B: Epidemiological sociology and the social shaping of population health. *J Health Soc Behav* (2008) 49:367–84.

Llorens-Martín M, Torres-Alemán I, Trejo JL: Exercise modulates insulin-like growth factor 1-dependent and -independent effects on adult hippocampal neurogenesis and behaviour. *Mol Cell Neurosci*. (2010) 44(2):109–17

Lois C, Alvarez-Buylla A: Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia.*Proc Natl Acad Sci U S A* (1993) 90:2074–7.

Lopez-Toledano M, Shelanski M: Increased neurogenesis in young transgenic mice overexpressing human APP {Sw, Ind}. *J Alzheimers Dis* (2007) 12:229–40.

Luppi C, Fioravanti M, Bertolini B, et al.: Growth factors decrease in subjects with mild to moderate Alzheimer's disease (AD): potential correction with dehydroepiandrosterone-sulphate (DHEAS). *Arch Gerontol Geriatr*. (2009) 49 Suppl 1:173–84.

Maguire E, Gadian D, Johnsrude I, et al.: Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2000) 97:4398–403.

Markakis EA, Palmer TD, Randolph-Moore L, Rakic P, Gage FH: Novel neuronal phenotypes from neural progenitor cells. *J Neurosci.* (2004) 24(12):2886–97.

Markham JA, Greenough WT: Experience-driven brain plasticity: beyond the synapse. *Neuron Glia Biol*. (2004)1(4):351–63. Epidemiology. 2001 Jul;12(4):383–9.

Marlatt M, Lucassen P: Neurogenesis and Alzheimer's disease: Biology and pathophysiology in mice and men. *Curr Alzheimer Res* (2010) 7:113–25.

Marlatt MW, Potter MC, Lucassen PJ, van Praag H: Running throughout middle-age improves memory function, hippocampal neurogenesis, and BDNF levels in female C57BL/6J mice. Dev Neurobiol. (2012) 72 (6):943–52.

Masliah E, Mallory M, Alford M, et al.: Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease. *Neurology* (2001) 56:127–29.

Masters CL, Multhaup G, Simms G, et al.: Neuronal origin of a cerebral amyloid: neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease contain the same protein as the amyloid of plaque cores and blood vessels. *Embo J* (1985) 4:2757–63.

Middlemas DS, Lindberg RA, Hunter T: trkB, a neural receptor protein-tyrosine kinase: evidence for a full-length and two truncated receptors. *Mol Cell Biol*. (1991) 11(1):143–53.

Minichiello L: TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci*. (2009) 10(12):850–60.

Mirescu C, Gould E: Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus*. (2006) (3):233–8.

Mirochnic S, Wolf S, Staufenbiel M, Kempermann G: Age effects on the regulation of adult hippocampal neurogenesis by physical activity and environmental enrichment in the APP23 mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus* (2009) 10:1008–18.

Moceri V, Kukull W, Emanuel I, van Belle G, Larson E: Early-life risk factors and the development of Alzheimer's disease. *Neurology* (2000) 54:415–20.

Moceri VM, Kukull WA, Emanual I: Using census data and birth certificates to reconstruct the early-life socioeconomic environment and the relation to the development of Alzheimer's disease.*Epidemiology*. 2001)12(4):383–9.

Mortimer JA: Brain reserve and the clinical expression of Alzheimer's disease. *Geriatrics* (1997) 52 Suppl 2:50–3.

Mu Y, Gage FH: Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. (2011) 22;6:85.

Mueller S, Schuff N, Yaffe K, Madison C, Miller B, Weiner M: Hippocampal atrophy patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp* (2010) 31:1339–47.

Mufson EJ, Kordower JH: Nerve growth factor receptor expressing human basal forebrain neurons: pathologic alterations in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Prog Clin Biol Res*. (1989) 317:401–14.

Mullen RJ, Buck CR, Smith AM: NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates *Development*. (1992) 116(1):201–11.

Murer MG, Yan Q, Raisman-Vozari R: Brain-derived neurotrophic factor in the

control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Prog Neurobiol (2001) 63(1):71–124.

Nanobashvili A, Jakubs K, Kokaia M. Chronic BDNF deficiency permanently modifies excitatory synapses in the piriform cortex. J Neurosci Res. 2005 Sep 1;81(5):696–705.

Narisawa-Saito M, Wakabayashi K, Tsuji S, Takahashi H, Nawa H: Regional specificity of alterations in NGF, BDNF and NT-3 levels in Alzheimer's disease. Neuroreport (1996) 7(18):2925–8

Nagahara A, Merrill D, Coppola G, et al.: Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. Nat Med (2009) 15:331–7.

Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman C: Exercise and brain neurotrophins. *Nature* (1995) 373:109.

Niikura T, Hashimoto Y, Okamoto T, et al.: Insulin-like growth factor I (IGF-I) protects cells from apoptosis by Alzheimer's V642I mutant amyloid precursor protein through IGF-I receptor in an IGF-binding protein-sensitive manner. *J Neurosci* (2001) 21:1902–10.

Ogunshola OO, Antic A, Donoghue MJ, Fan SY, Kim H, Stewart WB, Madri JA, Ment LR: Paracrine and autocrine functions of neuronal vascular endothelial growth factor (VEGF) in the central nervoussystem. *J Biol Chem* (2002) 277:11410–5.

Okada-Ban M, Thiery JP, Jouanneau J: Fibroblast growth factor – 2, *The International Journal of Biochemistry & and Cell Biology* (2000) 32:263–7.

Oswald WD, Ackermann A: Kognitive Aktivierung mit SimA®. Selbständig im Alter. WienNewYork (2009a).

Oswald WD, Ackermann A: Psychomotorische Aktivierung mit SimA®. Selbständig im Alter. Wien New York (Springer) (2009c).

Ozan E, Okur H, Eker C, Eker OD, Gönül AS, Akarsu N: The effect of depression, BDNF gene val66met polymorphism and gender on serum BDNF levels. *Brain Res Bull*. (2010) 15;81(1):61–5.

Palmer TD, Markakis EA, Willhoite AR, Safar F, Gage FH: Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult CNS. *J Neurosci*. (1999) 1;19(19):8487–97.

Palmer TD, Ray J, Gage FH: FGF-2-responsive neuronal progenitors reside in proliferative and quiescent regions of the adult rodent brain. *Mol Cell Neurosci*. (1995) 6(5):474–86.

Pencea V, Bingaman KD, Wiegand SJ, Luskin MB: Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *J Neurosci* (2001) 21:6706–17.

Pascual M, Rocamora N, Acsady L, Freund TF, Soriano E: Expression of nerve growth factor and neurotrophin-3 mRNAs in hippocampal interneurons: morphological characterization, levels of expression, and colocalization of nerve growth factor and neurotrophin-3. *J Comp Neurol* (1998) 395:73–90.

Peng S, Wuu J, Mufson EJ, Fahnestock M: Increased proNGF levels in subjects with mild cognitive impairment and mild Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. (2004) 63(6):641–9.

Peng S, Wuu J, Mufson EJ, Fahnestock M: Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* (2005)93(6):1412–21.

Pham TM, Ickes B, Albeck D, Soderstrom S, Granholm AC, Mohammed AH: Changes in brain nerve growth factor levels and nerve growth factor receptors in rats exposed to environmental enrichment for one year. *Neuroscience* (1999a) 94:279–86.

Pham TM, Soderstrom S, Winblad B, Mohammed AH: Effects of environmental enrichment on cognitive function and hippocampal NGF in the non-handled rats. *Behav Brain Res* (1999b) 103:63–70.

Pham TM, Winblad B, Granholm AC, Mohammed AH: Environmental influences on brain neurotrophins in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. (2002) 73(1):167–75.

Phillips HS, Hains JM, Armanini M, Laramee GR, Johnson SA, Winslow JW: BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimer's disease.*Neuron*. (1991) 7(5):695–02.

Phinney AL, Deller T, Stalder M, et al.: Cerebral amyloid induces aberrant axonal sprouting and ectopic terminal formation in amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* (1999) 19:8552–9.

Pitts AF, Miller MW: Expression of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin-3 in the somatosensory cortex of the mature rat: coexpression with high-affinity neurotrophin receptors. *J Comp Neurol* (2000) 418:241–54.

Plümpe T, Ehninger D, Steiner B, et al.: Variability of doublecortin-associated dendrite maturation in adult hippocampal neurogenesis is independent of the regulation of precursor cell proliferation. *Neurosci*. (2006) 7(77):1-14.

Rai KS, Hattiangady B, Shetty AK: Enhanced production and dendritic growth of new dentate granule cells in the middle-aged hippocampus following intracerebroventricular FGF-2 infusions. *Eur J Neurosci*. (2007) 26(7):1765–79

Rodriguez-Tebar A, Dechant G, Gotz R, Barde YA: Binding of neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *EMBO J* (1992) 11:917–22.

Rovio S, Kareholt I, Helkala E, Viitanen M, Winblad B, Tuomilehto J, Soininen H, Nissinen A, Kivipelto M: Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* (2005) 4:705–11.

Rozen S, Skaletsky HJ: Primer3 on the www for general users and for biologist programmrs. In: Krawetz S, Misener S *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology* (2000) *Humana Press*, Totowa, NJ, 365–86.

Rozmahel R, Huang J, Chen F, et al: Normal brain development in PS1 hypomorphic mice with markedly reduced gamma-secretase cleavage of betaAPP. *Neurobiol Aging* (2002) 23:187–94.

Sapolsky RM: The influence of social hierarchy on primate health. *Science* (2005) 308:648–52.

Saczynski JS, Pfeifer LA, Masaki K, et al.: The effect of social engagement on incident dementia: the Honolulu-Asia Aging Study. *Am J Epidemiol* (2006) 163:433–40.

Scarmeas N, Stern Y: Cognitive reserve and lifestyle*. J Clin Exp Neuropsychol*(2003) 25:625–633.

Scarmeas N, Luchsinger JA, Brickman AM: Physical activity and Alzheimer disease course. *Am J Geriatr Psychiatry*. (2011) 19:471–81.

Scott SA, Mufson EJ, Weingartner JA, Skau KA, Crutcher KA: Nerve growth factor in Alzheimer's disease: increased levels throughout the brain coupled with declines in nucleus basalis. *J Neurosci*. (1995)15(9):6213–21.

Scoville WG: The limbic lobe in man. *J Neurosurg* (1954)11:64–6.

Scoville W, Milner B: Loss of Recent Memory After Bilateral Hippocampal Lesions.1957. *J Neuropsychiatry and Clin Neurosci* (2000) 12:103-13.

Schanzer A, Wachs FP, Wilhelm D, et al.: Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol* (2004) 14:237–48.

Schenk D: Amyloid-beta immunotherapy for Alzheimer's disease: the end of the beginning. *Nat Rev Neurosci*. 2002 Oct;3(10):824–8.

Scheuner D, Eckman C, Jensen M, et al.: Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med*. (1996)2(8):864–70.

Schmitz A, Tikkanen R, Kirfel G, Herzog V: The biological role of the Alzheimer amyloid precursor protein in epithelial cells. Histochem Cell Biol (2002) 117:171–180.

Schmitz C, Rutten BP, Pielen A, et al.: Hippocampal neuron loss exceeds amyloid plaque load in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* (2004) 164:1495–02.

Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J: Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* (2004) 429:184–7.

Schulte-Herbrüggen O, Jockers-Scherübl MC, Hellweg R: Neurotrophins: from pathophysiology to treatment in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* (2008) 5(1):38–4.

Schütte A, Yan Q, Mestres P, Giehl KM: The endogenous survival promotion of axotomized rat corticospinal neurons by brain-derived neurotrophic factor is mediated via paracrine, rather than autocrine mechanisms. *Neurosci Lett*. (2000) 1;290(3):185–8.

Segi-Nishida E, Warner-Schmidt JL, Duman RS: Electroconvulsive seizure and VEGF increase the proliferation of neural stem-like cells in rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2008) Aug 12;105(32):11352-7. doi: 10.1073/pnas.0710858105. Epub 2008 Aug 5.

Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, et al.: Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. (2010) 298(2):R372–7.

Seki T, Arai Y: Age-related production of new granule cells in the adult dentate gyrus. Neuroreport. 1995 Dec 15;6(18):2479–82.

Selkoe DJ: Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* (2002) 298:789–91.

Selkoe DJ: Biochemistry and molecular biology of amyloid beta-protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Handb Clin Neurol*. (2008) 89:245–60.

Selkoe DJ, Schenk D: Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003;43:545–84. Epub 2002 Jan 10.

Seri B, García-Verdugo JM, McEwen BS, Alvarez-Buylla A: Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J Neurosci.* 2001 Sep 15;21(18):7153–60.

Sherrington R, Rogaev E, Liang Y, et al.: Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature (*1995*)* 375:754–760.

Shimazu K, Zhao M, Sakata K, et al.: NT-3 facilitates hippocampal plasticity and learning and memory by regulating neurogenesis. *Learn Mem*.(2006) 13(3):307–15.

Sierra AM, Encinas JM, Maletic-Savatic M: Adult Human Neurogenesis: From Microscopy to Magnetic Resonance Imaging Front Neurosci. (2011) online April 4 5:47.

Snowdon DA, Kemper SJ, Mortimer JA, Greiner LH, Wekstein DR, Markesbery WR: Linguistic ability in early life and cognitive function and Alzheimer's disease in late life. Findings from the Nun Study. *JAMA* (1996) 275:528–32.

Snowdon DA: Aging and Alzheimer's disease: Lessons from the Nun Study. *Geront*. (1997) 37:150–6.

Solerte SB, Ferrari E, Cuzzoni G, et al.: Decreased release of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor in Alzheimer's disease: recovering effect with insulin and DHEA sulfate. *Dement Geriatr Cogn Disord* (2005) 19:1–10.

Stanfield BB, Trice JE: Evidence that granule cells generated in the dentate gyrus of adult rats extend axonal projections. Exp Brain Res. (1988) 72(2):399–406.

Staff RT, Murray AD, Deary IJ, Whalley LJ: What provides cerebral reserve? *Brain* (2004) 127:1191–9.

Steiner B, Kronenberg G, Jessberger S, Brandt MD, Reuter K, Kempermann G: Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia* (2004) 46:41–52.

Stern Y: Cognitive reserve and Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* (2006) 20:112–17

Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, et al.: Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* (1997) 94:13287–92.

Sturchler-Pierrat C, Staufenbiel M: Pathogenic mechanisms of Alzheimer's disease analyzed in the APP23 transgenic mouse model. *Ann N Y Acad Sci* (2000) 920:134–9.

Swanson LW, Wyss JM, Cowan WM: An autoradiographic study of the organization of intrahippocampal association pathways in the rat. *J Comp Neurol* (1978) 181:681–715.

Tanaka J, Horiike Y, Matsuzaki M, Miyazaki T, Ellis-Davies GC, Kasai H: Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines. *Science*. (2008) 319(5870):1683–7.

Tanzi RE, Kovacs DM, Kim TW, Moir RD, Guenette SY, Wasco W: The gene defects responsible for familial Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. (1996);3(3):159–68.

Teather LA, Magnusson JE, Chow CM, Wurtman RJ: Environmental conditions influence hippocampus-dependent behaviours and brain levels of amyloid precursor protein in rats. *Eur J Neurosci* (2002) 16:2405–15.

Terry RD, Hansen LA, DeTeresa R, Davies P, Tobias H, Katzman R: Senile dementia of the Alzheimer type without neocortical neurofibrillary tangles. *J Neuropathol Exp Neurol* (1987) 46:262–268.

Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R: The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: comparison with the periphery. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* (1987) 109:145–78.

Thompson PM, Hayashi KM, De Zubicaray GI, et al.: Mapping hippocampal and ventricular change in Alzheimer disease. *Neuroimage* (2007) 36:1397–8.

deToledo-Morrell L, Stoub TR, Wang C: Hippocampal atrophy and disconnection in incipient and mild Alzheimer's disease. *Prog Brain Res*. (2007)163:741–53.

Tonini G, Shanks MF, Venneri A: Short-term longitudinal evaluation of cerebral blood flow in mild Alzheimer's disease. *Neurol Sci.* (2003) 24(1):24–30.

Torasdotter M, Metsis M, Henriksson BG, Winblad B, Mohammed AH: Environmental enrichment results in higher levels of nerve growth factor mRNA in the rat visual cortex and hippocampus. *Behav Brain Res* (1998) 93:83–90.

Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I: Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* (2001) 21:1628–34.

Trejo JL, Llorens-Martín MV, Torres-Alemán I: The effects of exercise on spatial learning and anxiety-like behavior are mediated by an IGF-I-dependent mechanism related to hippocampal neurogenesis. *Mol Cell Neurosci*. (2008) 37(2):402–11.

Tuszynski M: Intraparenchymal NGF infusions rescue degenerating cholinergic neurons. *Cell Transplant* (2000) 9:629–36.

Tuszynski MH, Thal L, Pay M, Salmon DP, U HS, Bakay R, Patel P, Blesch A, Vahlsing HL, Ho G, Tong G, Potkin SG, Fallon J, Hansen L, Mufson EJ, Kordower JH, Gall C, Conner J: A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat Med* (2005) 11:551–5.

Van Dam D, D'Hooge R, Staufenbiel M, Van Ginneken C, Van Meir F, De Deyn PP: Age-dependent cognitive decline in the APP23 model precedes amyloid deposition. *Eur J Neurosci* (2003) 17:388–96.

Van Leuven F: Single and multiple transgenic mice as models for Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* (2000) 61:305–12.

Van Praag H, Kempermann G, Gage FH: Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* (1999) 2:266–70.

Van Praag H, Kempermann G, Gage FH: Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* (2000) 1:191–8.

Van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH: Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* (2002) 415:1030–4.

Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH: Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*. (2005) 25(38):8680–5.

Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH: Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*. (2005) 25(38):8680–5.

Vantini G: The pharmacological potential of neurotrophins: a perspective. *Psychoneuroendocrinology* (1992) 17(4):401–10.

Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F: Hippocampal BDNF mediates the efficancy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci*. (2004) 20(10):2580–90.

Vedovelli K, Silveira E, Velho E: Effects of increased opportunity for physical exercise and learning experiences on recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels in brain and serum of rats. Neuroscience. 2011 Dec 29;199:284–91.

Vivar C, Potter MC, van Praag H: All About Running: Synaptic Plasticity, Growth Factors and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Curr Top Behav Neurosci*. (2012) Jul 31.

Waltenberger J, Jehle PM, Engele J, Kühl M, Wedlich D, Reinshagen M: Wachstumsfaktormodulation als therapeutisches Prinzip. *Dt. Ärztebl* (2001), 98(51–52):49 A-3452 / B-2909 / C-2705

Wang J, Tanila H, Puolivali J, Kadish I, van Groen T: Gender differences in the amount and deposition of amyloidbeta in APPswe and PS1 double transgenic mice. *Neurobiol Dis* (2003) 14:318–27.

Wang L, Swank JS, Glick IE et al.: Changes in hippocampal volume and shape across time distinguish dementia of the Alzheimer type from healthy aging. *Neuroimage*. (2003) 20:667–82.

Weih M, Abu-Omar K, Esselmann H, et al.: Physical Activity and Prevention of Alzheimer's Dementia Current Evidence and Feasibility of an Interventional Trial. *Fortschr Neurol Psychiatr* (2009) 77(3):146–151

Wen PH, Hof PR, Chen X, et al.: The presenilin-1 familial Alzheimer disease mutant P117L impairs neurogenesis in the hippocampus of adult mice. *Exp Neurol* (2004) 188:224–37.

Weyer S, Bickel H: Epidemiologie psychischer Erkrankungen im höheren Lebensalter, Grundriss Gerontologie, (2007) Band 14, Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart

Whitehouse PJ, Struble RG, Clark AW, Price DL: Alzheimer disease: plaques, tangles, and the basal forebrain. *Ann Neurol*.(1982) 12(5):494.

Wilson RS, Mendes De Leon CF, Barnes LL, et al.: Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *JAMA* (2002) 287:742–8.

Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, et al.: Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load. *J Neurochem*. (2007) 101(4):1053–9.

Wirths O, Multhaup G, Bayer TA: A modified beta-amyloid hypothesis: intraneuronal accumulation of the beta-amyloid peptide – the first step of a fatal cascade. *J Neurochem* (2004) 91:513–520.

Wolf SA, Kronenberg G, Lehmann K, et al.: Cognitive and physical activity differently modulates disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* (2006) 60:1314–23.

Wolfe M: When loss is gain: reduced presenilin proteolytic function leads to increased Aβ42/Aβ40. *EMBO reports*. (2007) 8:136–40.

Yang SP, Bae DG, Kang HJ, Gwag BJ, Gho YS, Chae CB: Co-accumulation of vascular endothelial growth factor with beta-amyloid in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* (2004) 25:283–90.

Yankner BA, Caceres A, Duffy LK: Nerve growth factor potentiates the neurotoxicity of beta amyloid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (1990) 87(22):9020–3.

Yasutake C, Kuroda K, Yanagawa T, Okamura T, Yoneda H: Serum BDNF, TNF-alpha and IL-1beta levels in dementia patients: comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. (2006) 256(7):402–6.

Yla-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J: Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascularmedicine. *J Am Coll Cardiol* (2007) 49:1015–26.

Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, During MJ: Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat Med* (1999) 5:448–453.

Zhang C, McNeil E, Dressler L, Siman R: Long-lasting impairment in hippocampal neurogenesis associated with amyloid deposition in a knock-in mouse model of familial Alzheimer's disease. *Exp Neurol* (2007) 204:77–87.

Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, et al.: Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. J Neurosci. (2006) 1:3–11.

Zhao C, Deng W, Gage FH: Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. (2008) *Cell* 132:645–660.

Zhu SW, Codita A, Bogdanovic N, et al.: Influence of environmental manipulation on exploratory behaviour in male BDNF knockout mice. *Behav Brain Res.* (2009)197(2):339–46.

Ziegenhorn AA, Schulte-Herbrüggen O, Danker-Hopfe H, et al.: Serum neurotrophins – a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiol Aging*. (2007) 28(9):1436–45.

Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Wolf SA, Kronenberg G, Lehmann K, Blankenship A, Overall R, Staufenbiel M, Kempermann G (2006): Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease. Biol Psychiatry. 12:1314–1323.

Gimsa U, Peter SA, Lehmann K, Bechmann I, Nitsch R (2000): Axonal damage induced by invading T cells in organotypic central nervous system tissue *in vitro*. Brain Pathology 10: 365–377.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Kathrin Lehmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Aktivitätsabhängige Genregulation von Neurotrophen Faktoren und Wachstumsfaktoren am transgenen Alzheimer Mausmodell“* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.
Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE – *www.icmje.org*) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s. o) und werden von mir verantwortet.
Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s. o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum Unterschrift

<u>Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen</u>

Kathrin Lehmann hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Wolf SA, Kronenberg G, Lehmann K, Blankenship A, Overall R, Staufenbiel M, Kempermann G: Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer’s disease. Biol Psychiatry. (2006) 12:1314–1323.

Beitrag im Einzelnen: Aufarbeitung des Probenmaterials, RNA-Extraktion, sämtliche molekularbiologischen Arbeiten, sowie die Auswertung, Statistik und Interpretation der Ergebnisse

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Gerd Kempermann für die Idee zum Thema meiner Dissertation und die sehr gute Betreuung während der gesamten Zeit.

Ich danke sehr Frau Dr. Susanne Wolf für die theoretische Einarbeitung in das Thema, die methodische Unterstützung während meiner Tätigkeit im Labor und die fachliche Auseinandersetzung.

Vielen Dank an die Kollegen in der ehemaligen Arbeitsgruppe „Neuronale Stammzellen“ am MDC-Berlin, mit denen ich zusammen gearbeitet habe: Dr. Friederike Klempin, Dr. Harish Babu, Dr. Claudia Wolf, Dr. Rupert Overall, Frank Rolfs und Dr. Dan Ehninger sowie Ruth Zarmstorff und Ulrike Ziegler, die mich in die Techniken der Molekularbiologie eingewiesen haben.

Volker und Felix danke ich für ihre große Geduld und Liebe. Sie haben mir die Möglichkeit gegeben, diesen Weg zu gehen.

Danken möchte ich auch meinen Eltern, sowie all denjenigen, die mich unterstützt haben, durch konstruktive Gespräche, Fragen und nicht zuletzt durch Ermutigung.