

1 Einleitung

1.1 Gliederung des Nervensystems

Die Hauptaufgabe des Nervensystems ist die Wahrnehmung von Sinnesreizen, die Integration der Reizinformation und eine entsprechende Reizantwort. Man gliedert es in einen peripheren (PNS) und einen zentralen (ZNS) Anteil. Das ZNS umfasst Gehirn und Rückenmark, die beide von einer gemeinsamen embryonalen Anlage stammen und auch funktionell wie anatomisch untrennbar miteinander verbunden sind. Das PNS kann als Rezeptions- und Ausführungsorgan des ZNS bezeichnet werden. Es wird von sämtlichen Nerven vertreten, die den Körper durchziehen und als sensible oder motorische Leitungsbahnen entweder Impulse von der Peripherie zum ZNS (afferent) oder vom ZNS in die Peripherie (efferent) tragen. Eine weitere Unterteilung ist diejenige in somatisches und vegetatives Nervensystem, welche sowohl im zentralen wie peripheren Nervensystem getroffen wird. Das somatische Nervensystem dient der bewussten Wahrnehmung und Steuerung der Körperperipherie. Das vegetative Nervensystem reguliert die Funktion der inneren Organe und Gefäße und dient damit dem Erhalt eines inneren Milieus. Es gliedert sich in zwei funktionell antagonistische Anteile, den Sympathikus und den Parasympathikus. Nahezu alle Organsysteme werden von beiden Anteilen des vegetativen Nervensystems innerviert. Das übergeordnete Steuerzentrum des vegetativen Nervensystems ist der Hypothalamus, der wiederum unter dem Einfluss des limbischen Systems steht.

1.2 Das Limbische System

Das Limbische System ist eine funktionell eng verknüpfte Einheit des Gehirns, die eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung von Emotionen, der Gedächtnisbildung und der Entstehung von Antrieb und Motivation spielt. Es setzt sich aus einer Ansammlung mehrerer Gehirnstrukturen zusammen, die den Hirnstamm wie ein Saum (lat.: limbus) umgeben.

Die wichtigsten Zentren mit ihren Funktionen sind folgende:

- Hippocampus: Gedächtnis, Verhalten, Orientierung und Motivation
- Gyrus cinguli: vegetative Modulation, psycho- und lokomotorischer Antrieb
- Gyrus parahippocampalis mit der Regio entorhinalis: Gedächtnis, Zuleitung von Sinnesinformationen zu anderen Teilen des limbischen Systems
- Corpus amygdaloideum: Affektverhalten, Affektmotorik, Beeinflussung vegetativer und sexueller Funktionen
- Corpus mamillare: Gedächtnis, Affektverhalten, Beeinflussung von Sexualfunktionen

1.3 Der Hippocampus

Ich habe mich mit einem speziellen Teil des limbischen Systems, dem Hippocampus beschäftigt. Der Hippocampus liegt zum größten Teil im Schläfenlappen an der Medialwand des Seitenventrikelunterhorns. Ihm gehören folgende Strukturen an:

- Gyrus dentatus
- Cornu ammonis (Ammonshorn)

Afferenzen erhält der Hippocampus besonders zahlreich vom entorhinalen Kortex, über die ihm Impulse aus dem Riechhirn, dem Corpus amygdaloideum und dem Neokortex zufließen. Auf diese Weise werden dem Hippocampus unter anderem somatische, visuelle, auditorische, olfaktorische und motorische Informationen in modulierter Form vermittelt. Weiterhin erhält er afferente Fasern aus dem Thalamus, Gyrus cinguli und dem Septum. Nahezu alle Efferenzen des Hippocampus verlaufen im Fornix. Dieser gibt auf seinem Weg Faserzüge an das Septum, Corpus amygdaloideum, den Hypothalamus und den kontralateralen Hippocampus ab und zieht mit dem Hauptteil der Fasern zu den Corpora mamillaria.

Im Hippocampus fließen somit Informationen verschiedener sensorischer Systeme zusammen, die verarbeitet und von dort zum Kortex zurückgesandt werden. Er ist eminent wichtig für die Gedächtniskonsolidierung, also die Überführung von Gedächtnisinhalten aus dem Kurzzeit- in das Langzeitgedächtnis. Menschen, deren Hippocampi entfernt oder zerstört wurden, können keine neuen Erinnerungen formen und weisen eine anterograde Amnesie auf. Der Hippocampus wird als Struktur gesehen, die Erinnerungen generiert, während die Gedächtnisinhalte an verschiedenen anderen Stellen in der Großhirnrinde gespeichert werden.

Neben der Funktion der Gedächtnisbildung scheinen dem Hippocampus wie auch anderen Bestandteilen des limbischen Systems zahlreiche Aufgaben für das Zustandekommen von Aggression, Affektverhalten, Bewusstsein und Motivation zuzukommen.

1.4 Histologie des Hippocampus

Im Querschnitt zeigt der Hippocampus die Struktur des Ammonshorns (Cornu ammonis = CA), das durch die eingerollte Archikortexstruktur zustande kommt. Seine histologische Struktur ähnelt derjenigen des restlichen Archikortex, so dass er repräsentativ für den dreischichtigen so genannten Allokortex steht, der dem sechsschichtigen Neokortex gegenübergestellt wird. Man kann folgende Felder unterscheiden:

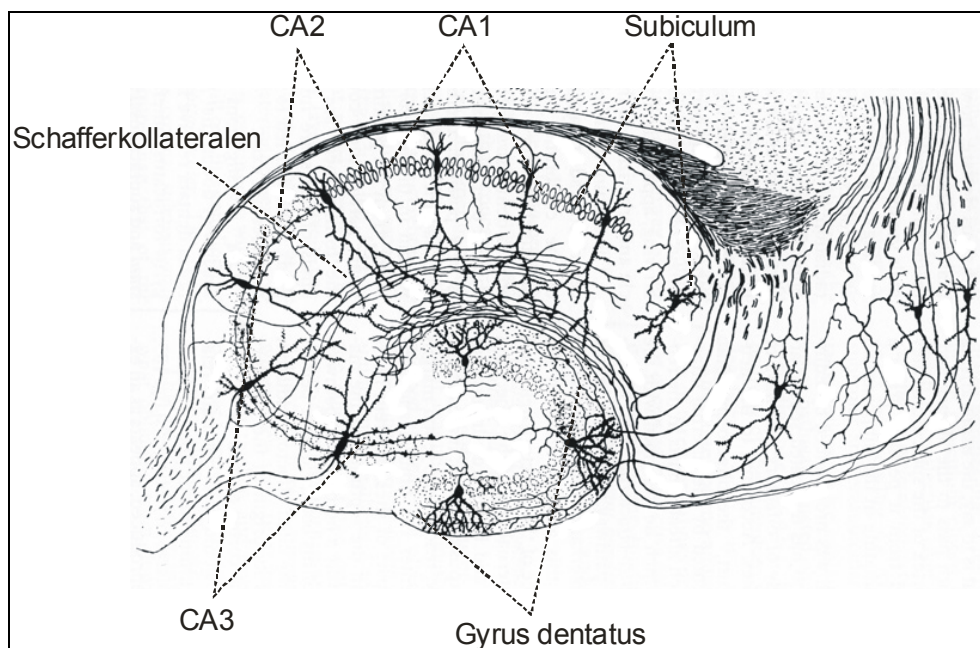


Abbildung 1 - Histologie des Hippocampus
in Anlehnung an „Schematische Zeichnung des Hippocampus“ von Ramón y Cajal(1911)

1.5 Arbeitsweise von Nervenzellen

Die Hauptaufgabe von Nervenzellen (Neuronen) ist die Aufnahme und Weiterleitung von Informationen, weshalb der Organisation solcher Nervenzellverbände eine entscheidende Bedeutung zukommt. Unser Gehirn besteht aus ca. 100 Milliarden

Nervenzellen. Jedes Neuron seinerseits steht durchschnittlich mit mehreren tausend anderen Nervenzellen in direkter Verbindung. So entsteht ein Geflecht von ungeheurer Komplexität mit mehreren hundert Billionen Zellkontakten, den Synapsen.

Die Kommunikation funktioniert über ein System aus elektrischem Impuls innerhalb der Nervenfasern und meist chemischer Übertragung an der Synapse zum nächsten Neuron. Die chemische Übertragung erfolgt über Botenstoffe, die Neurotransmitter, die an der Präsynapse in den synaptischen Spalt freigesetzt werden. Die Erregungsfortleitung zwischen prä- und postsynaptischem Neuron sowie zwischen postsynaptischem Neuron und Erfolgsorgan wird über ein Rezeptorprotein vermittelt. Die Bindung des Transmitters an den Rezeptor verändert das Membranpotential in der den Rezeptor tragenden Zelle und löst dadurch in dieser Zelle eine Erregung aus. So wird auf die postsynaptisch nachgeschaltete Zelle eine entweder hemmende oder aktivierende Wirkung erzielt, was je nach Einsatzort unterschiedliche Auswirkungen hat. Informationen werden so mit großer Genauigkeit und sehr hoher Geschwindigkeit weitergeleitet.

In den 70er Jahren ging man noch von der „pro Zelle ein Neurotransmitter“-Hypothese aus, welche jedoch widerlegt wurde. Man weiß inzwischen, dass in derselben Zelle eine Koexistenz vieler Neurotransmitter und Neuromodulatoren besteht. Unklar ist jedoch noch, nach welchem Mechanismus diese verschiedenen Substanzen in einer einzelnen Zelle im ZNS zusammen wirken.

Um die Frage beantworten zu können, welche Funktion eine bestimmte Substanz hat, ist es eine wesentliche Voraussetzung ihre Lokalisation zu kennen. Meist verhält es sich so, dass je weiter verteilt ein Neurotransmitter im Gehirn auftritt, desto weitreichender sind seine Funktionen.

Einige wichtiger Neurotransmitter sind:

- Monoamine wie Dopamin, Serotonin, Noradrenalin, Adrenalin und Histamin
- Aminosäuretransmitter mit Glutamat als wichtigstem erregenden, sowie GABA (Gamma-Amino-Buttersäure) und Glycin als hemmende Transmitter
- Acetylcholin
- Neuropeptide wie z.B. Endorphine, Cholecystokinin, Neuropeptid Y, Somatostatin und Vasoaktives Intestinales Polypeptid (VIP)

1.5.1 GABA

Im Besonderen haben wir uns mit GABAergen Neuronen beschäftigt.

In drei unabhängig voneinander entstandenen Veröffentlichungen wurde erstmalig 1950 das Vorkommen von GABA im Gehirn beschrieben [Roberts et al., 1950; Udenfriend, 1950; Awapara et al., 1950]. Es handelt sich hierbei um einen hemmenden Neurotransmitter der weitläufig im Nervensystem vertreten ist.

GABA entsteht durch die Decarboxylierung von Glutamat. Katalysiert wird diese Reaktion durch Glutamatdecarboxylase (GAD). Es existieren zwei codierende Gene für GAD, das eine mit einem Molekulargewicht von 65 kDa, das andere mit einem von 67 kDa. Das Vorkommen dieser beiden im Gehirn ist weitläufig überlappend, jedoch variieren deren Mengenverhältnisse.

Abgebaut wird GABA hauptsächlich durch den Transfer von Aminosäuren und wird dann in den Zitronensäure Zyklus eingebracht. Diese Reaktion wird durch das Enzym GABA-Transaminase katalysiert.

GABA bindet an spezifische Rezeptoren; es gibt ionotrope und metabotrope GABA-Rezeptoren: der GABA_A-Rezeptor ist ein ligandengesteuerter Chloridionen-Kanal (ionotrop), der sich öffnet, wodurch ein inhibitorisches Signal ausgelöst wird, sobald GABA an ihn bindet.

Der GABA_B-Rezeptor gehört zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (metabotrop). Durch ihn wird eine erhöhte Offenwahrscheinlichkeit von Kaliumionen-Kanälen vermittelt. Dies führt zur Hyperpolarisation der Zellmembran. Außerdem wird die Offenwahrscheinlichkeit für Calcium-Kanäle reduziert. Dieser Effekt macht sich in erster Linie präsynaptisch bemerkbar, hier wird die Transmitter Ausschüttung gehemmt.

Der GABA_C-Rezeptor ist ein ionotroper Rezeptor. Er unterscheidet sich vom GABA_A-Rezeptor dadurch, dass viele pharmakologische Substanzen wie Benzodiazepine und Barbiturate an ihm unwirksam sind.

Die Aufnahme von GABA in die Zelle wird über Transporter (GAT1-4) abhängig von der extrazellulären Natrium- und Chlorid-Ionenkonzentration vermittelt.

Die Verteilung von GAD überschneidet sich mit der von GABA und wurde daher weitläufig genutzt um die Lokalisation von GABA cytochemisch ausfindig zu machen.

Weitere Funktionen von GABA sind die Beteiligung in der Sekretion von Prolaktin und Wachstumsfaktoren sowie ein Mitwirken auf das kardio-vaskuläre System [Tohyama, M., Takatsuji, K., 1998].

1.6 Neuropeptide

Neuropeptide sind kurze Peptide, die im ZNS als zusätzliche Botenstoffe fungieren. Ihre Funktion ist wahrscheinlich neuromodulatorisch, da sie die Wirkung anderer Transmitter graduell unterstützen oder hemmen können. Sie nehmen oft eine Zwischenstellung zwischen Hormonen und reinen Neurotransmittern ein und bilden die größte Gruppe der Neuromodulatoren. Die Synthese der Neuropeptide erfolgt an den Ribosomen im Soma, von wo sie durch den schnellen axonalen Transport an den Freisetzungsort in Synapsen gelangen. Vertreter dieser Gruppe sind Neuropeptid Y und Somatostatin.

1.7 Calcium bindende Proteine

An chemischen Synapsen werden durch Neurotransmitter Informationen von einer Zelle zur nächsten weitergeleitet. An der Übertragung der Transmittereffekte auf Zielzellen sind wesentlich intrazelluläre Botenstoffe, wie intrazelluläres Calcium [Augustine et al., 1987] beteiligt. Reaktionspartner dieser Botenstoffe sind unter anderem Calcium bindende Proteine [Kretsinger, 1981], die die Wirkung von Calcium auf den intrazellulären Metabolismus vermitteln und regulieren. Damit sind sie nur indirekt an der Neurotransmission beteiligt. Vertreter dieser Gruppe sind Parvalbumin, Calretinin und Calbindin.

1.8 Neurotrophine

Im Laufe der embryonalen Entwicklung kommt es zur zunehmenden Differenzierung der neuronalen Stammzellen. Dabei erwerben sie gewisse Fähigkeiten, wie z.B. Ausbildung synaptischer Kontakte, Migration, Expression spezifischer Transmitter und anderer Proteine. Dies geht einher mit einer Zunahme der Zellgröße. Diese Prozesse unterliegen der Kontrolle einer Vielzahl verschiedener Proteine, von denen vor allem die Neurotrophine eine bedeutende Rolle spielen.

Das erste im Jahr 1948 entdeckte Neurotrophin war der Nervenwachstumsfaktor NGF (nerve growth factor) [Bucker 1948]. Als nächstes wurde von Barde et al. [1982] ein Faktor im Schweinegehirn gefunden, der unterstützend auf das Nervenwachstum wirkte, welcher später BDNF (brain derived neurotrophic factor) genannt wurde. Es

wurde festgestellt, dass eine große Ähnlichkeit, mit 51 identischen Aminosäuren, zum NGF besteht [Leibrock et al., 1989]; eine solche Gleichartigkeit ließ vermuten, dass es auch als Homodimer existieren müsse. Indem man die gemeinsamen Bereiche zwischen NGF und BDNF nutzte um Oligonukleotide für das Klonen mittels PCR zu erhalten, wurde ein drittes verwandtes Protein, Neurotrophin 3 (NT-3) genannt, geklont [Ernfors et al., 1990, Hohn et al., 1990, Maisonpierre et al., 1990]. Schließlich wurde nach ausgedehnten Forschungen ein weiteres Mitglied der Neurotrophin Familie identifiziert und im *Xenopus* geklont, das Neurotrophin 4 (NT-4) [Hallbook et al., 1991]. Die äquivalente menschliche cDNA war ausreichend unterschiedlich von dem beim *Xenopus* entdeckten NT-4, so dass man sie für ein anderes Gen hielt und Neurotrophin 5 (NT-5) nannte [Berkemeier et al., 1991]. Anschließend wurde festgestellt, dass es sich hierbei um homologe Gene handelte, weswegen dieses Neurotrophin heute oft Neurotrophin 4/5 (NT-4/5) genannt wird. Zwei weitere Neurotrophine, das Neurotrophin 6 (NT-6) [Götz und Koster et al., 1994] und das Neurotrophin 7 (NT-7) [Lai et al., 1998] wurden nur bei Fischen nachgewiesen.

Sie alle besitzen eine grundsätzliche strukturelle Gemeinsamkeit. Jedes gewährleistet wichtige Tätigkeiten für das nervale Gewebe, wie z.B. die Unterstützung des Wachstums, die Differenzierung der einzelnen Neurone und deren Überleben selbst [Woo et al., 2006].

1.9 Wirkungsweise der Neurotrophine

Nachdem die Bestätigung erbracht war, dass für die Stimulation des nervalen Wachstums ein löslicher Faktor verantwortlich ist, wurde das Konzept des „target derived neurotrophic factor“ erstellt [Thoenen et al., 1980, Barde 1989, Korsching 1993]. Diesem Konzept zufolge steuern die Zielzellen (targets) ihre Innervation mittels der Neurotrophine, welche unter physiologischen Bedingungen in sehr niedrigen Konzentrationen synthetisiert werden [Davies 1996]. Meakin et al. zeigten [1992] *in vitro*, dass sie bereits in picomolaren Konzentrationen wirken, was Götz et al. [1994] bestätigten.

Die Neurotrophin - sensitiven Neurone im Zielgewebe nehmen den Neurotrophin - Rezeptor - Komplex [Levi et al., 1980] auf, welcher dann retrograd zum Perikaryon transportiert wird [Hendry et al., 1974] und im Zellkern die Differenzierung der

Nervenzelle bewirkt [Lewin et al., 1996]. Aufgrund biochemischer Analysen wird dieser Neurotrophin - Rezeptor - Komplex als Signal - Endosom bezeichnet. Obwohl die genaue Natur dieses Endosoms bisher ungelöst ist, gibt es Beweise, dass es sich hierbei um einen spezialisierten Bestandteil der endocytischen Übertragung handelt [Zweifel et al., 2005]. Alternative Methoden hierzu könnten retrograde Wellen aktivierter Trk Rezeptoren entlang der Plasmamembran, oder aber retrograde Calcium Wellen, die von den aktivierten Trk Rezeptoren ausströmen, sein [Ginty et al., 2002].

Die Neurotrophine wirken jedoch nicht nur retrograd als Wachstumsfaktoren und Regulatoren für spezielle neuronale Systeme, sondern wie Altar und Di Stefano [1998] beschrieben, beeinflussen beispielsweise BDNF und NT-3 auch auf anterogradem Weg postsynaptische Neuronenpopulationen und möglicherweise Gliazellen. Man nimmt an, dass sich entwickelnde Axone um die von den Zielgeweben in nur begrenztem Maße produzierten Neurotrophine konkurrieren [Grimes et al., 1996, Yuen et al., 1996, Yuen und Mobley 1996].

Diejenigen Neurone, die nicht auf die zuständigen trophischen Faktoren treffen, sterben durch den Prozess des programmierten Zelltods (Apoptose) ab [Majdan et al., 1999]. Misslingt die Aktivierung des Trk Rezeptors durch das entsprechende Neurotrophin, werden die Zellen durch einen aktiven Tötungsprozess mittels des p75 Rezeptors eliminiert. Die durch den p75 Rezeptor übermittelte Apoptose könnte für die Verbesserung der korrekten Innervation der Zielzellen wichtig sein und wird zusätzlich mit Entzündungen, Verletzungen, epileptischen Anfällen und Nerven Läsionen in Verbindung gebracht [Chao et al., 2006]. Gewöhnlich fördern Neurotrophine jedoch das Überleben und die Differenzierung der Zellen während der nervalen Entwicklung durch Bindung der Trk Rezeptoren [Huang et al., 2003]. Folglich reflektiert die resultierende Anzahl an Neuronen, die ein Organ innervieren, die Verfügbarkeit der Neurotrophine. Woo et al., [2006] beschreiben, dass durch Neurotrophine eine dynamische Modulation GABAerger Interneurone, die auch bei unseren Untersuchungen von Relevanz waren, stattfindet.

Bei klinischen Untersuchungen der Neuropathie und Neurodegeneration wurde festgestellt, dass Neurotrophine in hoher Konzentration als Nebenwirkung akute Schmerzen verursachen können. So ist NGF in hohen Konzentrationen bei Entzündungen vorhanden und begünstigt die Sensibilisierung der Nociceptoren [Eriksdotter et al., 1998, Thoenen et al., 2002].

1.10 Neurotrophin Rezeptoren

Es existieren zwei Klassen von Neurotrophin Zelloberflächen Rezeptoren. Der p75 Rezeptor, ebenfalls als low-affinity neurotrophin receptor (LANR) bekannt, den alle Mitglieder der Neurotrophin Familie gemeinsam haben. Die hoch affinen Rezeptoren beinhalten die Rezeptor Tyrosinkinaseproteine TrkA, TrkB und TrkC. Diese Rezeptoren besitzen eine unterschiedliche Spezifität für die einzelnen Neurotrophine.

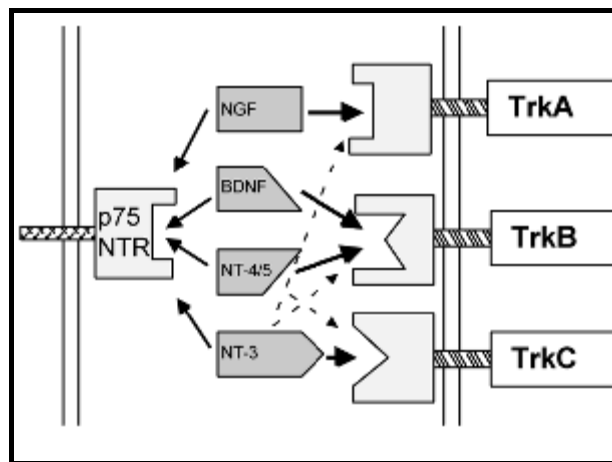


Abbildung 2 – Neurotrophin Rezeptoren

Neurotrophine und ihre bevorzugten Rezeptoren werden mittels durchgezogener Pfeile gezeigt. Die gestrichelten Pfeile zeigen schwächere Interaktionen. Alle Neurotrophine binden an p75.

TrkA ist für NGF, TrkB ist der Rezeptor für BDNF und NT-4/5, und TrkC ist der Rezeptor für NT-3. Unabhängig davon kann NT-3 auch an TrkA und TrkB binden, jedoch mit niedrigerer Affinität als an TrkC, und mit niedrigerer Affinität als die primären Liganden für diese Rezeptoren. Ähnlich bindet auch NT-4 an TrkA.

Alle Neurotrophine binden ebenfalls an den low-affinity Rezeptor p75. Der Rezeptor p75 gehört der Gruppe der Tumor Nekrose Faktor Rezeptoren an und war der erste von Johnson et al. [1986] entdeckte Neurotrophin Rezeptor.

1.11 Bedeutung von BDNF

Das Neurotrophin BDNF wird im Gehirn von sich entwickelnden und erwachsenen Wirbeltieren großflächig produziert und reguliert die neuronale Differenzierung, das Überleben und synaptische Funktionen [Bibel et al., 2000, Huang et al., 2001, Poo 2001]. Die höchste Expression ist im Hippocampus zu finden [Nawa et al., 1995].

Obwohl schon in sehr frühen embryonalen Entwicklungsstadien vorhanden, treten die beträchtlichsten Konzentrationen an BDNF – im Gegensatz zu NT-3 – erst postnatal auf [Das et al., 2001].

BDNF wirkt als Differenzierungsfaktor für hemmende GABAerge Interneurone im Gehirn [Marty et al., 1997]; so ist BDNF dafür bekannt den Phänotypen von GABAergen Neuronen im Hippocampus und Striatum zu fördern [Ivkovic et al., 1999, Marty et al., 1996, Nawa et al., 1993]. Ferner reguliert BDNF die Entwicklung hemmender Synapsen [Marty et al., 1996, Marty et al., 2000 a, Rutherford et al., 1997].

Die Entwicklung und die Instandhaltung cholinergischer Neuronen im Septum werden durch BDNF beeinflusst. Diese Neurone bilden ebenso TrkB Rezeptoren aus [Fryer et al., 1996, Masana et al., 1993]. Bei Kulturen cholinergischer Nervenzellen führte BDNF zu einem Anstieg der neuronalen Überlebensrate und der Cholinacetyltransferase (ChAT) Aktivität [Alderson et al., 1990, Nonomura et al., 1992]. Daneben verhindert es in Ratten auch in vivo den Untergang dieser Zellen, der ansonsten infolge einer Axotomie auftritt [Alderson et al., 1990, Knusel et al., 1992].

Des Weiteren fördert BDNF bei hippocampalen Neuronen teilweise die synaptische Übertragung über einen phosphorylaseabhängigen Anstieg der postsynaptischen Erregbarkeit [Levine et al., 1996]. Effekte von BDNF auf die Ausbildung von präsynaptischen vesikel-assoziierten Proteinen, wie zum Beispiel Synaptobrevin und Synaptophysin wurden beobachtet [Pozzo-Miller et al., 1999, Yamada et al., 2002].

1.12 Knock-out Mäuse

Unter Knock-out-Mäusen versteht man solche Tiere, bei denen ein ganz bestimmtes Gen gezielt ausgeschaltet wurde, um herauszufinden welche Funktionen einzelnen Genen zukommen. Man möchte gern zwei Mäusestämme haben, die in sämtlichen Genen gleich sind und sich nur in dem Knock-out-Gen unterscheiden. Bei dem ersten Stamm ist es dann intakt, bei dem zweiten defekt. Unterschiede im Körperbau oder der Physiologie können so auf dieses Gen zurückgeführt werden. Daher benötigt man von vornherein einen Mäusestamm, bei dem alle Tiere den gleichen genetischen Hintergrund haben. Es werden deshalb Inzuchttiere verwendet. Diese Inzucht wird schon seit einigen hundert Generationen durch konsequente Bruder-Schwester Verpaarung erreicht, was dazu führt, dass sich die Mäuse genetisch gar nicht oder nur sehr geringfügig unterscheiden.

1.12.1 Züchtung transgener Knock-out-Mäuse

Für die Erzeugung der Mutanten werden Stammzellen von Mäusen verwendet. Diese Stammzellen werden durch so genannte homologe Rekombination genetisch verändert. Durch dieses Verfahren wird an einer gezielt ausgesuchten Stelle im Erbgut eine beliebige andere Sequenz eingesetzt. Die genetisch veränderte Stammzelle wird anschließend in eine Blastocyste eingeführt, die wiederum einer scheinchwangeren Maus implantiert wird, welche dann das heranwachsende Tier austrägt. Aus dieser implantierten Blastocyste entsteht so eine Maus, deren Körperzellen nicht alle dasselbe Erbgut enthalten, sondern die einerseits Zellen mit dem ursprünglichen Erbgut enthält und andererseits solche mit dem Erbgut der eingesetzten Stammzelle (chimäres Tier). Das chimäre Tier wird anschließend mit einem normalen Tier gekreuzt. Die Nachkommen sind meist homozygot, einige tragen jedoch das veränderte Gen in sich, sind also heterozygot. Diese heterozygoten Mäuse müssen durch Untersuchungen des Erbgutes herausgefunden werden. Von solchen heterozygoten Tieren kreuzt man ein Weibchen und ein Männchen. 25% der Nachkommen dieses Paares müssen homozygot krank sein, womit das gesteckte Ziel erreicht ist.

1.13 Fragestellung

Der Einfluss des Fehlens von BDNF auf die Expression von Neuropeptiden und Calcium-bindende Proteine im Hippocampus von BDNF Knock-out Mäusen wurde unter anderem von Agerman et al., [2003] und Jones et al., [1994] teils gegensätzlich beschrieben. Große et al [2005] konnten beobachten, dass die Gesamtdichte an Neuronen bei BDNF $-/-$ Mäusen unverändert ist. Gleichzeitig ist die Gesamtgröße des Gehirns, entsprechend der geringeren Körpergröße (vergleiche Abbildung 3) reduziert. Der Hippocampus eignet sich für diese Analyse, da er durch seine Dreischichtigkeit leichter untersucht werden kann, als z.B. komplexere Regionen des Neokortex. Es sind viele Neurotransmitter peptiderger Natur, sowie unterschiedlich charakterisierte Interneurone und verschiedene Calcium-bindende Proteine in diesem Hirnabschnitt bekannt.

Ziel der im Folgenden beschriebenen Untersuchungen war es die Dichte verschiedener Interneurone, die durch einen GABAergen Phänotyp und durch die Kollokalisierung von Neuropeptid Y, Somatostatin, Parvalbumin, Calretinin oder Calbindin charakterisiert sind, zu analysieren. So wurden in definierten Arealen des Hippocampus von BDNF $-/-$ Mäusen und den entsprechenden Wildtyp Geschwistertieren die Neuronenzahlen quantifiziert und miteinander verglichen.