

**Aus dem Charité Centrum 2 für Grundlagenmedizin
Institut für Zell- und Neurobiologie des Centrums für Anatomie
Charité Campus Mitte
Charité – Universitätsmedizin Berlin
Direktor: Prof. Dr. R. Nitsch**

Habilitationsschrift

Axotomie septohippokampaler Projektionsneurone: Wie reagieren zentrale cholinerge Neurone auf Schädigung?

**zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach
Anatomie und Zellbiologie**

**vorgelegt der
Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin**

von

**Dr. med. Thomas Naumann
geboren am 13.3.1956 in Leipzig**

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

eingereicht am: 21.7.2006

1. Gutachter: Prof. Dr. Klaus Unsicker, Heidelberg

2. Gutachter: Prof. Dr. Solon Thanos, Münster

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	3
2. SEPTUMKOMPLEX und HIPPOKAMPUSFORMATION	
2.1. Das septohippokampale System	6
2.2. Die Entwicklung des Septumkomplexes	9
2.3. Neurotrophine, ihre Rezeptoren und die "Neurotrophe Hypothese"	13
2.4. Axotomie septohippokampaler Neurone	19
3. EIGENE ARBEITEN und DISKUSSION	
3.1. Vorarbeiten	21
3.2. Welchem Schicksal unterliegen axotomierte cholinerge Neurone des Medialen Septums wirklich?	22
3.3. Gibt es Alternativen zur exogenen NGF-Applikation?	26
3.4. Gibt es alternative Quellen für die Bildung des „target-derived neurotrophic factor“ NGF?	29
3.5. Entfernung der Zielregion cholinerg septaler Neurone und Mutationen im Neurotrophinsystem: Welche Rolle spielt NGF in der Entwicklung?	32
4. DISKUSSION	37
5. ZUSAMMENFASSUNG	45
6. ABKÜRZUNGEN	47
7. ZITIERTER LITERATUR	48
8. DANKSAGUNG	84
9. ORIGINALARBEITEN	85

1. Einleitung

Die Gesamtzahl der Nervenzellen im peripheren und zentralen Nervengewebe sowie ihr jeweiliger funktioneller Zustand ist zu jeder Zeit des Lebens ständigen Veränderungen unterworfen. Während der frühen Embryonalentwicklung werden in den meisten Kerngebieten bzw. Rindenabschnitten zunächst Neurone im Überschuß gebildet (Übersichten: Hamburger and Levi-Montalcini, 1949; Cowan et al., 1985; Clark and Oppenheim, 1995; Kuan et al., 2000; Oppenheim et al., 2001; Marin and Rubenstein, 2003; Götz and Sommer, 2005). Diese noch unreifen Zellen, die zum großen Teil ihre endgültige Position im Gewebe durch Migration noch finden müssen (Übersichten: Hatten, 1999; Maricich et al., 2001; Marin and Rubenstein, 2001; Nadarajah et al., 2001; Ang et al., 2003; Butt et al., 2005; Campbell, 2005) beginnen sich zu differenzieren. Dabei spielen zelltypspezifische, intrinsische, Faktoren eine ebenso wichtige Rolle wie extrinsische Einflüsse des Umgebungsmilieus (z. B. für cholinerge Neurone: Shimamura and Rubenstein, 1999; Ba-Charvet et al., 1999; Doering and Snyder, 2000; Lopez-Coviella et al., 2000; Pencea et al., 2001; Wichterle et al., 2002; Wu et al., 2002; Sahay et al., 2003). Charakteristisch für diese frühe Phase der neuronalen Entwicklung sind die axonalen und dendritischen Fortsatzbildungen, die wesentliche Charakteristika des Nervengewebes sind. Ebenfalls noch während der Embryonalentwicklung erreichen die meisten der axonalen Wachstumskolben ihre spezifischen Zielgebiete. Durch Interaktionen der Nervenzellfortsätze mit den kontaktierten neuronalen bzw. nicht-neuronalen Zielzellen beginnen sich die komplizierten Verschaltungsmuster des Nervengewebes zu stabilisieren, was zur weiteren Differenzierung sowohl der Neurone im Ursprungsgebiet als auch der Zielregion führt. Dabei spielt die lokale Synthese von neurotroph wirksamen Molekülen im Zielgebiet, ihre Aufnahme in die Endigungen der eingewachsenen Axone, der retrograde Transport des Neurotrophin-Rezeptorkomplexes zu den Somata, und die dort ausgelösten Signale eine entscheidende Rolle für die endgültige Etablierung der synaptischen Verbindungen. Diese Wechselwirkungen setzen aber auch Prozesse in Gang, die mit einer Reduktion der Zahl der Nervenzellen im Ursprungsgebiet verbunden ist. Einem Teil der eingewachsenen Axonendigungen gelingt es nicht, synaptische Verbindungen permanent aufrechtzuerhalten. Der einsetzende Mangel an neurotrophen Faktoren führt bei den betroffenen Neuronen zum apoptotischen Zelluntergang und damit zu Zellzahlen, die denen des ausgereiften Differenzierungszustandes näher kommen (z. B.: Landmesser and Pilar, 1978; Clarke, 1990; Clarke and Clarke, 1996; Li et al., 2001). Im allgemeinen findet man diese „duale“ Phase bei Vertebraten am Ende der

embryonalen Entwicklung und sie dauert speziesspezifisch einige Zeit über die Geburt hinaus an.

Das voll entwickelte postmitotische Nervengewebe des Menschen ist zunächst für eine Lebensspanne von maximal 3 bis 4 Dekaden angelegt worden. In Folge der sozio-ökonomischen Entwicklung der menschlichen Gesellschaft in den letzten 100 Jahren hat sich aber, vor allem in den entwickelten Industriestaaten, diese Situation grundlegend gewandelt. Veränderte Lebensbedingungen verbunden mit einer generell erhöhten Lebensqualität sowie deutlich verbesserten medizinischen Versorgungsmöglichkeiten haben die Lebenserwartung inzwischen mindestens verdoppelt. Welche Konsequenzen ergeben sich dabei für ein Gewebe, bei dem die Konstanz der interzellulären Verbindungen Voraussetzung für den Funktionserhalt ist? Ob im Laufe der normalen Alterungsprozesse die Zahl der Nervenzellen abnimmt, oder ein Teil lediglich atrophiert und sich herkömmlichen Nachweismethoden entzieht (z. B.: Cragg, 1970; Lieberman, 1971; Grafstein, 1975; Titmus and Faber, 1990), ist nicht sicher bestimmt. Problematisch, d. h. von erheblicher ökonomischer Relevanz, ist die Tatsache, daß zum einen unfallbedingte Schädigungen von PNS und ZNS erhebliche finanzielle Ressourcen binden, und zum anderen das Nervengewebe die Alterung des Gesamtorganismus eben nicht schadlos übersteht. Geht man von derzeitigen Prognosen der Altersforschung aus, so wird die Bevölkerung der entwickelten Industrienationen in wenigen Jahrzehnten im zweistelligen Prozentbereich allein mit den verschiedenen Formen der Demenzerkrankungen konfrontiert sein. Mehr denn je ergibt sich daher die Notwendigkeit, nicht nur die Entwicklung und Differenzierung des Nervengewebes besser zu verstehen, sondern molekulare Mechanismen des physiologischen Alterns sowie die der neuronalen Reaktionsmuster auf „Schädigung“ einschließlich neuroimmunologischer Zusammenhänge herauszufinden. Auf dieser Basis gilt es dann, therapeutische Strategien im Sinne einer „Neuroprotektion“ zu entwickeln. Aus neurobiologischer Sicht stellt sich damit ganz klar die Frage nach neuronalen Systemen, an denen man modellhaft diese Probleme untersuchen kann.

In der vorliegenden Habilitationsschrift soll am Beispiel der septohippokampalen Projektion, einem axonalen System, welches den Septumkomplex mit der Hippokampusformation verbindet, gezeigt werden, welche Konsequenzen sich für zentrale Neurone nach Schädigung durch Axotomie ergeben. Es wird deutlich werden, wie unterschiedlich die Ansichten hinsichtlich der Interpretation der Befunde dazu selbst im neueren Schrift-

tum sind. Dieses zentrale System hat u. a. den großen Vorteil, daß sowohl während der Entwicklung als auch insbesondere nach Schädigung bereits aus dem PNS bekannte "klassische" neurotrophe Faktoren, wie z. B. der Nervenwachstumsfaktor („nerve growth factor“, NGF), als auch andere, ursprünglich als rein "hämatopoetische" Zytokine aufgefaßte, Moleküle wirksam sind. Das erleichtert sowohl die Interpretation der Befunde als auch die Diskussion zu therapeutischen Interventionsstrategien.

Interessanterweise sind die zellulären Veränderungen, die im Septumkomplex nach Axotomie der septohippokampalen Projektion auftreten, denen sehr ähnlich, die im Laufe des normalen menschlichen Alterungsprozesses bzw. bei der Alzheimer'schen Demenz auftreten. Die Degeneration der geschädigten Neurone in den verschiedenen neuronalen Kerngebieten des basalen Vorderhirnes erfolgt nach einem einheitlichen Muster und ist mit erheblichen kognitiven Defiziten verbunden (z. B.: Bartus et al., 1982; Whitehouse et al., 1982; Coyle et al., 1983; Miyamoto et al., 1987; Braak and Braak, 1991). Erst das Verstehen dieser Mechanismen eröffnet Möglichkeiten, das prozeßhafte Voranschreiten der zellulären Degeneration zumindest zu stoppen, und ist damit von erheblicher klinischer Relevanz.

Anmerkung:

Die in folgenden Text fett markierten Zitate befinden sich ab S. 85 im Anhang.

2. Septumkomplex und Hippokampusformation

2.1. Das septohippokampale System

Der Septumkomplex liegt im Bereich des basalen Vorderhirns. Beim Menschen befindet er sich in der medialen Hemisphärenwand und wird rostro-ventral vom Genu corporis callosi, dem Hippokampus präkommissuralis, der Regio retrobulbaris und dem Tuberculum olfactorium begrenzt. Der Fornix, die Commissura rostralis, die Area praeoptica sowie die Lamina terminalis bilden die kaudo-ventralen Nachbarstrukturen. Die Septumregion wird mit anderen Kerngebieten wie dem Diagonalen Band (Broca) und dem Nucleus basalis magnozellularis (Meynert) zum Basalkernkomplex zusammengefaßt (Übersicht: Stephan, 1975). Die Morphologie der Septumregion wurde erstmals von Brockhaus (1942a; b) genauer beschrieben. Weitere Untersuchungen, die an niederen Primaten bzw. Insektenfressern ebenfalls mit der klassischen Nissl-Färbung durchgeführt wurden, ergaben aufgrund zellmorphologischer Kriterien die Einteilung in vier Kerngebiete. Demnach existiert eine dorsale, eine laterale (Nucleus lateralis septi, LS), eine medio-kaudale (Nucleus medialis septi MS, Diagonales Band von Broca, DB) und eine posteriore Kerngruppe (Übersichten: Stephan, 1975; Swanson and Cowan, 1976). Die interne Verschaltung der einzelnen Septumanteile untereinander ist bis heute wenig untersucht worden (Übersicht: Jacab and Leranth, 1995), jedoch liegen für Ratten detaillierte Befunde zur reziproken Verbindung mit der Hippokampusformation vor. Für das Verständnis des Läsionsmodelles „Fimbria-Fornix-Durchtrennung“ (FFD) sollen diese Projektionen genauer beschrieben werden.

Aus den Kerngebieten des MSDB-Komplexes projizieren cholinerge (z. B.: Mesulam et al., 1983; Sofroniew et al., 1985; Varga et al., 2003) und GABAerge Neurone (z. B.: Amaral and Kurz, 1985; Freund, 1988) über das Fimbria-Fornix-System (FFS) in die Hippokampusformation (siehe Abb. 1; Gaykema et al., 1990; Übersichten: Dutar et al., 1995; Jakab and Leranth, 1995). Von den septalen GABAergen Neuronen projizieren nur diejenigen in den Hippokampus, welche das Kalzium-bindende Protein Parvalbumin exprimieren (Freund, 1989). Tracerstudien haben ergeben, daß beide Zelltypen im Verhältnis von etwa 3:2 (chol. / GABAerge Neurone) die septohippokampale Projektion bilden (z. B.: Mesulam et al., 1983; Köhler et al., 1984; Amaral and Kurz, 1985; Freund, 1989; Linke et al., 1994; Naumann et al., 2003). Während cholinerge Neurone den

Hippokampus diffus innervieren (Frotscher and Léránth, 1985; Übersicht: Swanson et al., 1987), terminieren die septalen GABAergen Fasern selektiv an hippocampalen GABAergen Neuronen (Freund and Antal, 1988; Freund, 1989).

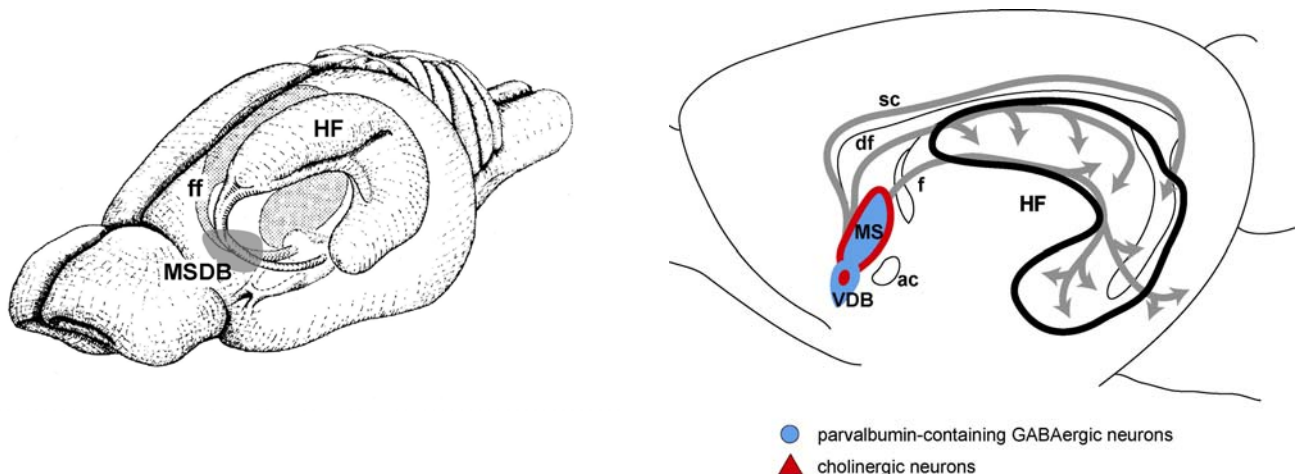


Abb. 1:

In der linken Abbildung sind die räumlichen Ausdehnungen der Kerngebiete des Medialen Septums und des Diagonalen Bandes (MSDB) sowie die Lage der Hippokampusformation (HF) in der Ratte dargestellt. Innerhalb des Fimbria-Fornix-Systems (ff) verlaufen die septohippocampalen Projektionen der beiden Kerne zum Hippokampus retrokommissuralis.

Cholinerge und Parvalbumin-exprimierende GABAerge Neurone des Medialen Septums projizieren in die Hippokampusformation (rechte Abb.). Die septohippocampale Projektion besteht aus insgesamt drei Teilprojektionen, die um das Corpus callosum angeordnet sind: sc = „supracallosal striae“, df = „dorsal fornix“ und f = „fimbria“. Die Durchtrennung dieser Projektionen erfolgt durch aspirative Saugläsion in der Mitte zwischen beiden Kerngebieten und führt zur Axotomie der Neurone des Medialen Septums und des vertikalen Teils des Diagonalen Bandes (VDB).

Neben der septohippocampalen Projektion enthält das FFS auch die reziproken hippocamposeptalen Verbindungen. Die glutamatergen Hippokampuspyramiden erreichen bilateral jedoch ausschließlich die Kerngebiete des LS (z. B.: Raisman, 1966; Gaykema, 1991). Eine kleine direkte hippocamposeptale Verbindung zum Gebiet des MSDB nimmt ihren Ursprung von GABAergen Neuronen des Hippocampus (Gaykema et al., 1991; Tóth et al., 1993). Es bestehen somit zwischen beiden Hirnstrukturen sehr spezifische Verbindungen; ob die Schleife innerhalb des Septums zwischen LS und MS direkt oder indirekt über das Diagonale Band geschlossen wird, ist gegenwärtig noch offen (siehe Abb. 2; Witter et al., 1992; Brauer et al., 1998).

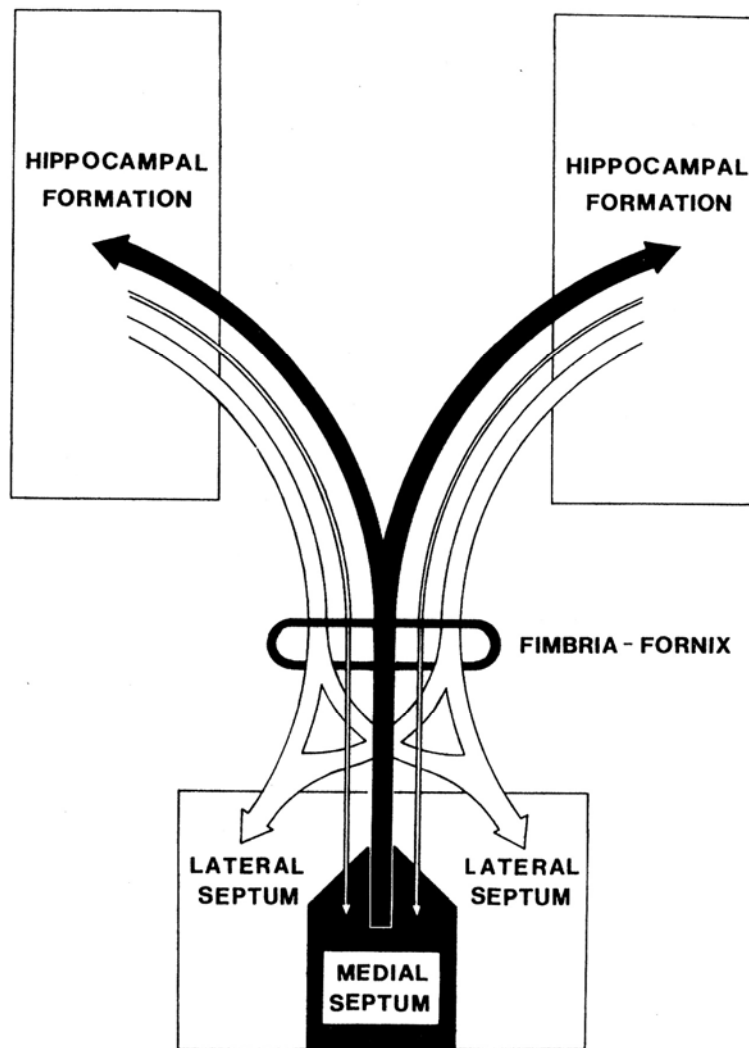


Abb. 2 :

Cholinerge und Parvalbumin-exprimierende Neurone des Medialen Septums projizieren exklusiv in die Hippokampusformation. Innerhalb des Fimbria-Fornix-Systems ziehen weiterhin die Axone hippokampaler Pyramiden in das Kerngebiet des Lateralen Septums. Eine direkte GABAerge Projektion hippokampaler "Interneurone" auf GABAerge Neurone im Mediale Septum ist beschrieben worden. Die Fimbria-Fornix-Durchtrennung führt im Medialen Septum vor allem zu retrograder zellulärer Degeneration, das Laterale Septum wird in erheblichem Maße deafferenziert.

Die Kerngebiete des basalen Vorderhirnes innervieren alle Teile des Allo-, Paläo- und Neokortex sowie viele subkortikale Strukturen (Übersichten: Swanson et al., 1987; Jacob and Leranth, 1995; Gritti et al., 1997). Trotz dieser weitläufigen Innervationsgebiete scheint die axonale Kollateralisation des einzelnen Neurons gering zu sein, d. h. die einzelne Zelle besitzt ein sehr umschriebenes Projektionsgebiet (Price and Stern, 1983; Sofroniew et al., 1990; Naumann et al., 1996). Die Innervation der Hippocampusformation zwischen der Fascia dentata und CA1 erfolgt durch cholinerge und GABAerge

Neurone des MS sowie dem vertikalen Anteil des DB (vDB). Kaudalere Abschnitte des basalen Vorderhirnes (horizontaler Teil des DB, Nucleus basalis Meynert) innervieren diese allokortikalen Abschnitte kaum noch. Diese Strukturen projizieren vor allem in den Paläo- und Neocortex.

Entscheidend für die Etablierung der septohippokampalen Projektion als Regenerationsmodell waren die Läsionsstudien von Sofroniew und Mitarbeitern (1986; 1987; 1988; 1990). Zunächst konnte gezeigt werden, daß mehr als 95% der cholinergen Neurone des MS in die Hippokampusformation projizieren. Es bestehen somit, anders als bei den sich kaudal anschließenden Kerngebieten des basalen Vorderhirnes, keine nennenswerten Verbindungen zum Neokortex. Die analoge Spezifität der das Kalzium-bindende Protein Parvalbumin enthaltenden Subpopulation GABAerger Neurone wurde bereits erwähnt. Aufgrund der dorsalen Lage der drei septohippokampalen Projektionsbahnen (siehe Abb. 1; Gaykema et al., 1990; Peterson, 1994) ist die operative Zugänglichkeit gewährleistet, ohne dabei vitale Funktionen der Versuchstiere zu beeinträchtigen. Entsprechend der Zielspezifität der Neurone des MS führt damit die Penetration der Kortexabschnitte, die oberhalb des FFS liegen, nicht zur Verfälschung der experimentellen Daten. Selbst großflächige Abtragungen kortikaler Rindenareale führen nicht zu Zellverlusten im MS (Sofroniew et al., 1987). Detaillierte Tracerstudien haben weiter gezeigt, daß 80 % der septohippokampalen Projektionsneurone zum ipsilateralen Hippokampus ziehen, 15% terminieren kontralateral oder bilateral in dieser Formation. Simultane Applikationen von mehreren Fluoreszenztracern in den Hippokampus sowie in verschiedene andere Hirnregionen ergaben entsprechend (s. o.), daß weniger als 5% der septohippokampalen Projektionsneurone zusätzliche extrahippokampale Zielgebiete besitzen (Peterson 1989; Sofroniew et al., 1990; Naumann et al., 1996; Gritti et al., 1997).

2.2. Die Entwicklung des Septumkomplexes

Die Kerngebiete des Septums bilden sich bei Ratten und Mäusen zwischen den Embryonaltagen E 13 und E 17, wobei für den MSDB-Komplex ein kaudo-rostraler Gradient besteht und maximale Neurogenese im MS einen Tag eher auftritt (E 15) als im DB (Lawson et al., 1977; Bayer, 1979; 1985; Semba and Fibinger, 1988). Insgesamt ist die Neurogenese in den einzelnen Unterkernen der Septumregion zum E 17 weitgehend

abgeschlossen (Bayer, 1979). Mehrere Autoren berichten bereits für diesen Entwicklungstag, daß sich der cholinerge Phänotyp bei vielen Neuronen des MS entwickelt hat (Fine, 1985; Schwab et al., 1988; Brady et al., 1989; Koy and Loy, 1989; Schambra et al., 1989; Thal et al., 1991). Die Nachweise wurden entweder immunzytochemisch mit Antikörpern gegen das Transmitter-assoziierte Enzym Acetylcholintransferase (ChAT; Eckenstein and Thoenen, 1982; Eckenstein and Sofroniew, 1983) oder histochemisch für Acetylcholinesterase (ACHE; vgl. Mesulam et al., 1987) geführt. In anderen Untersuchungen gelang der Nachweis des cholinergen Phänotyps mit diesen Markern erst postnatal (z. B.: Milner et al., 1983; Bender et al., 1996). Am Ende der pränatalen Entwicklung, d. h. etwa zu E 18 – E 19, sind im Fimbria-Fornix-System erste Axone der septohippokampalen Projektion nachgewiesen worden (Crutcher, 1982; Armstrong et al., 1987; Linke and Frotscher, 1993); die vollständige Innervation der Hippokampusformation wurde jedoch nicht vor den postnatalen Tagen P 5 - P 8 beobachtet (Linke and Frotscher, 1993). Eigene Untersuchungen mit Tracerapplikationen zu diesem Zeitpunkt zeigten, daß die synaptischen Verbindungen zwischen den septalen Neuronen und ihren hippokampalen Zielzellen noch sehr unreif sein müssen. Nur wenige Neurone im Septum konnten mit Farbstoffen retrograd vom Hippokampus aus markiert werden (Plaschke et al., 1997).

Der Zeitpunkt des Einwachses der septohippokampalen Axone in den Hippokampus ist für beide Regionen mit dramatischen Veränderungen bezüglich des Neurotrophin- und Transmitterstoffwechsels verbunden. Innerhalb der ersten Lebenswoche der Ratte kommt es zunächst zur Erhöhung der pränatal sehr niedrigen Basalexpression von NGFmRNA bzw. NGF im Hippokampus. Zeitlich um 1 bis 2 Tage versetzt werden die beiden Rezeptoren für den NGF ($p75^{NTR}$ und $trkA$) in den cholinergen Somata des Septums hochreguliert und diese dann auch in den septalen Axonen im Hippokampus nachweisbar. Die NGF-Aufnahme triggert nun die Differenzierung des cholinergen Phänotyps; maximale Werte für das Transmitter-assoziierte Markerenzym Acetylcholintransferase (ChAT) wurden in der zweiten und dritten Lebenswoche im Septum und im hippokampalen Zielgebiet gemessen. Weiterhin beeinflusst NGF neben der Acetylcholin-Synthese auch dessen Freisetzung sowie die Expression des vesikulären Acetylcholintransporters (z. B.: Takai et al., 1997; Oosawa et al., 1999; Auld et al., 2001). Identische Verhältnisse bestehen für die anderen cholinergen Kerngebiete des basalen Vorderhirnes (DB, Meynert-Kern) und deren neokortikale Zielstrukturen (z. B.: Gnahn et al., 1983; Large et al., 1986; Mobley et al., 1986; Whittemore et al., 1986; Auburger et al.,

1987; Higgins et al., 1989; Cavicchioli et al., 1991; Holtzmann et al., 1992; Gibbs and Pfaff, 1994; Sobreviela et al., 1994; Übersichten: Korsching, 1993; Li et al., 1995; Canossa et al., 1997).

Zwischen P 10 und P 12 ist die Mehrzahl der cholinergen Projektionsneurone immunzytochemisch mit entsprechenden Antikörpern gegen ChAT nachweisbar (Übersicht: Sofroniew et al., 1987); die Detektion der ChATmRNA mit der in-situ-Hybridisierung gelingt etwa 6 Tage eher (Bender et al., 1996). Maximale Zellzahlen werden bei Ratten und Mäusen zwischen P 15 und P 20 gefunden (Sofroniew et al., 1987; **Naumann et al., 2002**). In diesem Stadium haben cholinerge Neurone des basalen Vorderhirnes außerdem ihre größten Zelldurchmesser; ihr axonaler Plexus ist jetzt in den allo- und neokortikalen Zielregionen voll entwickelt (Higgins et al., 1989; Koh and Loy, 1989). Danach kommt es, parallel zur leichten Verminderung der Expression von NGF und seiner Rezeptoren, zur Reduktion sowohl der Immunreaktivität und der Enzymaktivität der ChAT im Septum und im Hippokampus als auch zur Reduktion der Zelldurchmesser der cholinergen Neurone. Bezogen auf diese Kriterien wird das reife Adultstadium bei Ratten 4 bis 6 Woche nach der Geburt erreicht (z. B.: Sofroniew et al., 1987; Cavicchioli et al., 1991; Li et al., 1995). Andere *in vivo* Untersuchungen, durchgeführt an neugeborenen Ratten bzw. an Schnittkulturen, haben den Zusammenhang zwischen der hippocampalen Expression des neurotrophen Faktors NGF und der dadurch induzierten Differenzierung cholinergener Neurone bestätigt: die Applikation von Antikörpern gegen NGF blockiert die Expression der ChAT und somit die Differenzierung des cholinergen Phänotyps (z. B.: Hefti et al., 1985; Vantini et al., 1989; Svendsen et al., 1994). Diese zeitlichen Abläufe sind, bei deutlich geringerer Literaturdichte, prinzipiell auch für Mäuse gültig (z. B.: Virgili et al., 1991). Jedoch haben eigene Untersuchungen gezeigt, daß die vollständige Entwicklung der cholinergen septohippocampalen Projektion hin zum adulten Reifungszustand länger andauert und bei Mäusen erst nach etwa 2-3 Monaten abgeschlossen ist (**Naumann et al., 2002**).

Zusammenfassend können reife cholinerge Neurone des basalen Vorderhirnes folgendermaßen charakterisiert werden: sie exprimieren die Proteine für ChAT, p75^{NTR} und trkA (z. B.: Steininger et al., 1993; Sobreviela et al., 1994). Im Sinne der "Neurotrophen Hypothese" (siehe Kapitel 2.3.) bilden sie den „target-derived neurotrophic factor“ NGF nicht selbst, sondern nehmen das Protein Rezeptor-vermittelt in den kortikalen Zielge-

bieten auf (z. B.: DiStefano et al., 1992; McAllister et al., 1999; Yano et al., 2001; Bronfman et al., 2003).

Dieses Expressionsmuster bleibt im Adultzustand der Ratten und Mäuse relativ konstant. Erst im Zustand des fortgeschrittenen Alters, bei diesen Tieren nach etwa 1,5 Jahren, treten spezifische Veränderungen auf. Aus unbekanntem Gründen kommt es charakteristischerweise über Einschränkungen des retrograden Transportes (Cooper et al., 1994; De Lacalle et al., 1996) initial zur Verminderung des NGF-Proteins in den Kernen des basalen Vorderhirnes. Dabei soll die NGF-Synthese in den kortikalen Zielgebieten nicht eingeschränkt sein (gegenteilige Befunde: Lärkfors et al., 1987). In der Folge werden cholinerge Neurone zunehmend atrophisch, die Reduktion der ChAT-Aktivität ist im Nucleus basalis Meynert am stärksten ausgeprägt. Weiter auffällig ist, daß auch der hochaffine NGF-Rezeptor *trkA*, nicht aber der Neurotrophinrezeptor $p75^{NTR}$, herunterreguliert wird (Cooper et al., 1994). Diese altersabhängigen Veränderungen im Neurotrophinsystem (z. B.: Koh and Loy, 1988; Fischer et al., 1989; Hellweg et al., 1990), die auch für humanes Gewebe gezeigt wurden (z. B.: Kerwin et al., 1993; Mufson and Kordower, 1992; Chen et al., 1996; Mufson et al., 2002), sind begleitet von zunehmender kognitiver Beeinträchtigung vor allem hinsichtlich des „räumlichen Lernens / Gedächtnisses“. In einer Reihe von Versuchen ist für Ratten gezeigt worden, daß eben diese Veränderungen unter exogener NGF-Zufuhr reversibel sind und somit tatsächlich ein Neurotrophinmangel im basalen Vorderhirn vorliegt (z. B.: Fischer et al., 1987; Bäckman et al., 1996). Die genannten Veränderungen in den zentralen cholinergen Systemen, die denen bei der Alzheimer'schen Demenz prinzipiell ähnlich sind (Übersichten: Auld et al., 2002; Frölich, 2002; Mufson et al., 2002), werden bezüglich der Neurotrophinregulation u. a. im Zusammenhang mit deren Mitabhängigkeit vom Hormonstoffwechsel, z. B. von Glukokortikoiden, diskutiert (Mocchetti et al., 1996; Lindholm et al., 1994; Gibbs, 1997; Gibbs and Aggarwal, 1998; Shi et al., 1998; Übersicht : Gibbs, 2003). Deren altersbedingte Reduktion verstärkt möglicherweise das Neurotrophindefizit, weil offenbar gleiche Signaltransduktionswege betroffen sein können (Übersichten: Toran-Allerand et al., 1999; 2000).

2.3. Neurotrophine, ihre Rezeptoren und die „Neurotrophe Hypothese“

Die Entdeckung des Nervenwachstumsfaktors NGF vor etwa einem halben Jahrhundert (Übersichten: Levi-Montalcini, 1987; Oppenheim, 1991; Shooter, 2001) und seiner trophischen Wirkungen hat Hypothesen bestätigt, die bereits von Cajal postuliert wurden (Ramon y Cajal, 1928; s. u.). Der Nervenwachstumsfaktor wurde zufällig bei Experimenten entdeckt, die sich mit den Interaktionen zwischen neuronalen Kerngebieten bzw. Ganglien und denen von ihnen innervierten Zielregionen in der Entwicklung beschäftigten. In den späten 40er Jahren war bekannt, daß die Exstirpation einer Organanlage im Sinne der Reduktion des Zielgebietes zum Verlust vieler Neurone in den entsprechenden Ganglien führt. Umgekehrt konnte durch Transplantation zusätzlichen Gewebes eine Hyperplasie in den Kerngebieten induziert werden, die diese Struktur innervieren (Hamburger and Levi-Montalcini, 1949; Levi-Montalcini and Angeletti, 1968). Zusammenfassend führte die Summe der genannten sowie vieler späterer Arbeiten zur Aufklärung der Wirkungsweise des NGF im peripheren Nervensystem und zur Formulierung der klassischen „Neurotrophen Hypothese“. Sie besagt, daß während der Entwicklung des Nervengewebes nur jene Neurone überleben, welche den im Zielgebiet begrenzt vorhandenen neurotrophen Faktor Rezeptor-vermittelt aufnehmen und retrograd zum Soma transportieren können (Übersichten: Thoenen and Barde, 1980; Levi-Montalcini, 1987; Whitemore and Seiger, 1987; Thoenen et al., 1987; Korsching, 1993; Davies, 1994; Shooter, 2001; Huang and Reichardt, 2001). Assoziierte Phänomene wie der entwicklungsbedingte neuronale Zelltod sowie die Retraktion von überzähligen Axonkollateralen fanden damit ebenfalls eine Erklärung (Übersichten: Cowan et al., 1985; Oppenheim, 1991). Die Dichte der peripheren axonalen Innervation korreliert mit dem Niveau der Expression des NGF im Zielgebiet (Korsching and Thoenen, 1983; Heumann et al., 1984; Shelton and Reichardt, 1984; Davies et al., 1987; Hoyle et al., 1993). Im peripheren sympathischen bzw. sensorischen Nervensystem ist damit die Entwicklung, das Überleben sowie die synaptische Differenzierung der Neurone untrennbar mit dem Vorhandensein neurotroph wirkender Moleküle verknüpft.

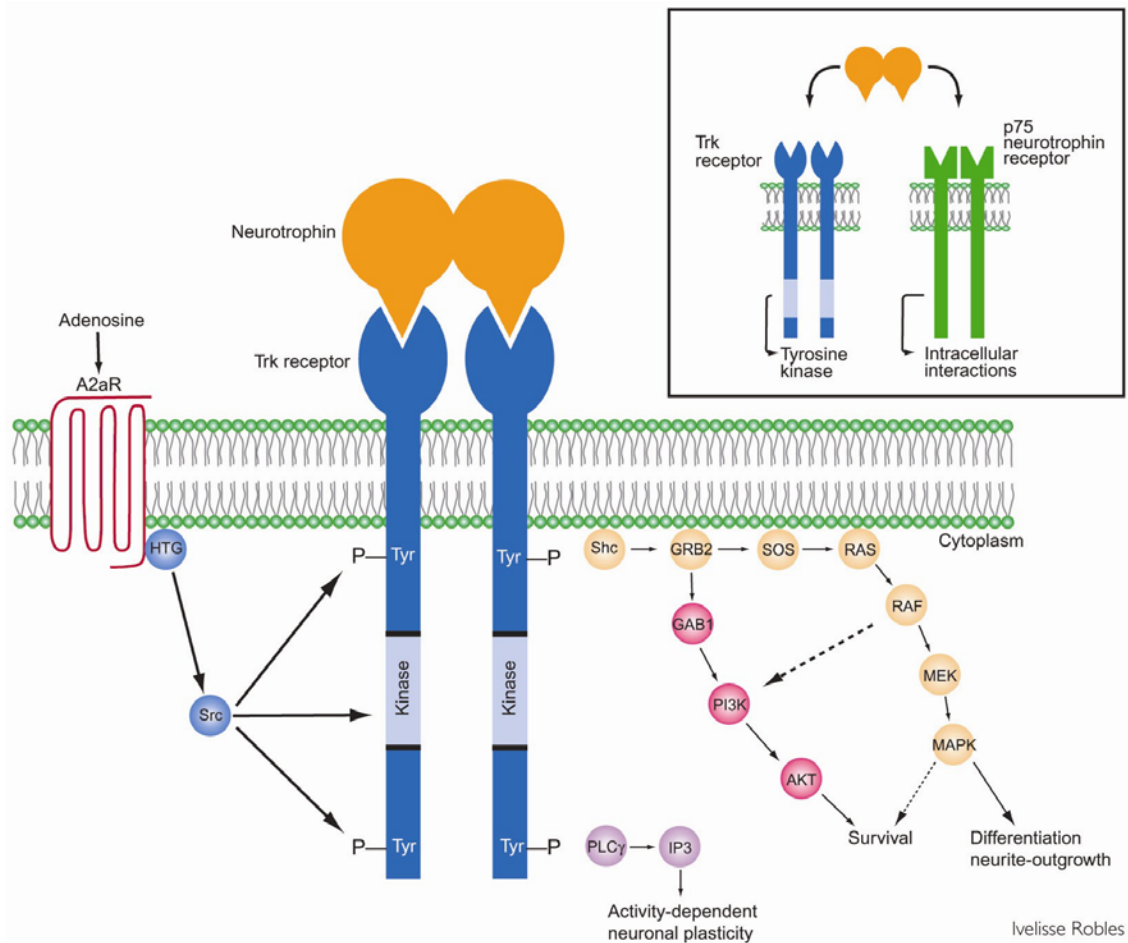
Die biologisch aktive Form des Nervenwachstumsfaktors ist das Dimer des β NGF (2.5S NGF: MG \approx 24.000), einer Untereinheit des vor allem in der Glandula submaxillaris vorkommenden hochmolekularen 7S-NGF-Komplexes. Die beiden identischen Polypeptidketten sind nicht-kovalent gebunden; die Monomere, die selbst noch trophische Aktivität

besitzen, sind jeweils Ketten mit einer Länge von 118 Aminosäuren (zur Struktur und Biosynthese: Scott et al., 1983; McDonald et al., 1991; Shooter, 2001). Inzwischen sind weitere Moleküle gefunden worden, die aufgrund der hohen Sequenz- und Strukturähnlichkeit mit NGF (Übersichten: Hallböök et al., 1991; Ibáñez, 1998; Hallböök, 1999; Huang and Reichardt, 2001) zur Familie der „Neurotrophine“ zusammengefaßt werden: „brain-derived neurotrophic factor“ (BDNF; Barde, 1989; Leibrock et al., 1989), „neurotrophin-3“ (NT-3; Ernfors et al., 1990; Hohn et al., 1990; Maisonpierre et al., 1990 b; Rosenthal et al., 1990), „neurotrophin-4/5“ (NT-4/5; Berkemeier et al., 1991). Sie kommen bereits bei niederen Vertebraten vor; weitere Homologe wie NT-6 (Götz et al., 1994) und NT-7 (Nilsson et al., 1998) wurden in Fischen gefunden.

Die verschiedenen Neurotrophine kommen im Organismus in sehr unterschiedlichen Organen und Geweben und zumeist in verschiedensten Kombinationen vor (z.B.: Davies, 1994; Levi-Montalcini et al., 1996; Torcia et al., 1996; Huang and Reichardt, 2001). Hinsichtlich ihrer genauen Lokalisation im neuronalen bzw. nicht-neuronalen Gewebe und ihrer Rezeptorspezifität (s. u.) können aufgrund ähnlicher tropher Wirkungen sog. „Subgruppen“ postuliert werden (z. B. NGF/NT-3 u. BDNF/NT-3/NT-4; Ip et al., 1993b; Übersicht: Huang and Reichardt, 2001), so daß jede Spezies der Vertebraten im entsprechenden Gewebe zumindest über ein wirksames Neurotrophin dieser Klasse verfügt. Weiterhin können einige Neurotrophine, die normalerweise als nicht-kovalent gebundene assoziierte Homodimere funktionell aktiv sind, auch Heterodimere mit Einheiten anderer Neurotrophine bilden und somit in ihrer biologischen Funktionen moduliert werden (Übersicht: Huang and Reichardt, 2001). Schließlich kompliziert sich die Situation beispielsweise auch dadurch, daß in der Entwicklung unterschiedlicher neuronaler Populationen deren Abhängigkeit von einem bestimmten Neurotrophin innerhalb sehr enger Zeitfenster wechseln kann und damit ihre Differenzierung auch von der Präsenz des „richtigen“ Neurotrophins u. seines Rezeptors zur richtigen Zeit abhängt (z. B.: Maisonpierre et al., 1990 a; Davies et al., 1995; Piñon et al., 1996).

Die Neurotrophine gelangen im Synthesegebiet (z. B. NGF im Hippokampus) über spezifische Rezeptormoleküle in die Zielzellen (z. B. in Axone der cholinergen Neurone des basalen Vorderhirnes). Aufgrund unterschiedlicher Bindungsaffinitäten (Sutter et al., 1979) konnten für NGF zwei Membranrezeptoren identifiziert werden: zuerst der niedrig-affine $p75^{NTR}$ -Rezeptor, welcher strukturell den Rezeptoren der Tumornekrosefaktorfamilie ähnlich ist (siehe Abb. 4; Übersichten: Johnson et al., 1986; Liepinsh et al., 1997;

Radeke et al., 1987; Chao and Hempstead, 1995; Bothwell, 1996; Dechant and Barde, 2002), und später das Protein des Protoonkogens *trkA* als hochaffiner NGF-Rezeptor (Altar et al., 1991; Hempstead et al., 1991; Holtzman et al., 1992; Kaplan et al., 1991a; b). Neben ihrer Kinetik unterscheiden sich die beiden Rezeptoren in der Spezifität der Ligandenbindung. Während der $p75^{\text{NTR}}$ -Rezeptor mit ähnlicher Affinität auch die verwandten Neurotrophine BDNF, NT-3 und NT-4/5 bindet, wird *trkA* hauptsächlich durch NGF aktiviert (Übersicht: Sofroniew et al., 2001). Die durch NT-3 vermittelte Aktivierung des *trkA* erfordert vielfach höhere Konzentrationen (Cordon-Cardo et al., 1991). Die Neurotrophine BDNF, NT-3 (Klein et al., 1989; 1991; Soppet et al., 1991; Squinto et al., 1991) und NT-4 (Klein et al., 1992) binden spezifisch an *trkB*, NT-3 hochaffin an *trkC* (Lamballe et al., 1991; Rodriguez-Tébar et al., 1992). Sowohl für die Tyrosinkinase-Rezeptoren (*trkA*: Clary and Reichardt, 1994; *trkB*: Eide et al., 1996; Fryer et al., 1996; Strohmaier et al., 1996) als auch für den $p75^{\text{NTR}}$ -Rezeptor (von Schack et al., 2001; **Naumann et al., 2002**) sind inzwischen alternative Splicevarianten beschrieben worden. Über deren Funktion besteht, insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, daß bereits die Dimer- bzw. Heterodimerbildungen der „full-length“-Formen der Tyrosinkinase-Rezeptoren mit dem $p75^{\text{NTR}}$ verschiedene funktionelle Bedeutungen besitzen, noch keine Klarheit und scheint vom jeweiligen Zellsystem abzuhängen (z. B.: Ip et al., 1993b). Da von verschiedenen Zelltypen (z. B. cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirnes und des sich entwickelnden Striatums) sowohl ein hochaffiner *trk*-Rezeptor als auch der $p75^{\text{NTR}}$ exprimiert wird, ist eine Interaktion im Sinne der Bildung eines Rezeptorkomplexes für die Ligandenbindung wahrscheinlich. Ältere Studien deuteten darauf hin, daß $p75^{\text{NTR}}$ für die funktionelle Form des Neurotrophinrezeptors essentiell ist. Andererseits wurde aber auch gezeigt, daß die verschiedenen *trk*-Rezeptoren allein die Wirkung der Neurotrophine vermitteln können (siehe Abb. 3; z. B.: Lucidi-Phillipi et al., 1996; White et al., 1996; Bredesen and Rabizadeh, 1997). Inzwischen geht man davon aus, daß die Interaktion beider Rezeptoren zu einer höheren Affinität gegenüber den Liganden führt und so deren Wirksamkeit bei niedrigen Konzentrationen gesteigert wird (Übersichten: Ibáñez et al., 1992; Dobrowsky et al., 1994; Chao and Hempstead, 1995; Carter et al., 1996; Carter and Lewin, 1997; Ibáñez, 1998; Kaplan and Miller, 2000; Sofroniew et al., 2001). Schließlich kann die Rezeptorkomplexbildung der *trk*-Rezeptoren durch Assoziation mit $p75^{\text{NTR}}$ nicht nur die Ligandenwirksamkeit verändern sondern auch deren Aktivierbarkeit zugunsten eines anderen Neurotrophins verschieben (Übersichten:



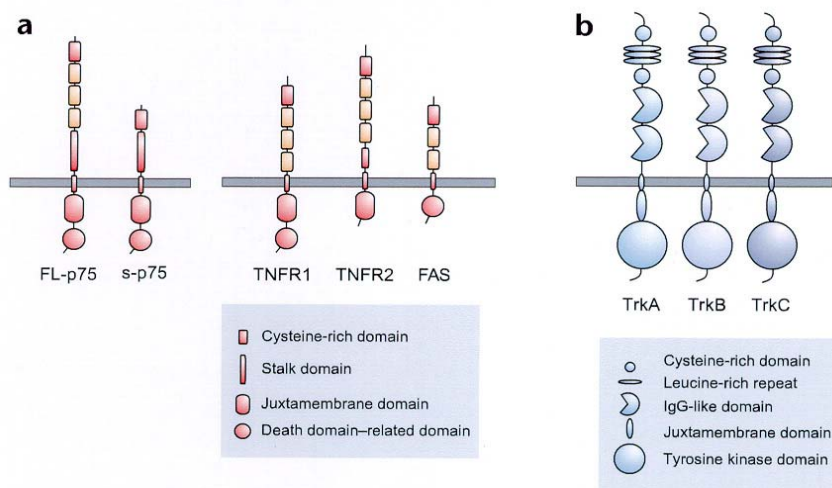
aus: Thoenen and Sendtner (2002), *Nature Neuroscience* 5:1046-1050

Abb. 3 :

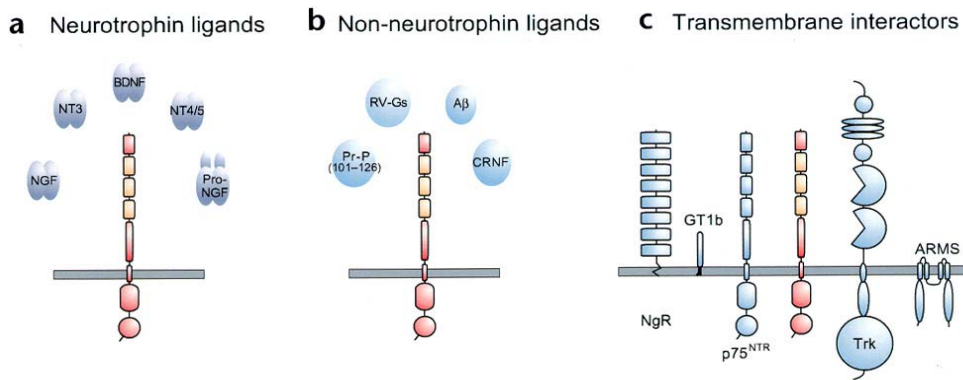
Die Aktivierung intrazellulärer Signalwege durch Neurotrophine erfolgt durch die Bindung an den jeweils spezifischen transmembranären Tyrosinkinase-rezeptor (trks). Der niedrigaffine p75^{NTR} – Rezeptor kann alle Neurotrophine mit gleicher Affinität aber unterschiedlicher Kinetik binden. Die intrazelluläre Domäne besitzt keine katalytische Aktivität, interagiert aber mit verschiedenen Adapterproteinen.

Die Vielzahl der möglichen biologischen Effekte bei der Aktivierung dieser Rezeptoren hängt zunächst davon ab, welche und wie stark die Rezeptoren von den verschiedenen neuronalen bzw. nicht-neuronalen Zellen exprimiert werden. Bei der Koexpression der trks mit dem p75^{NTR} kann sowohl die Affinität als auch die Spezifität der Ligandenbindung moduliert werden (Übersichten: Bibel and Barde, 2000; Kaplan and Miller, 2000; Hempstead, 2002). Für die nachfolgende intrazelluläre Signaltransduktion sind allein für die verschiedenen Phosphorylierungsstellen der trks inzwischen (neben dem Ras- oder PLCγ-pathway) mindestens 6 weitere Signalwege beschrieben worden (Sofroniew et al., 2001).

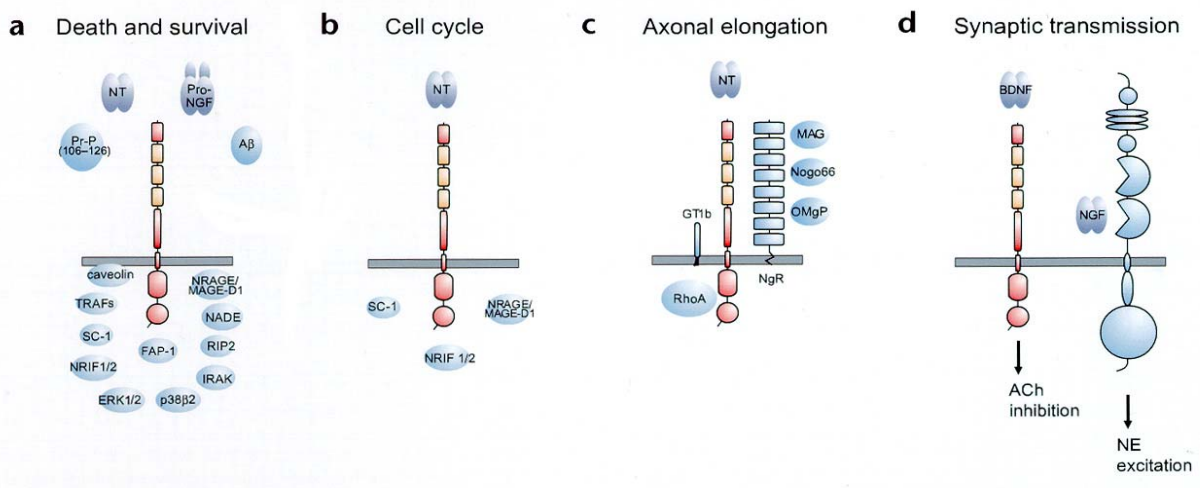
1



2



3



aus : Dechant and Barde (2002), Nature Neuroscience 5: 1131-1135

Abb. 4 :

In **(1)** ist die Struktur des p75^{NTR} sowie die der Tyrosinkinaserzeptoren abgebildet. Im extrazellulären Teil des Rezeptors besitzt der p75^{NTR} vier Cystein-reiche Domänen und ist damit strukturell der Familie der Tumornekrosefaktorrezeptoren verwandt (**1a**). Vor allem die juxtamembranäre Domäne des Rezeptors soll für die Transduktion apoptotischer Signale verantwortlich sein.

Für die Neurotrophinbindung sind die Cystein-Domänen 2-4 (orange) essentiell, die im Exon III kodiert sind (vgl. Lee et al., 1992). Bei der kurzen Form des Rezeptors (s-p75^{NTR}; vgl. von Schack et al., 2002) sind diese Domänen in Folge alternativen „splicings“ von Exon III nicht vorhanden. Wahrscheinlich ist die intrazelluläre Bindung der Adapterproteine nicht verändert und entspricht der des kompletten Rezeptors (FL-p75^{NTR}).

(1b) Der niedrigaffine p75^{NTR} kann mit jedem der hochaffinen Tyrosinkinaserzeptoren (trkA, trkB, trkC; blau) interagieren und die zelluläre Antwort modulieren.

Der p75^{NTR} kann sowohl intra- als auch extrazellulär mit verschiedensten Moleküle interagieren (**2**). Als extrazelluläre Liganden werden die Neurotrophine NGF, pro-NGF, BDNF, NT-3 und NT-4/5 gebunden (**2a**). Desweiteren können u. a. sog. „non-neurotrophin ligands“ (**2b**) wie CRNF („cystein-rich neurotrophic factor“), RV-Gs (rabies viral capsid glycoprotein“), A β (ein Peptid des Amyloid-Precursor-Proteins) oder PrP (ein neurotoxisches Fragment des „prion-protein“) gebunden werden. Neben der Homodimerisierung sind Interaktionen mit den Tyrosinkinaserzeptoren (**2c**), mit dem Nogo-Rezeptor (NgR), verschiedenen Gangliosiden (z. B. GT1b), und dem „ankyrin repeat-rich membrane spanning protein“ (ARMS) beschrieben.

Die unterschiedlichen biologischen Effekte, bei deren Vermittlung der p75^{NTR} beteiligt ist, werden durch verschiedenste Adapterproteine vermittelt (**3**). In Abhängigkeit vom Expressionsmuster des jeweiligen Zelltyps können Zelltod (z. B. über pro-NGF) oder Überleben und Differenzierung (bei Koexpression der trks) initiiert werden (**3a**). Übersicht für die Adapterproteine: Dechant and Barde, 2002. Über die Neurotrophine kann weiterhin Einfluß auf den Zellzyklus genommen werden (**3b**). p75^{NTR} beeinflusst während der Entwicklung und unter den Bedingungen der Regeneration axonales Wachstum (**3c**). Über die intrazelluläre Bindung von Rho wird einerseits die Axonelongation gehemmt, die extrazelluläre Bindung der Neurotrophine hebt diese Hemmung auf. Die Bedeutung der Interaktion mit dem Nogo-Rezeptor, der selbst drei verschiedene wachstumshemmende Myelin-assoziierte inhibitorische Moleküle binden kann, ist noch nicht endgültig aufgeklärt. Schließlich beeinflusst der p75^{NTR} in Abhängigkeit von der Präsenz der trks und der Bindung eines bestimmten Neurotrophins die synaptische Transmission (**3d**).

Chao, 1992; Hantzopoulos et al., 1994; Bothwell, 1996; Carter and Lewin, 1997; Bibel et al., 1999; Huang and Reichardt, 2002).

Für die Tyrosinkinaserzeptoren als auch für den p75^{NTR}-Rezeptor sind mehrere intrazelluläre Signalwege beschrieben worden (z. B.: Riccio et al., 1997; Übersichten: Huang and Reichardt, 2001; Sofroniew et al., 2001). Zusätzliche Komplexität entsteht dadurch, daß z. B. der p75^{NTR} aufgrund seiner Struktur nicht nur Neurotrophine, sondern ein breites Spektrum an intra- bzw. extrazellulären Signal-vermittelnden Molekülen binden kann (siehe Abb. 4; Übersichten: Dechant and Barde, 2002; Butowt and Bartheld, 2003).

In den Kernen des Septumkomplexes sowie im Hippokampus wurde, neben NGF und seinen Rezeptoren (z. B.: Holtzman et al., 1992; Gibbs and Pfaff, 1994; Sobreviela et al., 1994; Holtzman et al., 1995; Li et al., 1995), vor allem BDNF und trkB (z. B.: Wetmore et al., 1990; Dugich-Djordjevic et al., 1995; Kawamoto et al., 1996; Conner et al., 1997; Yan et al., 1997; Friedman et al., 1998; Furukawa et al., 1998) nachgewiesen. Bisher ist aber nicht gezeigt worden, daß die cholinergen Neurone des MSDB trkB koexprimieren (Miranda et al., 1993). Weiterhin scheint für das septohippokampale System NT-3 von geringer Bedeutung zu sein (Phillips et al., 1990; Knüsel et al., 1991). Obwohl es wie NGF in erheblichem Maße von hippocampalen GABAergen Interneuronen gebildet wird (Lauterborn et al., 1993; Rocamora et al., 1992; 1996; Pascual et al., 1998), ist die Nachweisbarkeit des spezifischen Rezeptors trkC in den septalen Kernen auf wenige Zellen beschränkt (Altar et al., 1994).

2.4. Axotomie septohippokampaler Neurone

Seit den 50er Jahren ist bekannt, daß die Durchtrennung des Fimbria-Fornix-Systems zu massiven Zellverlusten im MSDB-Komplex führt. Die Erhebung der entsprechenden Befunde erfolgte damals mit der Nissl-Färbung (Daitz and Powell, 1954). Besonders imponierte dabei der Verlust des sog. „magnocellular part“ der Neurone im Gebiet des Medialen Septums. Das Vorhandensein verschiedener Projektionssysteme und ihre topographische Ordnung innerhalb des Fimbria-Fornix-Systems (vergl. mit Abb. 1 u. 2) nutzte man in dieser Zeit vor allem zu Studien, bei denen es nach partiellen Läsionen einzelner Fasertrakte mittels Silberimprägnationstechniken möglich war, Bahnverbindungen des basalen Vorderhirnes genauer zu bestimmen (z.B.: McLardy 1955 a; b; Raisman, 1966; 1969; Raisman et al., 1966; Raisman and Field, 1973). Diese Untersuchungen wurden in den 70er Jahren mit autoradiographischen Methoden weitergeführt (z. B.: Swanson and Cowan, 1976; 1979).

1984 ist eine Beobachtung publiziert worden, durch die sich das septohippokampale System und seine Durchtrennung zu einem der am meisten benutzten Läsionsmodelle des ZNS etablierte. Bei adulten Ratten wurde radioaktiv markierter NGF nach intrakortikaler bzw. intrahippokampaler Gabe spezifisch in den magnozellularen Neuronen des basalen Vorderhirnes wiedergefunden (Seiler and Schwab, 1984). In Analogie zu seiner Funktion im PNS war zunächst vermutet worden, daß NGF auch im ZNS auf

katecholaminerge Nervenzellen neurotroph wirken könnte. Jedoch zeigten weder die noradrenergen Neurone des Locus coeruleus noch die dopaminergen Neurone der Substantia nigra Aufnahme und retrograden Transport von NGF (Schwab et al., 1979). Im Gegensatz zum PNS wurde NGF im ZNS in den Zielstrukturen cholinergischer Projektionsysteme gefunden (Seiler and Schwab, 1984; Korsching et al., 1985; Korsching, 1986). Obwohl in dieser Zeit nur der p75-Rezeptor als Bindungspartner für NGF beschrieben war, führten diese Befunde zu der Annahme, daß neurotrophe Proteine im ZNS ähnliche Funktionen hinsichtlich Entwicklung, Überleben und Differenzierung bestimmter Neurone haben könnten wie im PNS (vgl. 2.2., 2.4.).

Mehrere Arbeitsgruppen (z. B.: Hefti, 1986; Williams et al., 1986; Gage et al., 1996; Kromer, 1987; Übersicht: Gage et al., 1989) konnten im weiteren Verlauf zeigen, daß die Durchtrennung des FFS innerhalb weniger Tage zum subtotalen Verlust der cholinergen Neurone im MS führt. Entsprechend der für das PNS gemachten Beobachtungen nahm man an, daß die Unterbrechung des retrograden Transportes von NGF aus dem Hippokampus zum Tod der cholinergen Neurone im Septum führt und ersetzte folglich den endogen nicht mehr verfügbaren neurotrophen Faktor durch Zufuhr (über Minipumpen) in den septumnahen Ventrikelraum. Die Ergebnisse waren eindeutig: Läsion des FFS führt auf der Seite der Durchtrennung innerhalb von 2 Wochen zum Verlust von mehr als

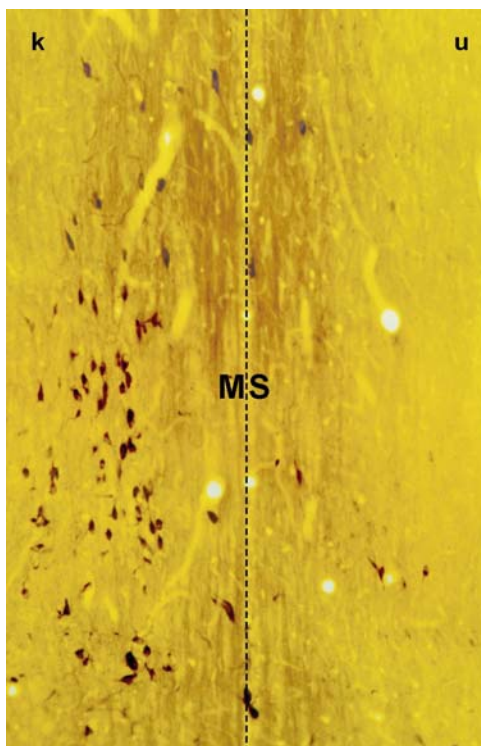


Abb. 5 :

In der Abb. ist der Effekt der *unilateralen* Fimbria-Fornix-Durchtrennung auf die cholinergen Neurone des Medialen Septums dargestellt. Der immunzytochemische Nachweis ChAT-positiver Neurone zeigt für die unoperierte Seite (k) ein Verteilungsmuster, wie es bei Kontrollen gefunden wird. Auf der Seite der Läsion (u) sind fast keine immunpositiven Neurone nachweisbar, was den Tod dieser Zellen innerhalb von zwei Wochen nach Axotomie suggeriert.

90% der immunzytochemisch gefärbten cholinergen Neurone; wird in dieser Zeit NGF exogen zugeführt, bleiben im gleichen Zeitraum etwa 90% dieser Zellen nachweisbar (z. B.: Hefti, 1986; Williams et al., 1986; Kromer, 1987; O'Brien et al., 1989; Tuszynski et al., 1990). Die Applikation von NGF beeinflusst darüberhinaus die Zellgröße: es wurde regelmäßig eine Hypertrophie der NGF-behandelten Neurone beobachtet (z. B.: Gage et al., 1986; Higgins et al., 1989). Die neurotrophe Hypothese, ursprünglich für katecholaminerge Neurone des PNS formuliert, war offensichtlich im ZNS für die cholinergen Systeme des basalen Vorderhirnes gültig (siehe Abb. 5; Übersicht: Gage et al., 1989).

Partielle Läsionen in den Projektionsbahnen bzw. Zielgebieten des Diagonalen Bandes oder des Meynertkernes zeigten, daß sich die cholinergen Neurone dieser mehr kaudal gelegenen Kerne, wenn auch entsprechend ihrer mehr diffusen Projektionen abgestuft, prinzipiell wie die des Medialen Septums verhalten (Übersicht: Sofroniew et al., 2001).

3. EIGENE ARBEITEN und DISKUSSION

3.1. Vorarbeiten

Ausgangspunkt für die Überlegung, eigene Untersuchungen am septohippokampalen System nach Fimbria-Fornix-Läsion durchzuführen, waren u. a. die bei axotomierten cholinergen Motoneuronen gemachten Beobachtungen, denen zufolge der Verlust an Transmitter-assoziierten Proteinen nicht notwendigerweise mit Zelltod gleichzusetzen ist (Lams et al., 1988). Verschiedene neuronale Kerngebiete des Hirnstammes sind zunächst mit Farbstoffen, die in deren Zielgebiete injiziert wurden, retrograd vormarkiert und danach ihre Axone durchtrennt worden. Obwohl einige Wochen nach dem operativen Eingriff die entsprechenden Kerngebiete immunzytochemisch ebenfalls nicht mehr identifiziert werden konnten, blieben die mit Fluoreszenzfarbstoffen retrograd markierten Somata mikroskopisch nachweisbar (z. B.: McBride et al., 1988; 1989; Lams et al., 1988). Kurz darauf wurden ähnliche Befunde für den MSDB-Komplex publiziert. Auch nach Axotomie der septohippokampalen Projektion blieben zahlreiche vormarkierte Zellen im MSDB nachweisbar (Peterson et al., 1990). Das waren interessante Be-

obachtungen, die implizieren, daß die Axotomie zentraler Neurone nicht zwangsläufig zum Verlust der betroffenen Neurone führt. Dadurch würde sich weiterhin die Möglichkeit eröffnen, durch therapeutische Intervention regenerative Prozesse bei diesen Zellen zu induzieren. Jedoch erlauben retrograde Vormarkierungen unter Läsionsbedingungen nicht die Schlußfolgerung, daß es sich bei den vormarkierten Zellen tatsächlich um überlebende axotomierte Projektionsneurone handelt (z. B.: Angelov et al., 1995; O'Brien et al., 1990; Peterson et al., 1992). Am deutlichsten ist für die retinotektale Projektion gezeigt worden, daß die proximale Durchtrennung der Axone des Nervus opticus zu massivem Zelltod der retinalen Ganglienzellen führt und dann der Tracer in phagozytischer Glia nachgewiesen werden kann (Thanos et al., 1993; Thanos and Mey, 1995).

3.2. Welchem Schicksal unterliegen axotomierte cholinerge Neurone des Medialen Septums wirklich?

Diese Frage machte zunächst eine genaue Untersuchung der Reaktionen der axotomierten Neurone des MS nötig. Daten zur Morphologie der Neurone des medio-kaudalen Kernkomplexes der Septumregion mit dem Medialen Septum und dem Diagonalen Band (Broca) sind vor allem mit der Golgi-Technik (z. B.: Brauer and Winkelmann, 1987; Brauer et al., 1988; 1991) sowie mit immunzytochemischen Färbungen (vgl. 2.1.; z. B.: Sofroniew et al., 1982; Mesulam et al., 1983) erhoben worden. Eine spezielle zellmorphologische Abgrenzung der "septo-hippokampalen" Neurone, die innerhalb des MSDB-Komplexes nur den kleineren Teil der neuronalen Gesamtpopulation ausmachen, ist mit diesen Methoden aber nicht möglich.

Die Identifizierung septohippokampaler Projektionsneurone erfolgte zunächst mittels Injektion des Fluoreszenztracers Fluoro-Gold (vergl. mit Schmued and Fallon, 1986; Naumann et al., 2000) in die Hilusregion des Hippokampus. Dieser wird innerhalb weniger Tage retrograd in die septalen Zellkörper transportiert. Die intrazelluläre Anfärbung der vormarkierten Zellen in fixierten Vibratomschnitten mit dem Fluoreszenzfarbstoff Lucifer Yellow erlaubt dann eine detaillierte lichtmikroskopische Beschreibung der somit doppelt markierten Zellen einschließlich ihrer Verzweigungen unabhängig vom aktuellen Expressionsmuster (Kontrollbedingungen, nach Axotomie). Nach Photokonversion dieser Farbstoffe (Maranto, 1982; Buhl et al., 1990) können die Zellen an-

schließlich elektronenmikroskopisch identifiziert und charakterisiert werden (z. B.: Buhl et al., 1989; 1990).

Septohippokampale Projektionsneurone sind, verglichen mit z. B. kortikalen Pyramiden, eher kleine Neurone mit einem Somadurchmesser von ca. 15-30 µm. Aufgrund des dendritischen Verzweigungsmusters handelt es sich um zumeist bipolare oder multipolare Neurone. Sie enthalten auffällig viele Zellorganellen, insbesondere Mitochondrien und rauhes endoplasmatisches Retikulum. Hinsichtlich dieser Kriterien war es nicht möglich, zwischen cholinergen und GABAergen septohippokampalen Projektionsneuronen zu unterscheiden (**Naumann et al., 1992a**). Auch detailliertere Untersuchungen, bei denen die Projektionsneurone zunächst mit Tracern identifiziert und dann mit Antikörpern immunzytochemisch für die beiden Markerproteine ChAT (für cholinerge Neurone) bzw. Parvalbumin (für GABAerge Neurone) gefärbt wurden, ergaben keine spezifischen feinstrukturellen Merkmale für eine eindeutige Unterscheidung (**Naumann et al., 1992a**; Kermer et al., 1995). Die Tracervormarkierung mit Fluoro-Gold und dessen elektronenmikroskopischer Nachweis in den Lysosomen (Schmued et al., 1989; Naumann et al., 2000) blieb das entscheidende Kriterium für die Identifizierung dieser Zellen als "septohippokampale" Neurone innerhalb des septalen Kernkomplexes unter den Bedingungen der postläsionalen Herunterregulation der Markerproteine (siehe 2.4.).

Um das Schicksal der axotomierten septalen Neurone bei Ratten zu untersuchen, wurde, bei gleicher methodischer Vorgehensweise, eine Woche nach der Tracerapplikation das Fimbria-Fornix-System bilateral durchtrennt und anschließend verschiedene postoperative Überlebensstadien (1 bis 10 Wochen nach FFD) untersucht. Die lichtmikroskopische Auswertung der kurzen postoperativen Überlebenszeiten bestätigte Ausgangsuntersuchungen (Peterson et al., 1990), denen zufolge fluoreszenzmarkierte Zellen nachweisbar blieben. Die ultrastrukturellen Untersuchungen haben zweifelsfrei ergeben, daß die überwiegende Mehrzahl der axotomierten Neurone den Eingriff überlebt und weiter durch Inputsynapsen in die Umgebung integriert bleibt. (**Naumann et al., 1992b**; Peterson et al., 1992; 1993). Die Herunterregulation der Markerproteine ChAT bzw. p75^{NTR} ist also fälschlicherweise als Axotomie-induzierter Zelltod interpretiert worden (vgl. mit 2.4. und 3.1.). Auch nach langen Überlebenszeiten von bis zu 10 Wochen nach FFD hat sich dieses Bild nicht wesentlich verändert. Obwohl viele Projektionsneurone infolge von Schrumpfung des Zellkörpers und der Dendriten etwas kleiner sind als bei

Kontrollen, bleibt doch die Mehrzahl der axotomierten Neurone weiter nachweisbar (**Naumann et al., 1992b**; Peterson et al., 1992; 1993). Entsprechend konnte der Fluoreszenzmarker Fluoro-Gold in Gliazellen nur ausnahmsweise in kaudalen, d. h. läSIONsnahen, Abschnitten des Septumkomplexes beobachtet werden (Hollerbach et al., 1998; vgl. Sofroniew and Isacson, 1988).

Welche Funktion haben Neurone, die zwar "morphologisch" nachweisbar bleiben (siehe Abb. 6; **Naumann et al., 1992b**), aber wesentliche Proteine, wie z. B. die für den Transmitterstoffwechsel, nicht mehr bilden? Mit entsprechenden Folgeuntersuchungen, bei denen die Ratten den Eingriff 6 bzw. 18 Monate überlebten, gelang es schließlich zu zeigen, daß die axotomierten Septumneurone nicht nur "vorhanden" bleiben, sondern die Fähigkeit erlangen, die funktionellen Proteine erneut zu synthetisieren. Dem Abfall der Zahl der ChAT-immunoreaktiven MS-Neurone auf weniger als 20% innerhalb von 2 Wochen nach FFD stehen etwa 55% nach einem 6-Monate-Intervall gegenüber. Elektronenmikroskopisch war bei der Mehrzahl der axotomierten cholinergen Neurone der vor der Durchtrennung des FFS applizierte Fluoreszenztracer Fluoro-Gold nachweisbar (**Naumann et al., 1994a**). Damit war die Bedeutung des im Hippokampus gebildeten „target-derived neurotrophic factor“ NGF als „Überlebensfaktor“ für cholinerge septale Neurone bei der adulten Ratte relativiert worden. Weiterhin war jetzt unklar, welchen Effekt die exogene Applikation des NGF auf die axotomierten Neurone tatsächlich hat. Wir haben deshalb die bisherigen Daten der läSIONierten, aber nicht mit NGF behandelten, Tiere mit denen von Versuchstieren verglichen, die, entsprechend der vorliegenden Literatur (vgl. 2.4.; Übersicht: Gage et al., 1989), für 3 Wochen nach dem Eingriff mit NGF behandelt wurden und dann insgesamt ebenfalls 6 Monate die Axotomie überlebten. Die zeitlich begrenzte exogene Zufuhr des NGF, wie von vielen Autoren vorgeschlagen (vgl. 2.4.), hatte weder hinsichtlich des „Überlebens“ der cholinergen Neurone noch für die immunzytochemische Nachweisbarkeit der ChAT einen langfristig protektiven Effekt. 6 Monate nach FFD wurden, ohne morphologische Unterschiede hinsichtlich Zellgröße oder FäRbeintensität, identische Zellzahlen für cholinerge Neurone bei unbehandelten und bei mit NGF behandelten Ratten gefunden (**Naumann et al., 1994b**). Eine weitere Langzeitstudie ist zum gleichen Ergebnis gekommen: die Applikation von NGF über 6 Monate erhält nur für die Dauer der Behandlung die immunzytochemische Nachweisbarkeit der ChAT (Junard et al., 1990). Weitere Untersuchungen anderer Autoren stützen letztlich die Annahme, daß NGF als Über-

lebensfaktor eher nicht in Betracht kommt: bei zeitversetztem Beginn der Neurotrophinzufuhr nach FFD werden die Markerproteine ChAT, p75^{NTR} und trkA ebenfalls im Behandlungszeitraum reexprimiert (Hagg et al., 1988; 1989; Montero and Hefti, 1988; Fischer and Björklund, 1991).

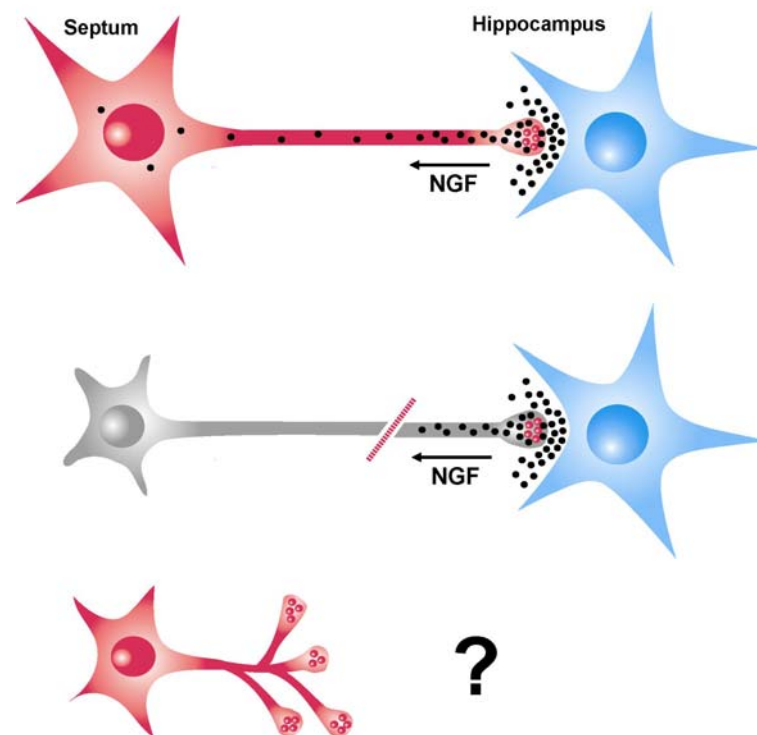


Abb. 6 :

Cholinerge Neurone des Medialen Septums projizieren in den Hippokampus und nehmen dort den neurotrophen Faktor NGF auf. Nach FFD sind diese Neurone zunächst mit immunzytochemischen Nachweismethoden (z. B. für ChAT) nicht mehr nachweisbar. Nach längeren Überlebenszeiten können diese Zellen aber ihr Markerprotein reexprimieren, der im Hippokampus gebildete NGF ist dafür nicht essentiell.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß für adulte cholinerge septohippocampale Projektionsneurone der im Hippokampus gebildete NGF sowohl unter Kontrollbedingungen als auch nach FFD keine entscheidende Rolle hinsichtlich des Überlebens spielt. Weitere eigene Untersuchungen haben ergeben, daß die axotomierten Neurone des MS in der Umgebung aktivierter Mikroglia und Astroglia nicht nur überleben (Hollerbach et al., 1998), sondern selektiv das „immediate early gene“ c-Jun hochregulieren

(Haas et al., 1996). Dessen Expression wurde auch in verschiedenen anderen Systemen mit der regenerativen Kapazität geschädigter Neurone in Zusammenhang gebracht (z. B.: Leah et al., 1991; 1993; Dragunow, 1992; Jenkins et al., 1993; Butterworth and Dragunow, 1996; Kenney and Kocsis, 1998; Übersichten: Herdegen et al., 1997; Herdegen and Leah, 1998). In Einklang damit gelang es weiter zu zeigen, daß axotomierte MS-Neurone den Marker für axonales Wachstum „growth-associated protein 43“ (GAP-43; Übersichten: Skene, 1989; Aigner et al., 1995; Benowitz and Routtenberg, 1997) nach FFD reexprimieren (Haas et al., 2000). Die erhebliche Zunahme der ChAT-Aktivität im MSDB-Komplex innerhalb von 6 Monaten nach FFD (**Häge et al., 1996**) stützt diese Beobachtung und deutet auf starkes lokales Axonwachstum im Septumkomplex hin (siehe Abb. 6). Inzwischen ist für Mäuse gezeigt worden, daß auch bei dieser Species alle cholinergen Neurone die Axotomie durch FFD überleben und, wie bei Ratten, vor allem die Immunreaktivität für ChAT postoperativ reduziert wird (Van der Zee and Hagg, 2002; Naumann et al., 2003).

3.3. Gibt es Alternativen zur exogenen NGF-Applikation?

Es ist vielfach versucht worden, durch alternative Substanzen die zeitlich limitierten Effekte der exogenen NGF-Behandlung zu verbessern (Übersicht: Hagg et al., 1994). Jedoch hat beispielsweise weder die Applikation von „basic fibroblast growth factor“ (bFGF; z. B.: Anderson et al., 1988; Otto et al., 1989), BDNF (z. B.: Lapchak and Heft, 1992; Knüsel et al., 1992; Morse et al., 1993; Widmer et al., 1993), NT-4/5 (Alderson et al., 1996), der Zytokine „ciliary neurotrophic factor“ (CNTF; z. B.: Hagg et al., 1992), „leukemia inhibitory factor“ (LIF; Cheema et al., 1998; Panni et al., 1999) und IL-3 (Kamegai et al., 1990) oder anderer Moleküle noch deren Zufuhr in verschiedenen Kombinationen (z. B.: Kew and Sofroniew, 1997) zu besseren Behandlungsergebnissen (verglichen mit NGF-Applikationen) geführt (Übersichten: Hagg et al., 1994; Sofroniew et al., 2001). Zumindest einen Teil dieser Befunde kann man mit dem Fehlen der dafür notwendigen spezifischen Neurotrophin-Rezeptoren (z. B. trkB für BDNF; vgl. 2.3.) bzw. der CNTF-spezifischen α -Untereinheit des Zytokinrezeptors (vgl. Ip et al., 1992; 1993a; Naumann et al., 2003) bei cholinergen septohippokampalen Neuronen erklären.

Von den genannten Alternativen zur NGF-Behandlung deutet der Einsatz von CNTF auf eine sehr spezielle Bedeutung dieses Zytokins für axotomiierte cholinerge septohippocampale Neurone hin (Hagg et al., 1992). Die exogene Zufuhr dieses Zytokins hat in erheblichem Umfang die postläsionale Herunterregulation des p75^{NTR}-Rezeptors verhindert, nicht aber die Verluste der ChAT-immunreaktiven Neuronen (Hagg et al., 1992). Für diese Divergenz, die auch bei kultivierten cholinergen Neuronen gefunden wurde (Kew and Sofroniew, 1995), konnte zunächst keine schlüssige Erklärung angeboten werden. Anders als durch NGF, welches die Expression wesentlicher Markerproteine cholinergischer Neurone gleichsinnig reguliert (vgl. 2.2), scheint über die Aktivierung des JAK/STAT-Systems eine selektive Einflußnahme auf die Regulation des p75^{NTR}-Rezeptors möglich zu sein.

CNTF wurde im Zusammenhang mit seinem überlebensfördernden Effekt auf parasympathische Neurone des Ganglion ciliare entdeckt (Adler et al., 1979) und war nach NGF und BDNF das dritte charakterisierte Protein mit neurotropher Wirkung (z. B.: Barbin et al., 1984; Manthorpe et al., 1986; Lin et al., 1989; Stöckli et al., 1989). In der Folgezeit ist eine Reihe weiterer Moleküle beschrieben worden, die aufgrund ihrer Strukturähnlichkeiten mit CNTF sowie der Aktivierung gemeinsamer Rezeptorkomponenten zur Gruppe der „Neurokine“ zusammengefaßt wurden (Übersichten: Bazan, 1991; Rose and Bruce, 1991; Patterson, 1992; Taga and Kishimoto, 1992): „leukemia inhibitory factor“ (LIF; Yamamori et al., 1989; Gough und Williams, 1989), Interleukin-6 (IL-6; Van Snick, 1990), „granulocyte colony stimulating factor“ (G-CSF; Nagata, 1989) und Oncostatin M (OCM; Malik et al., 1989). Für diese Zytokine, denen zunächst nur funktionelle Relevanz innerhalb des hämatopoetischen Systems zugeschrieben wurde (Übersicht : Bazan, 1991), ist inzwischen auch eine erhebliche Bedeutung u. a. bezüglich der Entwicklung des vegetativen und sensorischen Nervensystems, der Differenzierung peripherer und zentraler Gliazellen sowie insbesondere nach Schädigung verschiedenster Systeme des PNS und ZNS nachgewiesen worden (z. B.: Sendtner et al., 1990; 1994; Li et al., 1995; Banner et al., 1997; Bonni et al., 1997; Lee et al., 1997a; b; Kirsch et al., 1998; Haas et al., 1999; Übersichten: Hagg et al., 1994; Qiu et al., 1997; Turnley and Bartlett, 2000). Die starke Überlappung der biologischen Wirkungen von CNTF und LIF sowie der anderer Mitglieder der Zytokinfamilie erklärt sich aus der Interaktion an gemeinsamen Rezeptorproteinkomponenten und der möglicherweise damit verbundenen Induktion gleicher intrazellulärer Signaltransduktionswege. Der IL-6-Rezeptor besteht aus zwei gp130-Untereinheiten (z. B.: Taga et al., 1989; Hibi et al., 1990); für die LIF-Wirkung ist je eine

gp130- und eine LIFR β -Untereinheit notwendig (Gearing et al., 1991; 1992; 1994; Ip et al., 1992; 1993b; Ip und Yancopoulos, 1992; Davis et al., 1993a; Stahl and Yancopoulos, 1994). Bezüglich des CNTF wurde eine spezifische CNTFR α -Rezeptoruntereinheit gefunden, die aber keine transmembranäre Domäne besitzt und nur über eine Glykosylphosphatidylinositol-Gruppe an die Zellmembran gebunden ist (Squinto et al., 1990; Davis et al., 1991). Sie läßt sich enzymatisch abspalten und wurde in löslicher Form beispielsweise in der Cerebrospinalflüssigkeit gefunden (Davis et al., 1993b). Für die Signaltransduktion ist zuerst die Bindung des Liganden an die CNTFR α -Rezeptoruntereinheit notwendig, danach kommt es zur Assoziation mit den transmembranären gp130- und LIFR β -Untereinheiten und zur Aktivierung des JAK/STAT-Signalweges (Übersichten: Stahl und Yancopoulos, 1994; Ip and Yancopoulos, 1995).

Um Effekte des CNTF auf axotomierte septohippokampale Neurone genauer zu untersuchen, haben wir bei C57BL/6-Mäusen und entsprechenden CNTF^{-/-} Mutanten (Masu et al., 1993) das Fimbria-Fornix-System durchtrennt (Naumann et al., 2003). Die läsionsinduzierte *endogene* Synthese von CNTF in den Astrozyten des Septumkomplexes hat einen anhaltenden protektiven Effekt auf die axotomierten GABAergen Neurone des Medialen Septums. Überraschenderweise war aber die Zahl ChAT-immunreaktiver Neurone in den ersten Wochen nach Läsion in den CNTF^{-/-} Mutanten deutlich höher als in den Wildtypen (Naumann et al., 2003). Postläsional divergierende Zellzahlen für ChAT- bzw. p75^{NTR}-immunreaktive Neurone, wie sie von Hagg und Mitarbeitern (1992; s. o.) beschrieben wurden, konnten nicht bestätigt werden. Die Abnahme der immunzytochemisch markierten Zellprofile war für beide cholinergen Marker identisch (Naumann et al., 2006). Das Fehlen der Divergenz bei der postläsionalen Regulation beider cholinergen Proteine in dieser experimentellen Situation kann mit dem Umstand erklärt werden, daß Zytokine z. B. über den Ras/ MAPK-Signalweg gleiche intrazelluläre Signalwege aktivieren können wie Neurotrophine (z. B.: Turnley and Bartlett, 2000).

Aus den bisherigen Befunden sind mehrere Schlußfolgerungen zu ziehen. Am Beispiel der Zytokine CNTF und LIF konnte durch in-vivo-Studien gezeigt werden, daß bereits die *endogene* Synthese dieser Moleküle neuroprotektive Effekte haben kann (vgl. Lee et al., 1997b; Sendtner et al., 1997; Butzkueven et al., 2002; Linker et al., 2002; Naumann et al., 2003). Die (zusätzliche) *exogene* Applikation eines "neurotrophen" Faktors in unphysiologisch hoher Dosis muß langfristig nicht zwangsläufig effektiver sein (vgl. mit

NGF-Behandlung nach FFD in 3.2. und **Naumann et al., 1994b**) und kann, vielleicht über die Modulation der intrazellulären Signalwege, zu anderen Ergebnissen führen als solchen, die durch endogene Molekülwirkung erzielt werden (vgl. Hagg et al., 1992 u. Naumann et al., 2003). Weiterhin konnten wir für das Zytokin CNTF zeigen, daß die läSIONSINDUZIERTE (endogene) Hochregulation eines "neurotrophen" Faktors nicht bedeutet, daß diese verschiedene Neuronenpopulationen (cholinerge bzw. GABAerge Neurone) in gleicher Weise vor der läSIONSINDUZIERTEN Schädigung schützt (Naumann et al., 2003). Schließlich ist auch zu beachten, daß die Regulation der an den post-läsionalen Prozessen beteiligten Moleküle in Mutanten verändert sein kann, was die Interpretation der Beobachtungen bei solchen Tieren erschwert (z. B.: Sendtner et al., 1996; Martin et al., 2003; Naumann et al., 2003; 2006).

3.4. Gibt es alternative Quellen für den „target-derived neurotrophic factor“ NGF?

Nach langen Überlebenszeiten beginnen axotomierte cholinerge Neurone des MSDB-Komplexes damit, ihr Transmitter-assoziiertes Markerprotein ChAT erneut zu exprimieren (**Naumann et al., 1994a; b**). Da entsprechend der Literatur die Synthese der ChAT direkt von der Präsenz des NGF abhängig ist (vgl. 2.2, 2.4.), muß zunächst davon ausgegangen werden, daß diesen Neuronen, die NGF nicht selbst bilden, neurotrophe Moleküle möglicherweise nicht ausschließlich in ihren Zielgebieten zur Verfügung stehen. Cholinerge Neurone haben neben ihren langen Axonen zum Hippokampus (Peterson et al., 1994) offenbar auch eine erhebliche Zahl an lokalen, NGF-Rezeptoren tragenden, Kollateralen, die insbesondere an den benachbarten Parvalbumin-enthaltenden GABAergen septohippokampalen Projektionsneuronen terminieren (Brauer et al., 1998). Desweiteren ist speziell für diese Neurone gezeigt worden, daß sie sehr wenige somatische Inputsynapsen haben (**Naumann et al., 1992a**) und ihre Oberflächen besonders stark von Astrozyten bedeckt werden (Milner et al., 1995; Milner and Prince, 1998). Sowohl septale GABAerge Neurone als auch Astrozyten des gesamten basalen Vorderhirnes kommen als lokale Quellen neurotropher Faktoren in Betracht (s. u.).

Bereits 1986 wurden zwei Arbeiten publiziert, die, selten zitiert, konkrete Hinweise vermittelten, nach denen die Fimbria-Fornix-Durchtrennung im Septum selbst die NGF-Synthese induziert (Gasser et al., 1986; Weskamp et al., 1986). Diese Möglichkeit wäre eine

elegante Erklärung für die widersprüchlichen Befunde und könnte im Einklang mit der „Neurotrophin Hypothese“ die Fragen beantworten, warum (1) läionierte cholinerge Neurone des basalen Vorderhirnes schädigende Eingriffe nicht nur überleben, sondern (2) auch zur Resynthese von wichtigen Molekülen befähigt sind. Die Arbeitsgruppe (Gasser et al., 1986 & Weskamp et al., 1986) hat herausgefunden, daß die intraseptale Menge an NGF-Protein innerhalb der ersten Woche nach FFD auf etwa 300% ansteigt. Wir konnten zeigen, daß zwar die Zahl ChAT-immunoreaktiver Neurone innerhalb der ersten beiden postoperativen Wochen dramatisch abnimmt (**Naumann et al., 1994a**; vgl. 2.4.), nicht jedoch die Aktivität des Enzyms (**Häge et al., 1996**). Sowohl im MS als auch im DB bleibt die Aktivität der ChAT über 3 Wochen nach FFD etwa auf dem Niveau von Kontrollen und steigt schließlich nach 6 Monaten Überlebenszeit auf 140% an (**Häge et al., 1996**). Die hohen Aktivitätswerte in der frühen Phase belegen am eindruckvollsten das Überleben der axotomierten Neurone. Für diesem Zeitpunkt kann z. B. das lokale axonale „sprouting“ cholinergischer Terminale nicht-septalen Ursprungs (z. B.: Hallanger et al., 1988), deren Existenz außerdem fraglich ist, nicht zur Erklärung der konstant hohen ChAT-Enzymaktivität herangezogen werden.

Auf zellulärer Ebene ist für Ratten gezeigt worden, daß ein Teil der GABAergen Neurone des MSDB die mRNA für NGF bildet (Lauterborn et al., 1995); einen eindeutigen Beleg für gliale Synthese in der Kontrollsituation gibt es nicht (**Naumann et al., 1997**). Andere Arbeitsgruppen haben allerdings relativ hohe Protein- und mRNA Werte gemessen, die auf etwa 1/3 der hippokampalen Syntheserate schließen lassen (z. B.: Shelton and Reichardt, 1986; Lu et al., 1989; Conner et al., 1992; Nishio et al., 1992; 1994; Saporito and Carswell, 1995). Weiterhin hat eine Vielzahl an Studien den Anstieg inflammatorischer Molekülen einschließlich dem der Neurotrophine nach zentralen Läsionen gezeigt (Übersichten: Martin, 1992; Giulian, 1994; Gall et al., 1997). Neben unspezifischen, durch den operativen Zugang in Folge der Gewebepenetration induzierten, Gewebe- und Zellschädigungen werden neurotrophe Faktoren vor allem von Gliazellen freigesetzt. Für das basale Vorderhirn bzw. den Neokortex wird neben der neuronalen Herkunft (z. B.: Bacia et al., 1992; Lauterborn et al., 1995) vor allem die läsiionsinduzierbare astrozytäre Synthese neurotropher Faktoren einschließlich des NGF diskutiert und diese ist mittels Doppelmarkierungen für NGF und GFAP („glial fibrillary acidic protein“), einem Marker für Astrozyten, speziell nach FFD gezeigt worden (z. B.: Lu et al.,

1989; Bakhit et al., 1991; Rocamora et al., 1992; Oderfeld-Nowak and Bacia, 1994; Arendt et al., 1995; Goss et al., 1998; Übersicht: Kimelberg and Norenberg, 1994).

Die genannten Untersuchungen belegen, daß cholinerge Neurone sowohl unter Kontrollbedingungen als insbesondere nach Läsion lokal mit Zellen Kontakt haben, die NGF synthetisieren können. In eigenen Untersuchungen konnten wir im MSDB von unoperierten Ratten NGF immunzytochemisch ausschließlich in den cholinergen Neuronen nachweisen (vgl. 2.2.). Nach FFD kommt es zum subtotalen Verlust ChAT- bzw. NGF-immunreaktiver Neurone, obwohl eine dramatische Zunahme NGF-immunpositiver Gliazellen beobachtet wurde (**Naumann et al., 1997**). Dieser Befund steht aber in Widerspruch zu allen bisherigen Schlußfolgerungen. Wenn NGF lokal nach Läsion exprimiert wird und, wie in der Entwicklung als auch unter den Bedingungen der exogenen Zufuhr (vgl. 2.2.), sowohl seine Rezeptoren als auch die ChAT positiv reguliert, müßten diese Zellen sowohl ihren cholinergen Phänotyp als auch einen entsprechenden Gehalt an NGF-Protein behalten. In der genannten Untersuchung haben wir deshalb auch die postläsionale Regulation der beiden NGF-Rezeptoren *trkA* und *p75^{NTR}* untersucht. Das überraschende Ergebnis war, daß die cholinergen Neurone zwar nach längeren Überlebenszeiten die ChAT reexprimieren, nicht aber die NGF-Rezeptoren *p75^{NTR}* und *trkA* (**Naumann et al., 1997**). Somit entsteht durch die Axotomie gewissermaßen ein "neuer" cholinerges Phänotyp, der den in Kapitel 2.2. beschriebenen altersbedingten bzw. durch Demenz induzierten Veränderungen dieser Zellen sehr ähnlich ist. Durch die verminderte Expression der NGF-Rezeptoren nach FFD kann der Ligand nicht mehr ausreichend gebunden werden. Die läsionsinduzierte Steigerung der lokalen NGF-Synthese ist offenbar zu gering bzw. zeitlich zu begrenzt, um die Expression der NGF-Rezeptoren auf dem Kontrollniveau zu halten. Es gibt derzeit keine Erklärung dafür, warum die exogene NGF-Zufuhr genau diesen Effekt, wenn auch zeitlich begrenzt, erzielt (vgl. Venero et al., 1994). Insbesondere für cholinerge Neurone liegen jedoch Untersuchungen vor, denen zufolge neuronale Schädigungen sowohl zur anhaltenden Beeinträchtigung der Expression typischer Markerproteine als auch der wichtiger Strukturproteine führen (Koliatsos et al., 1989; Bowe et al., 1992; Weiser et al., 1994; Ginsberg and Martin, 1998). Diese Umstände sowie das Fehlen des ursprünglichen axonalen Zielgebietes führen insgesamt zu einer auf Dauer „reduzierten“ Zellmorphologie, die durch zusätzliches NGF bestenfalls temporär variiert werden kann.

3.5. Entfernung der Zielregion cholinerg septaler Neurone und Mutationen im Neurotrophinsystem: Welche Rolle spielt NGF in der Entwicklung?

Eine Reihe weiterer Untersuchungen mit anderen methodischen Ansätzen stützen die Befunde, nach denen NGF im ZNS weitaus subtilere Wirkungen als im peripheren Nervensystem ausübt. Die komplette exzitatorische Zerstörung der Hippokampusformation bei *adulten* Ratten mit N-methyl-D-aspartat (NMDA) führt zum Totalverlust aller Hippokampusneurone und der durch sie gebildeten Neurotrophine NGF, NT-3 und BDNF. Im MSDB-Komplex wurden danach keine signifikanten Veränderungen bezüglich Zahl und Färbeintensität ChAT-immunoreaktiver Neurone gefunden (Sofroniew et al., 1990; 1993; Kordower et al., 1992). Wir haben mit eigenen Untersuchungen die Entwicklung der septohippokampalen Neurone mit der Methode der in-situ-Hybridisierung untersucht, um die transmitterphänotypische Differenzierung so früh wie möglich zu erfassen. Der Nachweis der ChAT mRNA für cholinerge Neurone im Septum ist bereits zu Beginn der ersten Woche nach der Geburt möglich (Bender et al., 1996; vgl. mit 2.2.). Um herauszufinden, ob die Ausschaltung der hippocampalen Neurotrophine zu diesem frühen Zeitpunkt der Entwicklung einen wesentlichen Einfluß auf die weitere Differenzierung der cholinergen septalen Neurone ausübt, wurde mittels NMDA-Injektionen die Hippokampusformation zerstört. Durch diese Untersuchungen konnten wir zeigen, daß auch die sehr frühe Elimination der hippocampalen Neurotrophine NGF, BDNF und NT-3 die Differenzierung der cholinergen Neurone im MSDB-Komplex nicht verhindert (Bender et al., 1996; **Plaschke et al., 1994**; 1997). Die mäßige Minderung der Zellzahlen, begleitet von z. T. erheblichen Zellschrumpfungen, ist dabei weniger auf das Fehlen der Neurotrophine zurückzuführen, sondern eher die Folge der kompletten Entfernung der Zielstruktur (**Plaschke et al., 1994**; 1997; Cooper et al., 1996) und der damit verbundenen massiven Reduktion des Axonplexus (Goldschmidt and Steward, 1980; Headon et al., 1985).

Diese Daten wurden eindrucksvoll durch Befunde von NGF-knock-out-Mäusen bestätigt, bei denen sich ebenfalls cholinerge Neurone im basalen Vorderhirn nachweisen ließen (Crowley et al., 1994). Diese Tiere sind aufgrund der schweren Defekte des peripheren Nervensystems maximal 4 Wochen lebensfähig, exprimieren aber bis zu diesem Zeitpunkt bereits die ChAT, den p75^{NTR} sowie die mRNA für trkA im gesamten basalen Vorderhirn und im Striatum etwa auf dem Niveau der Wildtypmäuse (Crowley et al.,

1994). Somit ist auch die endogene intraseptale Synthese des NGF für die cholinerge Differenzierung nicht essentiell. Andererseits wurde berichtet (Chen et al., 1997), daß die Deletion eines Allels des NGF-Gens zu einer mäßigen Atrophie der cholinergen Neurone des basalen Vorderhirnes sowie zu Gedächtnisdefiziten führt. Umgekehrt führt die transgene NGF-Überexpression zu leicht erhöhten Zellzahlen ohne dabei das Innervationsmuster in den Zielstrukturen wesentlich zu verändern (Kawaja et al., 1998).

In Analogie zur Deletion des NGF-Genes wurde auch für BDNF^{-/-} Mäuse gezeigt, daß sowohl periphere als auch sensorische neuronale Systeme z. T. schwer alteriert sind und damit die Mutation letal ist. Die Tiere überleben ebenfalls in der Regel die vierte postnatale Woche nicht. Wie bei den NGF^{-/-} Mäusen entwickeln sich aber die zentralen cholinergen Systeme bis zu diesem Zeitpunkt normal (Jones et al., 1994; Erickson et al., 1996). Gleiches gilt für NT-4^{-/-} und BDNF^{-/-}/NT-4^{-/-} knock-out-Mäuse (Conover et al., 1995; Conover and Yancopoulos, 1997), die hauptsächlich in den trigeminalen bzw. vestibulären Systemen beeinträchtigt sind. Bei Deletion des NT-3 sind vor allem periphere sensorische Ganglien schwer betroffen; propriozeptive Neurone fehlen bei diesen Tieren völlig (Ernfors et al., 1994; Fariñas et al., 1995; 1996; Wright et al., 1997).

Parallel zu den Befunden für die Liganden NGF, BDNF und NT-3 sind prinzipiell ähnliche Veränderungen nach Deletionen ihrer hochaffinen Rezeptoren gefunden worden (z. B.: Liebl et al., 1997; Übersicht: Conover and Yancopoulos, 1997). In der kurzen Lebensphase beeinträchtigt das Fehlen des funktionellen trkB-Rezeptors (Klein et al., 1993) bzw. das von trkC (Klein et al., 1994; Silos-Santiago et al., 1997) die Entwicklung des ZNS nicht wesentlich. Für die cholinergen zentralen Projektionen ist aber von einiger Bedeutung, daß die trkA-Mutante eine deutlich reduzierte Innervation der Hippokampusformation bzw. der neokortikalen Zielgebiete zeigt. Das läßt auf eine weitere Funktion des trkA als Mittler der neurotrophen Funktion des NGF im Sinne der axonalen Zielfindung in der frühen Entwicklung schließen (Smeyne et al., 1994; Fagan et al., 1996).

Besonders umstritten ist die Funktion des „low-affinity“-NGF-Rezeptors p75^{NTR}, der alle Neurotrophine binden kann (vgl. mit 2.3.). Viele an kultivierten Zelllinien durchgeführte Untersuchungen deuten darauf hin, daß die Expression des Rezeptors bei gleichzeitigem Fehlen der hochaffinen Tyrosinkinaserzeptoren in der Entwicklung vor allem Zelltod induzieren kann (Rabizadeh et al., 1993; Barrett and Georgiou, 1996; Liepinsh et al., 1997; Casademunt et al., 1999; Übersicht: Huang and Reichardt, 2001). Ähnliche

Befunde wurden dann z. B. für sensorische Neurone (Barrett and Bartlett, 1994; Cheema et al., 1996), sympathische Neurone (Bamji et al., 1998), retinale Ganglienzellen (Frade et al., 1996; Frade and Barde, 1998) und Oligodendrozyten (Casaccia-Bonofil et al., 1996) erhoben. In Einklang damit stehen Untersuchungen an p75^{NTR}-überexprimierenden Mäusen, die sowohl erhebliche neuronale Verluste im peripheren Nervensystem als auch im Kortex und in den motorischen Hirnstammnerven aufzeigten (Majdan et al., 1997). Für die in-vivo-Situation ist aber offenbar entscheidend, in welcher speziellen Entwicklungsphase Neurotrophine in Kontakt mit diesem Rezeptor kommen und ob die Tyrosinkinaserzeptoren koexprimiert werden oder nicht (z. B.: Buck et al., 1987; Barrett and Bartlett, 1994; Rabizadeh and Bredesen, 1994; Canossa et al., 1996; Piñon et al., 1996; Yoon et al., 1998).

In den Originalpublikationen zur p75^{NTR}-Mutation sind zunächst nur sehr diskrete Veränderungen für die periphere Hautinnervation beschrieben worden (Lee et al., 1992; 1994). Wie schwer faßbar die Effekte dieses Rezeptors sind (s. o.), hat sich dann in den Publikationen bezüglich der Projektionen des basalen Vorderhirns gezeigt. Für Wildtyp-Mäuse mit dem genetischen Hintergrund 129/Sv//BALB/c wurden dramatische Zellverluste im Septumkomplex beschrieben. Die entsprechenden p75^{-/-} Mäuse hatten etwa 25% mehr cholinerge Neurone im Medialen Septum (Van der Zee et al., 1996). Eine andere Gruppe kam zu genau gegenteiligen Befunden: die Deletion des p75-Genes führt zu erheblichen neuronalen Zellverlusten, womit für die in-vivo-Situation der postulierte apoptotische Effekt des p75-Rezeptors nicht bestätigt werden konnte (Peterson et al., 1997; 1999). Die erstgenannte Gruppe mußte später ihre Aussagen zurückziehen (Hagg et al., 1997; Hagg, 1999). Gleichzeitig kamen andere Arbeitsgruppen zu dem Schluß, daß die p75-Mutation in den zentralen cholinergen Projektionen zwar zu keinen Zellzahlveränderungen in der Entwicklung führt, wohl aber zu erhöhter Aktivität der ChAT und Hypertrophie der cholinergen Neurone des basalen Vorderhirnes (Yeo et al., 1997; Ward and Hagg, 1999; Greferath et al., 2000). Darüberhinaus wurde berichtet, daß die p75-Mutation eine verstärkte Innervation der allo- und neokortikalen Zielregionen bedingt (Yeo et al., 1997).

Die widersprüchlichen Beobachtungen hinsichtlich des Effektes des p75^{NTR}-Rezeptors haben verschiedene Ursachen. Ein großes Problem hinsichtlich der Aussagekraft der Resultate ist dann gegeben, wenn Untersuchen und Ergebnisse von Mausstämmen mit

unterschiedlichem genetischen Hintergrund verglichen werden (Frankel, 1998). Es ist seit langem bekannt, daß u. a. auch die Expression cholinergere Markerproteine nicht nur bei verschiedenen Mausstämmen unterschiedlich ist, sondern auch innerhalb verschiedener Zuchtlinien eines Stammes variieren kann (z. B.: Tunnicliff et al., 1973; Durkin et al., 1977; Albanese et al., 1985; Virgili et al., 1991; Bentivoglio et al., 1994). Weiterhin wurden die einzelnen Kerngebiete des basalen Vorderhirnes von den oben genannten Arbeitsgruppen nicht einheitlich definiert, so daß die jeweilige Datenaufnahme schon aufgrund allgemeiner morphologischer Variationen verschiedenster Hirnstrukturen bei den Mausstämmen (z. B.: Wahlsten, 1992; Wahlsten and Bulman-Fleming, 1994; Simpson et al., 1997) eine Vergleichbarkeit der Aussagen ausschließt.

Um diese Probleme zu überwinden, haben wir mit quantitativ-stereologischen Untersuchungen zunächst die Effekte der ExonIII-Mutation der extrazellulären Domäne des p75^{NTR}-Rezeptors bezüglich der Entwicklung der cholinergen Neurone des Medialen Septums im ursprünglich publizierten genetischen Hintergrund 129/Sv//BALB/c (Lee et al., 1992; 1994; vgl. Abb. 7) nochmals untersucht. Weiterhin ist mit entsprechenden Tracerexperimenten exakt die rostro-kaudale Ausdehnung des Medialen Septums bestimmt worden, so daß die absoluten Zellzahlen für jedes einzelne Tier unabhängig von der Variabilität der Lage dieses Kerngebietes bestimmt werden konnten. Die Ergebnisse wurden anschließend mit denen von einer neuen Mutation im Exon IV des p75-Rezeptors, welche die extrazellulären Ligandenbindungen komplett verhindert (von Schack et al., 2001; siehe Abb. 7), auf dem gemischten genetischen Hintergrund 129/Sv/BL6 verglichen. Um die Effekte beider Mutationen schließlich direkt vergleichen zu können, wurden beide Mauslinien in einen reinen C57BL/6-Hintergrund rückgekreuzt (**Naumann et al., 2002**).

Zunächst konnte die Abhängigkeit der Zahl der cholinergen Neurone im MS vom genetischen Hintergrund festgestellt werden. Die Zahl dieser Zellen nimmt in den Wildtypen entlang der Rückkreuzung in den BL/6-Hintergrund stetig ab. Die Exon III-Mutation des p75^{NTR} im genetischen Hintergrund 129/Sv//BALB/c führt in der Entwicklung (P15) zu keinen signifikanten Zellveränderungen, d. h. es wurde weder ein protektiver noch ein apoptotischer Effekt des Rezeptors offensichtlich. Erst im C57BL/6-Hintergrund führt diese Mutation zur Erhöhung der Zahl der cholinergen Neurone. Die Exon IV-Mutanten haben, unabhängig vom genetischen Hintergrund, knapp 30% mehr cholinerge Neurone als die Wildtypen und dieser Unterschied wird auf signifikantem Niveau bis in das adulte

Stadium erhalten (**Naumann et al., 2002**). Da es andererseits keinen Hinweis auf erheblichen apoptotischen Zelltod bei diesen Mausstämmen gab, muß die Funktion des $p75^{NTR}$ -Rezeptors darin liegen, daß er innerhalb der cholinergen septohippokampalen Projektion bzw. der cholinergen Projektionen des basalen Vorderhirns die NGF/trkA-Balance moduliert und in der Entwicklung partiell die phänotypische Differenzierung cholinergere Neurone „jenseits“ von Zelltod mitbestimmt. Das steht in Einklang mit Beobachtungen nach denen im cholinergen basalen Vorderhirn die Interaktionen von NGF und trkA dominieren (Ibáñez et al., 1992; Lucidi-Phillipi et al., 1996).

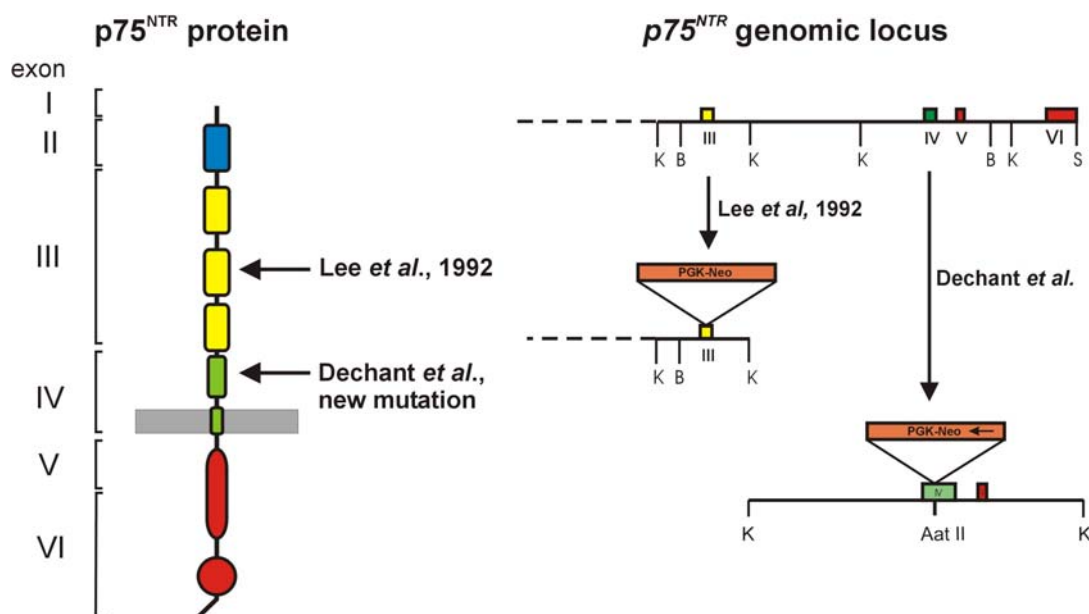


Abb. 7:

In der von Lee et al. (1992) publizierte Mutation des $p75^{NTR}$ im Exon III der extrazellulären Domäne wird die Expression einer splice-Variante dieses Rezeptors (siehe Abb. 4, 1a) nicht beeinträchtigt. Die relativ hohe Expression dieser kurzen Form des $p75$ ($s-p75^{NTR}$) im genetischen Hintergrund 129/Sv//BALB/c nimmt in dem Maße ab, in der die Mutation durch Rückkreuzung in den C57BL/6-Hintergrund überführt wird.

Die Mutation in Exon IV verhindert das alternative splicing, weder der komplette (FL- $p75^{NTR}$) noch die kurze ($s-p75^{NTR}$) Form des Neurotrophinrezeptors werden exprimiert.

Für die vom genetischen Hintergrund unabhängigen Effekte der Exon IV-Mutation auf die Differenzierung der cholinergen Neurone konnte ebenfalls eine interessante Erklärung gefunden werden. Nur bei der Deletion in Exon III wird eine kurze Spliceform des p75^{NTR} (s-p75^{NTR}) in Abhängigkeit vom genetischen Hintergrund exprimiert (von Schack et al., 2001; vgl. Abb. 4, 1a; 7). Mit Zunahme des BL/6-Hintergrundes wird deren Expression zunehmend unterdrückt (Naumann et al., 2002). Das deutet daraufhin, daß besonders im genetischen Hintergrund 129/Sv//BALB/c die Spliceform s-p75^{NTR} das Fehlen der „full-length“-Form partiell kompensiert.

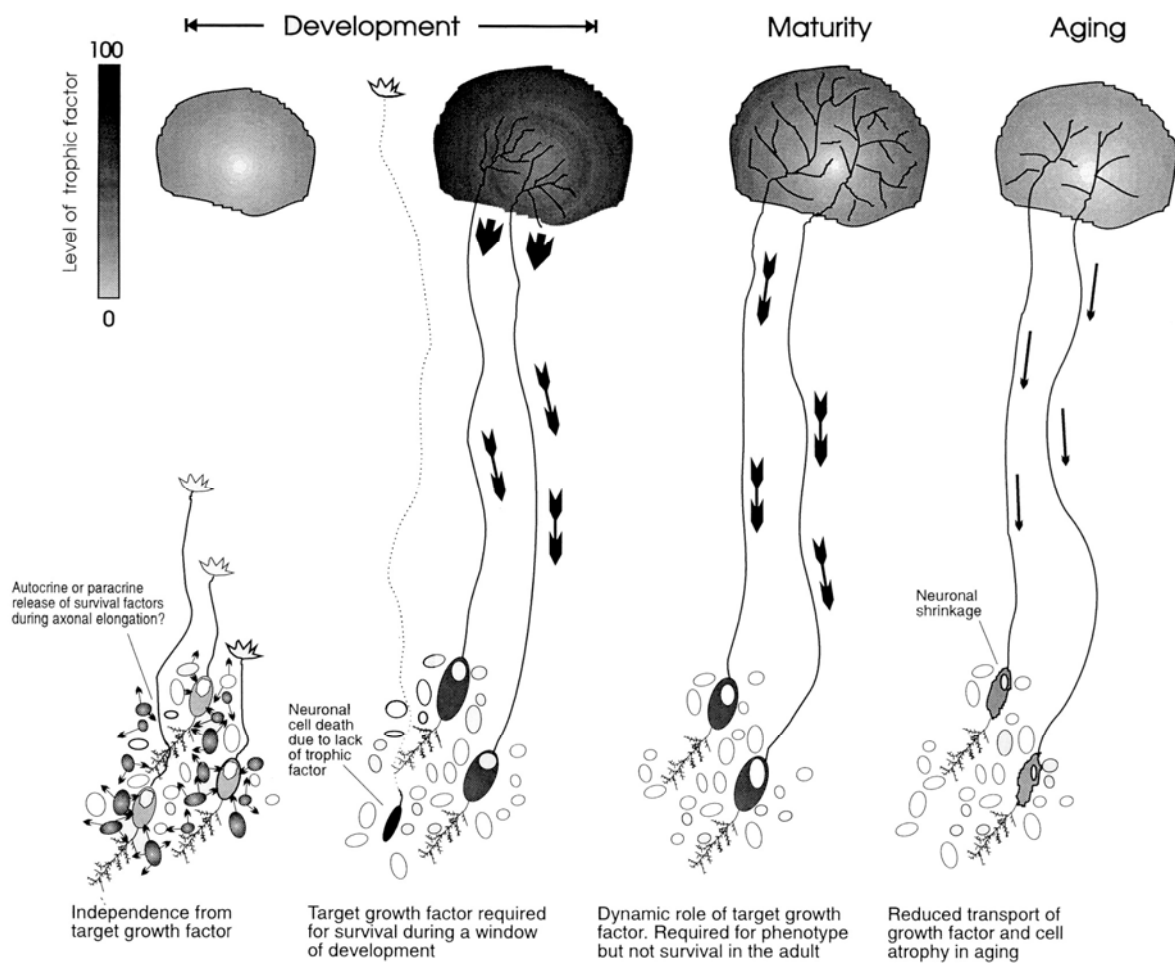
4. DISKUSSION

Neurotrophine spielen in der Entwicklung des Nervengewebes eine entscheidende Rolle hinsichtlich der Entwicklung und Differenzierung neuronaler Systeme und ihrer Bahnverbindungen (z. B.: Headon et al., 1985; Zafra et al., 1990; 1991; da Penha Berzaghi et al., 1993; Escandón et al., 1994; Marty et al., 1996; 1997; Fagan et al., 1997; McAllister et al., 1999; Patel et al., 2000; DeFreutas et al., 2001; Rossi et al., 2002; Zagrebelsky et al., 2005; Singh et al., 2006). Während sie diesbezüglich für verschiedenste neuronale Populationen des PNS eine primäre Funktion als Überlebensfaktor besitzen, ist diese Bedeutung beispielsweise für die großen zentralen cholinergen Projektionen nicht belegt. In der frühen Entwicklung cholinergischer Neurone des basalen Vorderhirnes, in der diese Zellen noch keinen Kontakt zum Zielgebiet haben, regulieren lokal gebildeter NGF und BDNF über autokrine und / oder parakrine Mechanismen u. a. den Zellzyklus und den Stoffwechsel der abhängigen Zellen (z. B.: Rudkin et al., 1989; Urdiales et al., 1998; Barnabé-Heider and Miller, 2003; Burkhalter et al., 2003). Für das Auswachsen der Neuriten und deren Elongation in Richtung Zielgebiet ist die Expression der Neurotrophin-Rezeptoren von erheblicher Bedeutung; veränderte Expressionsmuster bzw. Mutationen führen zu veränderten Innervationsmustern in den kortikalen Zielgebieten (z. B.: Campenot, 1977; Smeyne et al., 1994; Fagan et al., 1997; Yeo et al., 1997; Tucker et al., 2001; Dechant and Barde, 2002). Die lokal gebildeten Neurotrophine scheinen jedoch nicht auszureichen, um die „cholinergen“ Neurone mit herkömmlichen Methoden, z. B. der Immunzytochemie oder der in-situ-Hybridisierung, auch als solche eindeutig detektieren zu können. Erst nach dem Einwachsen der Axone in die kortikalen Zielstrukturen

führen die Interaktionen der Axonendigungen mit den Zielzellen über die Etablierung der synaptischen Verbindung zur aktivitätsabhängigen Steigerung der Neurotrophinbildung im Zielgebiet (z. B.: Thoenen, 1995; Canossa et al., 1997; Poo, 2001; Zhang and Poo, 2001; Wardle and Poo, 2003; Singh et al., 2006). Die Internalisierung des Neurotrophin-Rezeptorkomplexes in die Axonendigungen und dessen retrograder Transport zu den Somata ist dann der Ausgangspunkt für die weitere Differenzierung der cholinergen Neurone des basalen Vorderhirnes, die dann auch phänotypisch nachweisbar werden (vgl. 2.2., 2.3.). Die Reifung dieser Neurone führt zur weiteren Steigerung der synaptischen Aktivität im Zielgebiet und damit auch zu stetig steigender Neurotrophinsynthese. In den ersten Wochen nach der Geburt ist das Expressionsniveau des NGF in den verschiedenen Rinden des Kortex am höchsten und liegt weit über dem der lokalen Synthese im basalen Vorderhirn. Die Markerenzyme ChAT und Acetylcholinesterase, die Expression beider NGF-Rezeptoren, die Zellgröße sowie der Grad der axonalen Kollateralisation im Zielgebiet werden in der Entwicklung von NGF direkt reguliert. Innerhalb dieser Projektionen ist die Rolle des BDNF noch nicht abschließend zu beurteilen; cholinerge Neurone exprimieren vermutlich nicht *trkB*. Jedoch deuten viele Untersuchungen darauf hin, daß diese Neurone mit BDNF stimulierbar sind. Die geringe Wirkung verglichen mit NGF könnte mit der Bindung am niedrigaffinen $p75^{NTR}$ erklärt werden. Es ist aber gezeigt worden, daß die cholinerge Transmission die BDNF-Synthese im Hippokampus triggert und über möglicherweise parakrine Mechanismen die Differenzierung GABAerger Interneurone beeinflusst (Marty et al., 1996).

Innerhalb der Phase der Etablierung der cholinergen Projektionen scheinen Störungen der zielgebietsabhängigen Neurotrophinsynthese zu Zellverlusten im basalen Vorderhirn zu führen (Burke et al., 1994; **Plaschke et al., 1994**; 1997; Cooper et al., 1996). Ob die verminderten Zellzahlen ursächlich durch Zelltod bedingt sind oder die Neurone auf einer frühen Differenzierungsstufe arretiert sind, ist nicht bekannt. Quantitative Angaben zur Zahl der cholinergen Neurone in NGF-defizienten Mäuse wurden nicht gemacht (Crowley et al., 1994).

Die Projektionen des basalen Vorderhirnes sind 3 - 4 Wochen nach der Geburt weitgehend etabliert. Danach werden alle Marker für cholinerge Neurone auf ein niedrigeres Niveau herunterreguliert (vgl. 2.2). Die endgültige Ausreifung der cholinergen Bahnverbindungen geht einher mit der Beobachtung, daß die Projektionsneurone dann deutlich weniger von den zielgebietsvermittelten Neurotrophinen abhängig sind. Die Un-



aus: Svendsent and Sofroniew (1996), *Perspectives on Developmental Neurobiology* 3: 133-142

Abb. 8:

Der Einfluß zeilgebietsvermittelter neurotropher Faktoren auf die Morphologie abhängiger zentraler Neuronen ist in den verschiedenen Phasen des Lebens unterschiedlich.

terbrechung der Verbindung zum Zielgebiet (Axotomie, exzitatorische Elimination der Hippokampusformation) führt bei Ratten bzw. Mäusen vor allem zur Reduktion der Zellgrößen, nicht jedoch zu Zelltod (vgl. 3.2., 3.5.; Van der Zee and Hagg, 2002; Übersicht: Svendsen and Sofroniew, 1996; vgl. Abb. 8). Diese Veränderungen ähneln auffällig denen, die für Neurone des Nucleus basalis magnocellularis (Meynert) bei alten Ratten bzw. beim alten Menschen beschrieben wurden und unter den Bedingungen des Fortschreitens der Alzheimerschen Erkrankung verstärkt werden. Den genannten pathologischen Zuständen gemeinsam ist die Atrophie der cholinergen Neurone mit redu-

zierter dendritischer und axonaler Verzweigung, verminderter Syntheseleistung der Transmitter-spezifischen Enzyme (auf Einzelzellniveau: Han et al., 2002) sowie geringerer Expression der NGF-Rezeptoren. Befunde, die für eine normale Neurotrophin-synthese in den kortikalen Zielgebieten der cholinergen Neurone unter den Bedingungen des fortgeschrittenen Alters bzw. bei der Alzheimerschen Erkrankung sprechen (Goedert et al., 1989; Hellweg et al., 1990; Alberch et al., 1991), würden den morphologischen Veränderungen und den kognitiven Beeinträchtigungen primär eine Erkrankung der cholinergen Systeme („cholinerge Hypothese“, vgl. 1.; Übersicht: Kasa et al., 1997; Mufson et al., 2002) zugrunde legen. Jedoch gibt es auch gegenteilige Aussagen (z. B.: Crutcher and Weingartner, 1991; Fröhlich, 2002), die besser mit dem Verlauf der altersbedingten Veränderungen bzw. der Pathogenese des Morbus Alzheimer übereinstimmen. Die primäre Schädigung der Pyramiden der allo- und paläokortikalen Übergangsrinden (Übersicht: Braak and Braak, 1991) und die zunehmende Ausbreitung des degenerativen Prozesses auch auf neokortikale Rinden würde dann im Sinne des Verlustes ihrer Zielgebiete die cholinergen Neurone des basalen Vorderhirnes infolge retrograder Degeneration sekundär schädigen. Da cholinerge Projektionsneurone in ähnlicher Weise wie beispielsweise Ganglienzellen der Hinterwurzeln zu den Populationen gehören, die während der Reifung und des Alterns sowohl zunehmend ihre Abhängigkeit vom zielgebietsvermittelten NGF einbüßen als auch aus unbekanntem Gründen eine zunehmende Limitierung des retrograden Transportes zeigen (Cooper et al., 1994; Übersicht: Svendsen and Sofroniew, 1996), muß bei der Entwicklung der Alzheimerschen Demenz von einer Parallelität beider Prozesse ausgegangen werden. Besonders bei dieser dritten Möglichkeit könnte die Zufuhr von NGF, zumindest vorübergehend, eine sinnvolle therapeutische Strategie sein (vgl. 2.4).

Mit dem Läsionsmodell Fimbria-Fornix-Durchtrennung kann für cholinerge Neurone des Medialen Septums beispielhaft der morphologische Zustand simuliert werden (vgl. **Naumann et al., 1992b; 1994a; 1997**), wie er in leichterer Form in den Neuronen des Meynert-Kerngebietes sowohl während des Alterns bei Mensch und Tier als auch bei der Entwicklung der Alzheimerschen Demenz auftritt. Im Tierexperiment war es möglich, mittels Applikation des hier relevanten Nervenwachstumsfaktors die läsionsinduzierten Veränderungen zumindest für die Dauer der Behandlung zum großen Teil aufzuhalten (vgl. 3.2., 3.3.; **Naumann et al., 1992a; b; 1994b**). Insgesamt haben sich jedoch bis jetzt die Hoffnungen und Zielvorstellungen bezüglich des klinisch - therapeutischen Einsatzes

Table 1. Clinical trials with neurotrophins, CNTF and IGF.

	Disease	Type of trial	n	Application, dose	Result	Side effects
CNTF ^a ref. 39	ALS	Phase 1, placebo controlled, 2 weeks	57 patients plus 18 patients on placebo	Subcutaneous, 0.5–30 µg/kg, 3 injections per week	Safe, tolerated within acceptable limits, indications for efficacy	Fever, fatigue, cough, weight loss
CNTF ^b	ALS	Phase 1, placebo controlled, 4 weeks	43 patients in treatment and placebo groups	Subcutaneous, 2–200 µg/kg daily	Safe, tolerated within acceptable limits	Fever, HSV-1 stomatitis, diarrhea, fatigue, cough, weight loss
CNTF ref. 40	ALS	Phase 2–3, placebo controlled, 6 months	570 patients	Subcutaneous, 0.5–5 µg/kg daily	No beneficial effects, increased adverse events in the 5 µg/kg group, increased deaths	Injection site reactions, cough, asthenia, nausea, anorexia, weight loss, increased salivation
CNTF ref. 41	ALS	Phase 2–3, placebo controlled, 9 months	730 patients	Subcutaneous, 15–30 µg/kg, 3 times a week	No beneficial effects	anorexia, weight loss, cough
CNTF ref. 42	ALS	Phase 1, open label	6 patients	Cell capsules, intrathecal, approximately 0.5 µg/day	Safe, motor performance did not improve	Headache, radicular pain
CNTF ref. 43	ALS	Phase 1, open label, 48 h per week, 2-week cycles	4 patients	Intrathecal delivery with pumps, 0.4–8 µg/h	Tolerable side effects	Rise in lymphocyte numbers and protein levels in CSF; headache, radicular pain
CNTF ref. 44	M. Huntington	Phase 1	6 patients	Cell capsules implanted into the lateral ventricle	?	?
NGF ref. 45	M. Alzheimer	Phase 1, up to 3 months	3 patients	0.55–6.6 mg in total, infused into the lateral cerebral ventricle	No cognitive improvement, changes in EEG, increased nicotine binding in several brain areas	Back pain, weight loss
NGF ref. 46	Diabetic neuropathy	Phase 1–2, placebo controlled, 6 months	250 patients	Subcutaneous, 0.3 µg/kg, 3 times a week	Preliminary evidence for efficacy, well tolerated	Injection site pain
NGF ref. 47	Diabetic neuropathy	Phase 3, placebo controlled, double blind, 48 weeks	505 patients NGF treated, 515 patients in placebo group	Subcutaneous 0.1 µg/kg, 3 times a week	No clinical benefit	Minor side effects, injection site pain
NGF ref. 48	HIV neuropathy	Phase 2, placebo controlled, 18 weeks	270 patients	Subcutaneous, 0.1–0.3 µg/kg, twice a week	Significant improvements in neuropathic pain	Injection site pain
NGF ref. 49	HIV neuropathy	Phase 2, open label follow-up study, 48 weeks	200 patients	Subcutaneous, 0.1–0.3 µg/kg, twice a week	Well tolerated, improvement in pain symptoms, no improvement of neuropathy severity	Injection site pain
BDNF ^c	ALS	Phase 1–2, 6 months	224 patients with BDNF, 59 patients with placebo	Subcutaneous, 10–300 µg/kg, daily	Safe, tolerable, less deterioration in forced vital capacity and walking speed	Injection site reactions, bowel urgency, diarrhea
BDNF ref. 50	ALS	Phase 2–3, placebo controlled, 9 months	748 patients with BDNF, 387 patients with placebo	Subcutaneous, 25–100 µg/kg	No significant effect, subgroup of patients with early respiratory impairment and those developing altered bowel function showed statistically significant benefit	Injection site reactions, diarrhea, bowel urgency, generally mild or moderate
BDNF ref. 51	ALS	Phase 1–2, placebo controlled, double blind, 12 weeks	25 patients	Intrathecal, continuous pump delivery, 25–1000 µg/day	Well tolerated at 150 µg/day or lower	Paraesthesias, sleep disturbance, dry mouth, agitation at higher doses
BDNF unpublished	ALS	Phase 2–3, placebo controlled, double blind	250 patients	Intrathecal	No clinical benefit	Paraesthesias, sleep disturbance
BDNF ref. 52	Diabetic neuropathy	Phase 1–2, placebo controlled, double blind, 3 months	21 patients with BDNF treatment, 9 patients with placebo	Subcutaneous, daily, 100 µg/kg	No measurable beneficial effect, safe, tolerable	Non painful injection-site reactions
NT-3 ref. 53	Healthy subjects, diabetic neuropathy, chemotherapy-induced neuropathy	Phase 1, placebo controlled, double blind, 7 days	49 healthy subjects treated with NT-3 and 21 with placebo, no published report on patient studies	Subcutaneous, daily, 3–500 µg/kg/day	Tolerable side effects, patient studies discontinued in 1997	Diarrhea, injection site pain, rise in SGOT and SGPT
IGF-1 ref. 54	ALS	Phase 2–3, placebo controlled, double blind, 9 months	176 patients with IGF-1, 90 patients with placebo	Subcutaneous, 50 or 100 µg/kg/day	Trend to functional improvement	Injection site pain, no major side effects
IGF-1 ref. 55	ALS	Phase 2–3, placebo controlled, double blind, 9 months	124 patients with IGF-1, 59 patients with placebo	Subcutaneous, 100 µg/kg/day	No significant clinical improvement	Injection site pain

Papers cited in this table are listed in the main reference list. Abstracts are listed below.

^a ALS CNTF Treatment Study group (ACTS) *Neurology* **43**, A416 (1993)

^b R.G. Miller *et al. Ann. Neurol.* **34**, 304 (1993)

^c W.G. Bradley *et al. Ann. Neurol.* **38**, 971 (1995)

von Neurotrophinen bzw. Zytokinen nicht erfüllt (Thoenen and Sendtner, 2002; Zusammenfassung siehe Tab. 1). Bei Ratten und Mäusen überdauern die Effekte der Behandlung mit diesen Molekülen nicht den Behandlungszeitraum (vgl. 3.2.); die dauerhafte Implantation von z. B. Minipumpensystemen ist praktisch nicht durchführbar. Um die resultierenden limitierten Effekte zu optimieren, geht man inzwischen dazu über, elegantere Applikationsformen, z. T. unter Ausnutzung endogener Syntheseleistungen des Gehirns bei inflammatorischen Zuständen (vgl.: Butzkueven et al., 2002; Linker et al., 2002; Naumann et al., 2003), zu entwickeln. Zu diesen Strategien gehören u. a. das Implantieren von entsprechend modifizierten Zelllinien und Gen-Transfer sowie das Ausnutzen vorhandener Transportmechanismen an den Zellmembranen (z. B.: Friden et al., 1993; Martinez-Serrano et al., 1995; 1996; Bäckman et al., 1997; Dickinson-Anson et al., 2003).

Unabhängig von den gemachten Überlegungen ist bisher nicht entschieden, ob und wie im Alterungsprozeß befindliche bzw. läsionsgeschädigte zentrale Neurone für die Rekonstruktion ihrer ursprünglichen Bahnverbindungen als bereits existierender Pool genutzt werden können. Man geht im allgemeinen davon aus, daß sowohl das normale Umgebungsmilieu als auch intrinsische Faktoren der Neurone langes Axonwachstum im ZNS adulter Vertebraten verhindern (z. B.: Li et al., 1995; Davies et al., 1996; Übersichten: Oorschot and Jones, 1990; Goldberg and Barres, 2000; Sofroniew et al., 2001). Prinzipiell ist beispielweise für den Nervus opticus (z. B. Thanos et al., 1993; 1997; Thanos 1997) oder den Nervus facialis (z. B. Popratiloff et al., 2001; Guntinas-Lichius et al., 2002) bereits gezeigt worden, daß unter bestimmten Bedingungen (operative Rekonstruktion der Bahnverbindungen, Behandlung mit protektiven Molekülen oder Hemmung inhibitorischer Komponenten im Traktverlauf, Implantation von embryonalem Gewebe oder permissiver olfaktorischer Glia) axonale Projektionen zumindest teilweise rekonstruiert werden können. Jedoch ist die Datenlage bezüglich spinaler Bahnen oder der septohippokampalen Projektion widersprüchlich. Inwieweit beispielsweise die für Faserwachstum hemmenden Myelinkomponenten langer Projektionsbahnen bei regenerativen Prozesse ausgeschaltet werden können (z. B.: Cadelli and Schwab, 1991; Bartsch et al., 1995; Brösamle et al., 2000; Schwab, 2002; Emerick et al., 2003), ob experimentelle Veränderungen der gliösen Umgebung (z. B.: Li and Raisman, 1997; Li et al., 1997; 1998) bzw. von Glianarben und Basalmembranen (z. B.: Stichel and Müller, 1998; Stichel et al., 1999) oder das Ausnutzen der Wachstumspotenz junger Nervenzellen unter

den Bedingungen der Transplantation (z. B.: Li and Raisman, 1993; Woodhams et al., 1993; Hagg et al., 1994; Li et al., 1994; 1996; Leanza et al., 1996; Davies et al., 1997; Field et al., 1997) zu besseren Ergebnissen führen, ist offen. Aufgrund bisher gemachter Beobachtungen kann man jedoch davon ausgehen, daß die Regenerationsfähigkeit "alter" zentraler Neurone begrenzt ist (z. B.: Koliatsos et al., 1989; Bowe et al., 1992; Weiser et al., 1994; Ginsberg and Martin, 1998).

Entsprechend dem neueren Schrifttum stellt sich heute jedoch nicht mehr ausschließlich die Frage nach der Plastizität der bereits vorhandenen Nervenzellen. Adulte Neurogenese könnte eine alternative Quelle für Zellersatz sein, zumal sie, bezogen auf die septohippokampalen Projektionsneurone, subventrikulär im direkt benachbarten Kerngebiet des Lateralen Septums bereits unter Kontrollbedingungen in erheblichem Maße nachgewiesen werden kann (Übersichten: Gould et al., 1999; Magavi et al., 2000; Shimazaki et al., 2001; Gage, 2002; Gould and Gross, 2002; Nottebohm, 2002; Rakic, 2002; van Praag et al., 2002). In ersten eigenen Untersuchungen konnte beobachtet werden, daß in adulten Ratten Nervenzellen nicht nur in der Subventrikularzone entstehen, sondern auch innerhalb des MSDB-Komplexes gebildet werden. Sowohl die Axotomie der Fimbriaprojektionen als auch die immuntoxische Schädigung der cholinergen Projektionsneurone (**Häge et al., 1996**) führen zur erheblichen Steigerung der Neurogenese und es

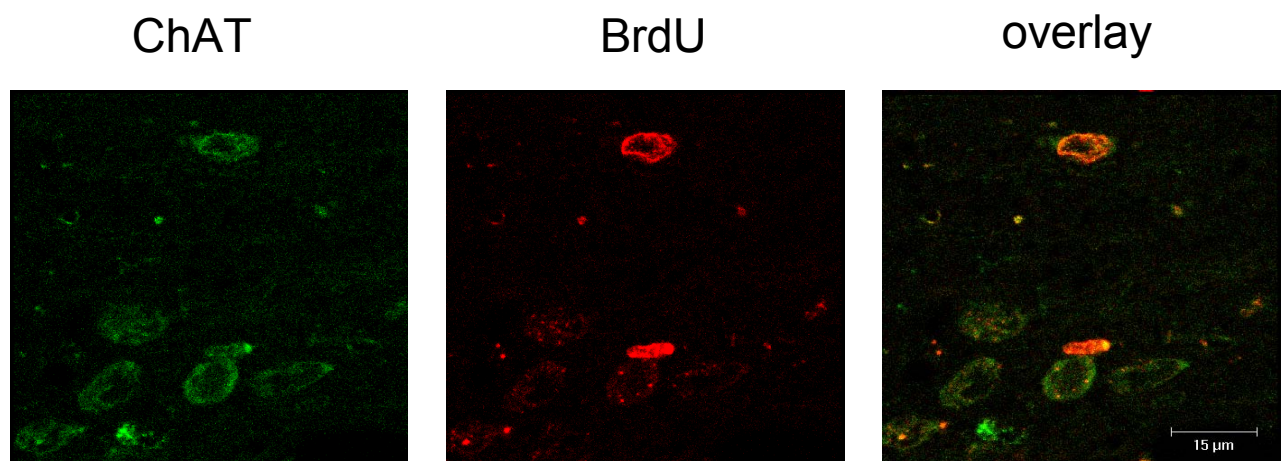


Abb. 9:

Nach Läsion der septohippokampalen Projektion in adulten Ratten ist die Neurogenese cholinergischer Neurone in den Kerngebieten des Medialen Septums und des Diagonalen Bandes erhöht. Mittels Immunfluoreszenz wurden cholinerge Neurone mit Antikörpern gegen ChAT gefärbt (links) und das in der S-Phase inkorporierte BrdU in neugebildeten Neuronen markiert (Mitte). Die Doppelmarkierung zweier Neuronen (rechts) zeigt, daß diese postläsional gebildet wurden.

gelang der Nachweis, daß sich sowohl cholinerge als auch GABAerge Neurone in diesen Kernen neu differenzieren (siehe Abb. 9).

Daß geschädigte zentrale Neurone des adulten ZNS durch solche ersetzt werden können, die posttraumatisch neu gebildet wurden, ist inzwischen belegt worden (z. B.: Arvidsson et al., 2002; Nakatomi et al., 2002). Weitere Untersuchungen müssen aber erst noch zeigen, ob die Proliferation und Differenzierung septaler Neurone ausreichend ist, um die durch Schädigungen induzierten Zellatrophien bzw. Zelluntergänge zu kompensieren. Es liegen aber bereits Ergebnisse dazu vor, welche Faktoren die Differenzierung der Neurone in der Entwicklung beeinflussen und welche Kulturbedingungen erfüllt werden müssen, um beispielsweise die Entwicklung adulter Vorläuferzellen hin zum cholinergen Neuron zu richten (z. B.: Shimamura and Rubenstein, 1997; Bartlett et al., 1998; Hatanaka and Jones, 1998; Ba-Charvet et al., 1999; Doering and Snyder, 2000; Lopez-Coviella et al., 2000; Wichterle et al., 2002; Wu et al., 2002).

5. Zusammenfassung

Neurotrophe Faktoren (NGF, BDNF, NT-3) spielen eine wesentliche Rolle in der Entwicklung des peripheren und zentralen Nervensystems. Es konnte durch knock-out-Mäuse gezeigt werden, daß genetische Manipulationen in diesen Molekülen bzw. ihren Rezeptoren zu ausgeprägten Veränderungen in einer Vielzahl an Geweben und Organen führen, die mit dem Leben nicht mehr vereinbar sind. Die dramatische Reduktion der Zahl der Neurone v. a. in den peripheren Ganglien ist begleitet von einer entsprechend unzureichenden Anbindung dieser Strukturen an das zentrale Nervensystem sowie einer gestörten Innervation der abhängigen Organe bzw. Organsysteme. Für das Neurotrophin „nerve growth factor“ konnte konkret gezeigt werden, daß seine Expression u. a. für die Differenzierung und das Überleben von etwa 70% der Neurone der sensiblen Hinterwurzelganglien essentiell ist.

Ähnliche Abhängigkeiten wurden zunächst im zentralen Nervensystem nicht gefunden; die entsprechenden katecholaminergen Projektionssysteme entwickeln sich auch in Abwesenheit von NGF weitgehend normal. Überraschenderweise gelang jedoch der Nachweis, daß NGF in erheblichem Maße in den cholinergen Projektionssystemen des Medialen Septums, des Diagonalen Bandes (Broca) sowie denen des Meynert-Kerngebietes transportiert wird. Im Zielgebiet dieser Strukturen, der kortikalen Rinde, wurden auf zellulärer Ebene GABAerge Neurone als NGF-synthetisierende Zellen identifiziert. Eine Vielzahl an Untersuchungen hat belegt, daß (1) die Durchtrennung des Fimbria-Fornix-Systems, d. h. der spezifischen Verbindung der cholinergen Neurone des Medialen Septums mit der Hippokampusformation, zum Verlust dieser Zellen führt und (2), die exogene Zufuhr von NGF diese degenerativen Prozesse verhindert. In Analogie zum peripheren Nervensystem konnte somit die „Neurotrophe Hypothese“ auch auf die NGF-abhängigen zentralen cholinergen Neurone ausgedehnt werden.

Diese Befunde legen nahe, daß es für eine wesentliche neuronale Population des ZNS möglicherweise ein Behandlungskonzept für den Fall ihrer Schädigung (z. B. bei der Alzheimerschen Erkrankung) gibt. Die Daten erklärten allerdings nicht, warum beispielsweise die Behandlung der cholinergen Neurone des basalen Vorderhirns mit exogenem NGF in der postläsionalen Phase nicht zur dauerhaften Protektion dieser Zellen führt. Weiterhin war nicht logisch erklärbar, weshalb beim Verlust der cholinergen Neurone des Medialen Septums die Aktivität ihres Markerenzym, der Azetylcholintransferase, nicht nur konstant bleibt, sondern nach Läsion sogar noch ansteigt.

Entsprechend dem Titel der vorliegenden Habilitationsschrift wurden diese Fragen sowie Folgeprobleme in Sinne „Wie reagieren zentrale cholinerge Neurone auf Schädigung wirklich?“ bearbeitet. Es konnten folgende wesentliche Befunde erhoben werden:

- Die Axotomie der cholinergen Neurone des MS führt nicht zu deren Zelltod. Die überwiegende Mehrheit der septohippokampalen Projektionsneurone (cholinerge und GABAerge) überlebt den Eingriff, reguliert aber die Synthese funktioneller Proteine (ChAT, PARV) postläsional herunter. Das erklärt den „Verlust“ dieser Zellen bei der Anwendung von z. B. immunzytochemischen Nachweismethoden.
- Septohippokampale Neurone besitzen ein erhebliches Maß an Plastizität. Sie sind in der Lage, die vorübergehend verlorene Fähigkeit zur Synthese ihrer Markerproteine wiederzuerlangen. Die lokale axonale Umorganisation der geschädigten Zellen im MS sowie die Resynthese der Markerenzyme erklären die hohen postläsionalen Enzymaktivitäten.
- Axotomierte cholinerge Neurone des MS sind jedoch nicht in der Lage, in ähnlicher Weise die Rezeptoren für NGF ($p75^{NTR}$, trkA) zu reexprimieren. Das erklärt, warum die Effekte der exogenen NGF-Behandlung zeitlich limitiert sind.
- Wird in der frühen postnatalen Entwicklung die Zielstruktur der septohippokampalen Neurone, der Hippokampus, entfernt, so wird die Differenzierung der MS-Neurone mäßig beeinträchtigt. In Einklang mit Befunden, die von anderen Arbeitsgruppen bei knock-out-Mäusen erhoben wurden, ist der Nervenwachstumsfaktor eher als ein die Entwicklung modulierender den als „Überlebensfaktor“ anzusehen.
- Der niedrigaffine NGF-Rezeptor $p75^{NTR}$ wurde zumeist als Bindungsstelle mit proapoptotischer Wirkung aufgefaßt. Zumindest für das hier vorgestellte Modellsystem kann diese Bedeutung nicht bestätigt werden. Die Expression des Rezeptors modifiziert (wie sein Ligand NGF) die Differenzierung des cholinergen Phänotyps der Neurone im basalen Vorderhirn erheblich, nicht aber deren Zellzahl.

6. Abkürzungen

ACHE	Acetylcholinesterase
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
bFGF	basic fibroblast growth factor
BrdU	5-bromodeoxyuridine
ChAT	Cholinacetyltransferase
CNTF	ciliary neurotrophic factor
DB	Diagonales Band (Broca)
FFD	Fimbria-Fornix-Durchtrennung
FFS	Fimbria-Fornix-System
GAP-43	growth-associated protein-43
G-CSF	granulocyte colony stimulating factor
GFAP	glial fibrillary acidic protein
IL-6	interleukin 6
LIF	leukemia inhibitory factor
LS	Laterales Septum
mRNA	messenger ribonucleic acid
MS	Mediales Septum
NGF	nerve growth factor
NMDA	N-methyl-D-aspartat
NT-3	neurotrophin-3
NT-4/5	neurotrophin-4/5
NT-6	neurotrophin-6
OCM	oncostatin M
PNS	Peripheres Nervensystem
ZNS	Zentrales Nervensystem

7. Zitierte Literatur

- Adler R, Landa KB, Manthorpe M, Varon S (1979) Cholinergic neuronotrophic factors : intraocular distribution of trophic activity for ciliary neurons. *Science* 204:1434-1436.
- Aigner L, Arber S, Kapfhammer JP, Laux T, Schneider C, Botteri F, Brenner HR, Caroni P (1995) Overexpression of the neural growth-associated protein GAP-43 induces nerve sprouting in the adult nervous system of transgenic mice. *Cell* 83:269-278.
- Albanese A, Gozzo S, Iacopino C, Altavista MC (1985) Strain-dependent variations in the number of forebrain cholinergic neurons. *Brain Res* 334:380-384.
- Alderson RF, Wiegand SJ, Anderson KD, Cai N, Cho J-Y, Lindsay RM, Altar CA (1996) Neurotrophin-4/5 maintains the cholinergic phenotype of axotomized septal neurons. *Eur J Neurosci* 8:282-290.
- Alberch J, Perez-Navaro E, Arenas E, Marsal J (1991) Involvement of nerve growth factor and its reception in the regulation of the cholinergic function in aged rats. *J Neurochem* 57:1483-1487.
- Altar CA, Burton LE, Bennett GL, Dugich-Djordjevic (1991) Recombinant human nerve growth factor is biologically active and labels novel high-affinity binding sites in rat brain. *PNAS* 88:281-285.
- Altar CA, Siuciak JA, Wright P, Ip NY, Lindsay RM, Wiegand SJ (1994) In situ hybridization of trkB and trkC receptor mRNA in rat forebrain and association with high-affinity binding of (¹²⁵)BDNF, (¹²⁵)NT-4/5 and (¹²⁵)NT-3. *Eur J Neurosci* 6:1389-1405.
- Amaral DG, Kurz J (1985) An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat. *J Comp Neurol* 240:37-59.
- Anderson KJ, Dam D, Lee S, Cotman CW (1988) Basic fibroblast growth factor prevents death of lesioned cholinergic neurons in vivo. *Nature* 332:360-361.
- Ang Jr ESBC, Haydar TF, Gluncic V, Rakic P (2003) Four-dimensional migratory coordinates of GABAergic interneurons in the developing mouse cortex. *J Neurosci* 23:5805-5815.
- Angelov DN, Gunkel A, Stennert E, Neiss WF (1995) Phagocytic microglia during delayed neuronal loss in the facial nucleus of the rat: time course of the neuronofugal migration of brain macrophages. *Glia* 13:113-129.
- Arendt T, Brückner MK, Krell T, Pagliusi S, Kruska L, Heumann R (1995) Degeneration of rat cholinergic basal forebrain neurons and reactive changes in nerve growth factor expression after chronic neurotoxic injury. II. Reactive expression of nerve growth factor gene in astrocytes. *Neurosci* 65:647-659.
- Armstrong DM, Bruce G, Hersh LB, Gage FH (1987) Development of cholinergic neurons in the septal / diagonal band complex of the rat. *Dev Brain Res* 36:249-256.

- Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O (2002) Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nature Neurosci* (published online).
- Auburger G, Heumann R, Hellweg R, Korsching S, Thoenen H (1987) Developmental changes of nerve growth factor and its mRNA in the rat hippocampus: comparison with choline acetyltransferase. *Dev Biol* 120:322-328.
- Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R (2002) Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to beta-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Prog Neurobiol* 68:209-245.
- Auld DS, Mennicken F, Day JC, Quirion R (2001) Neurotrophins differentially enhance acetylcholine release, acetylcholine content and choline acetyltransferase activity in basal forebrain neurons. *J Neurochem* 77:253-262.
- Ba-Charvet KTN, Brose K, Marillat V, Kidd T, Goodman CS, Tessier-Lavigne M, Sotelo C, Chédotal A (1999) Slit2-mediated chemorepulsion and collapse of developing forebrain axons. *Neuron* 22:463-473.
- Bacia A, Aloe L, Fusco M, Vantini G, Leon A, Oderfeld-Nowak B (1992) Cellular localization of nerve growth factor-like immunoreactivity in hippocampus and septum of adult rat brain. *Acta Neurobiol Exp* 52:1-7.
- Bäckman C, Rose GM, Bartus RT, Hoffer BJ, Mufson EJ, Granholm A-C (1997) Carrier mediated delivery of NGF: alterations in basal forebrain neurons in aged rats revealed using antibodies against low and high affinity NGF receptors. *J Comp Neurol* 387:1-11.
- Bäckman C, Rose GM, Hoffer BJ, Henry MA, Bartus RT, Friden P, Granholm A-C (1996) Systematic administration of a nerve growth factor conjugate reverses age-related cognitive dysfunction and prevents cholinergic neuron atrophy. *J Neurosci* 16:5437-5442.
- Bakhit C, Armanini M, Bennett L, Wong WLT, Hansen SE, Taylor R (1991) Increase in glia-derived nerve growth factor following destruction of hippocampal neurons. *Brain Res* 560:76-83.
- Bamji SX, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, Kohn J, Causing CG, Miller FD (1998) The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death. *J Cell Biol* 140:911-923.
- Banner LR, Moayeri NN, Patterson PH (1997) Leukemia inhibitory factor is expressed in astrocytes following cortical brain injury. *Exp Neurol* 147:1-9.
- Barbin G, Manthorpe M, Varon S (1984) Purification of the chick eye ciliary neurotrophic factor. *J Neurochem* 43:1468-1478.
- Barde Y-A (1989) Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 2:1525-1535.
- Barnabé-Heider F, Miller FD (2003) Endogenous produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways. *J Neurosci* 23:5149-5160.

- Barrett GL, Georgiou A (1996) The low-affinity nerve growth factor receptor p75(NGFR) mediates death of PC12 cells after nerve growth factor withdrawal. *J Neurosci Res* 45:117-128.
- Barrett GL, Bartlett PF (1994) The p75 nerve growth factor receptor mediates survival or death on the stage of sensory neuron development. *PNAS* 91:6501-6505.
- Bartlett PF, Brooker GJ, Faux CH, Dutton R, Murphy M, Turnley A, Kilpatrick TJ (1998) Regulation of neural stem cell differentiation in the forebrain. *Immunol Cell Biol* 76:414-418.
- Bartsch U, Bandtlow CE, Schnell L, Bartsch S, Spillmann AA, Rubin BP, Hillenbrand R, Montag D, Schwab ME, Schachner M (1995) Lack of evidence that myelin-associated glycoprotein is a major inhibitor of axonal regeneration in the CNS. *Neuron* 15:1375-1381.
- Bartus RT, Dean III RL, Beer B, Lippa AS (1982) The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217:408-417.
- Bayer SA (1979) The development of the septal region in the rat. I. Neurogenesis examined with ³H-thymidine autoradiography. *J Comp Neurol* 183:89-106.
- Bayer SA (1985) Neurogenesis of the magnocellular basal telencephalic nuclei in the rat. *Int J Dev Neurosci* 3:229-243.
- Bazan JF (1991) Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *PNAS* 87:6934-6938.
- Bender R, Plaschke M, Naumann T, Wahle P, Frotscher M (1996) Development of cholinergic and GABAergic neurons in the rat medial septum: different onset of choline acetyltransferase and glutamate decarboxylase mRNA expression. *J Comp Neurol* 372:204-214.
- Bennowitz LI, Routtenberg A (1997) GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. *TINS* 20:84-91.
- Bentivoglio AR, Altavista MC, Granata R, Albanese A (1994) Genetically determined cholinergic deficiency in the forebrain of C57BL/6 mice. *Brain Res* 637:181-189.
- Berkemeier LR, Winslow JW, Kaplan DR, Nikolics K, Goeddel DV, Rosenthal A (1991) Neurotrophin-5: a novel neurotrophic factor that activates trk and trkB. *Neuron* 7:857-866.
- Bibel M, Barde Y-A (2000) Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev* 14:2919-2937.
- Bibel M, Hoppe E, Barde Y-A (1999) Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors *trk* and p75^{NTR}. *EMBO J* 18:616-622.
- Bonni A, Sun Y, Nadal-Vicens M, Bhatt A, Frank DA, Rozovsky I, Stahl N, Yancopoulos GD, Greenberg ME (1997) Regulation of gliogenesis in the central nervous system by the JAK-STAT signaling pathway. *Science* 278:477-483.

- Bothwell M (1996) p75^{NTR}: a receptor after all. *Science* 272:506-507.
- Bowe CM, Evans NH, Vlacha V (1992) Progressive morphological abnormalities observed in rat spinal motor neurons at extended intervals after axonal regeneration. *J Comp Neurol* 321:576-590.
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82:239-259.
- Brady DR, Phelps PE, Vaughn JE (1989) Neurogenesis of basal forebrain cholinergic neurons in rat. *Dev Brain Res* 47:81-92.
- Brauer K, Schober W, Werner L, Winkelmann E, Lungwitz W, Hajdu F (1988) Neurons in the basal forebrain complex of the rat: a Golgi study. *J Hirnforsch* 29:43-71.
- Brauer K, Schober A, Wolff JR, Winkelmann E, Luppä H, Lüth H-J, Böttcher H (1991) Morphology of neurons in the rat basal forebrain nuclei: comparison between NADPH-diaphorase histochemistry and immunohistochemistry of glutamic acid decarboxylase, choline acetyltransferase, somatostatin and parvalbumin. *J Hirnforsch* 32:1-17
- Brauer K, Seeger G, Härtig W, Roßner S, Poethke R, Kacza J, Schliebs R, Brückner G, Bigl V (1998) Electron microscopic evidence for a cholinergic innervation of GABAergic parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat medial septum. *J Neurosci Res* 54:248-253.
- Brauer K, Winkelmann E (1987) Cells with varicose dendrites: a characteristic type of neurons in Golgi preparations of the rat cholinergic basal forebrain nuclei. *J Hirnforsch* 28:117-123.
- Bredesen DE, Rabizadeh S (1997) p75^{NTR} and apoptosis: Trk-dependent and Trk-independent effects. *TINS* 20:287-290.
- Brockhaus H (1942a) Zur feineren Anatomie des Septum und des Striatum. *J Psychol Neurol* 51:1-56.
- Brockhaus H (1942b) Vergleichend-anatomische Untersuchungen über den Basalkernkomplex. *J Psychol Neurol* 51:57-95.
- Bronfman FC, Tcherpakov M, Jovin TM, Fainzilber M (2003) Ligand-induced internalization of the p75 neurotrophin receptor : a slow route to the signaling endosome. *J Neurosci* 23:3209-3220.
- Brösamle C, Huber AB, Fiedler M, Skerra A, Schwab ME (2000) Regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in the adult rat induced by a recombinant, humanized IN-1 antibody fragment. *J Neurosci* 20:1-8.
- Buck CR, Martinez HJ, Black IB, Chao MV (1987) Developmentally regulated expression of nerve growth factor receptor in the periphery and brain. *PNAS* 84:3060-3063.

- Buhl E, Schwerdtfeger WK, Germroth P (1990) Intracellular injection of neurons in fixed brain tissue combined with other neuroanatomical techniques at the light and electron microscopic level. In A. Björklund, T. Hökfelt, FG Wouterlood, van den Pol AN (eds): Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 8: Analysis of neuronal microcircuits and synaptic interactions. Amsterdam: Elsevier, pp. 273-304.
- Buhl EH, Schwerdtfeger WK, Germroth P, Singer W (1989) Combining retrograde tracing, intracellular injection, anterograde degeneration and electron microscopy to reveal synaptic links. *J Neurosci Meth* 29:241-250.
- Burke MA, Apter JR, Wainer BH, Mufson EJ, Kordower JH (1994) Age-related vulnerability of developing cholinergic basal forebrain neurons following excitotoxic lesions of the hippocampus. *Exp Neurol* 128:159-171.
- Burkhalter J, Fiumelli H, Allaman I, Chatton J-Y, Martin J-L (2003) Brain-derived neurotrophic factor stimulates energy metabolism in developing cortical neurons. *J Neurosci* 23:8212-8220.
- Butowt R, von Bartheld CS (2003) Connecting the dots: trafficking of neurotrophins, lectins and diverse pathogens by binding to the neurotrophin receptor p75^{NTR}. *Eur J Neurosci* 17:673-680.
- Butt SJB, Fuccillo M, Nery S, Noctor S, Kriegstein A, Corbin JG, Fishell G (2005) The temporal and spatial origins of cortical interneurons predict their physiological subtype. *Neuron* 48:591-604.
- Butterworth NJ, Dragunow M (1996) Medial septal cholinergic neurons express c-Jun but do not undergo DNA fragmentation after fimbria-fornix transection. *Mol Brain Res* 43:1-12.
- Butzkueven H, Zhang J-G, Soilu-Hanninen M, Hochrein H, Chionh F, Shipham KA, Emery B, Turnley AM, Petratos S, Ernst M, Bartlett PF, Kilpatrick TJ (2002) LIF receptor signaling limits immune-mediated demyelination by enhancing oligodendrocyte survival. *Nat Med* 8:613-619.
- Cadelli D, Schwab ME (1991) Regeneration of lesioned septohippocampal acetylcholinesterase-positive axons is improved by antibodies against the myelin-associated neurite growth inhibitors NI-35/250. *Eur J Neurosci* 3:825-832.
- Campbell K (2005) Cortical neuron specification: it has time and place. *Neuron* 46:373-376.
- Campenot RB (1977) Local control of neurite development by nerve growth factor. *PNAS* 74:4516-4519.
- Canossa M, Griesbeck O, Berninger B, Campana G, Kolbeck R, Thoenen H (1997) Neurotrophin release by neurotrophins : implications for activity-dependent neuronal plasticity. *PNAS* 94:13279-13286.
- Canossa M, Twiss JL, Verity AN, Shooter EM (1996) p75^{NGFR} and TrkA receptors collaborate to rapidly activate a p75^{NGFR}-associated protein kinase. *EMBO J* 15:3369-3376.

- Carter BD, Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Offenhäuser N, Böhm-Matthaei R, Baeuerle P, Barde Y-A (1996) Selective activation of NF- κ B by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. *Science* 272:542-545.
- Carter BD, Lewin GR (1997) Neurotrophins live or let die: does p75^{NTR} decide ? *Neuron* 18:187-190.
- Casaccia-Bonnel P, Carter BD, Dobrowsky RT, Chao MV (1996) Death of oligodendrocytes mediated by the interaction of nerve growth factor with its receptor p75. *Nature* 383:716-719.
- Casademunt E, Carter BD, Benzel I, Frade JM, Dechant G, Barde Y-A (1999) The zinc finger protein NRIF interacts with the neurotrophin receptor p75^{NTR} and participates in programmed cell death. *EMBO J* 18:6050-6061.
- Cavicchioli L, Flanigan TP, Dickson JG, Vantini G, Dal Toso R, Fusco M, Walsh FS, Leon A (1991) Choline acetyltransferase messenger RNA expression in the developing and adult rat brain: regulation by nerve growth factor. *Mol Brain Res* 9:319-325.
- Chao MV (1992) Neurotrophin receptors: a window into neuronal differentiation. *Neuron* 9:583-593.
- Chao MV, Hempstead BL (1995) p75 and Trk: a two-receptor system. *TINS* 18:321-326.
- Cheema SS, Arumugam D, Murray SS, Bartlett PF (1998) Leukemia inhibitory factor maintains choline acetyltransferase expression in vivo. *Neuroreport* 9:363-366.
- Cheema SS, Barrett GL, Bartlett PF (1996) Reducing p75 nerve growth factor receptor levels using antisense oligonucleotides prevents the loss of axotomized sensory neurons in the dorsal root ganglia of newborn rats. *J Neurosci Res* 46:239-245.
- Chen E-Y, Mufson EJ, Kordower JH (1996) TRK and p75 neurotrophin receptor systems in the developing human brain. *J Comp Neurol* 369:591-618.
- Chen KS, Nishimura MC, Armanini MP, Crowley C, Spencer SD, Phillips HS (1997) Disruption of a single allele of the nerve growth factor gene results in atrophy of basal forebrain cholinergic neurons and memory deficits. *J Neurosci* 17:7288-7296.
- Clarke PGH (1990) Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol* 181:195-213.
- Clarke PGH, Clarke S (1996) Nineteenth century research on naturally occurring cell death and related phenomena. *Anat Embryol* 193:81-99.
- Clarke PGH, Oppenheim RW (1995) Neuron death in vertebrate development: in vivo methods. *Meth Cell Biol* 46:277-321.
- Clary DO, Reichardt LF (1994) An alternatively spliced form of the nerve growth factor receptor TrkA confers an enhanced response to neurotrophin 3. *PNAS* 91:11133-11137.

- Conner JM, Lauterborn JC, Yan Q, Gall CM, Varon S (1997) Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci* 17:2295-2313.
- Conner JM, Muir D, Varon S, Hagg T, Manthorpe M (1992) The localization of nerve growth factor-like immunoreactivity in the adult rat basal forebrain and hippocampal formation. *J Comp Neurol* 319:454-462.
- Conover JC, Erickson JT, Katz DM, Bianchi LM, Poueymirou WT, McClain J, Pan L, Helgren M, Ip NY, Boland P, Friedman B, Wiegand S, Vejsada R, Kato AC, DeChiara TM, Yancopoulos GD (1995) Neuronal deficits, not involving motor neurons, in mice lacking BDNF and/or NT4. *Nature* 375:235-238.
- Conover JC, Yancopoulos GD (1997) Neurotrophin regulation of the developing nervous system: analyses of knockout mice. *Rev Neurosci* 8:13-27.
- Cooper JD, Lindholm D, Sofroniew MV (1994) Reduced transport of (¹²⁵I) nerve growth factor by cholinergic neurons and down-regulated TrkA expression in the medial septum of aged rats. *Neurosci* 62:625-629.
- Cooper JD, Skepper JN, Berzaghi MD, Lindholm D, Sofroniew MV (1996) Delayed death of septal cholinergic neurons after excitotoxic ablation of hippocampal neurons during early postnatal development in the rat. *Exp Neurol* 139:143-155.
- Cooper JD, Sofroniew MV (1996) Increased vulnerability of septal cholinergic neurons to partial loss of target neurons in aged rats. *Neurosci* 75:29-35.
- Cordon-Cardo C, Tapley P, Jing S, Nanduri V, O'Rourke E, Lamballe F, Kovary K, Klein R, Jones KR, Reichardt LF, Barbacid M (1991) The *trk* tyrosine protein kinase mediates the mitogenic properties of nerve growth factor and neurotrophin-3. *Cell* 66:173-183.
- Cowan WM, Fawcett JW, O'Leary DDM, Stanfield BB (1985) Regressive events in neurogenesis. *Science* 225:1258-1265.
- Coyle JT, Price DL, DeLong MR (1983) Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219:1184-1190.
- Cragg BC (1970) What is the signal for chromatolysis? *Brain Res* 23:1-21.
- Crowley C, Spencer SD, Nishimura MC, Chen KS, Pitts-Meek S, Armanini MP, Ling LH, McMahan SB, Shelton DL, Levinson AD, Phillips HS (1994) Mice lacking nerve growth factor display perinatal loss of sensory and sympathetic neurons yet develop basal forebrain cholinergic neurons. *Cell* 76:1001-1011.
- Crutcher KA (1982) Development of the rat septohippocampal projection: a retrograde fluorescent tracer study. *Dev Brain Res* 3:145-150.
- Crutcher KA, Weingartner J (1991) Hippocampal NGF levels are not reduced in the aged Fischer 344 rat. *Neurobiol Aging* 12:449-454.

- da Penha Berzaghi M, Cooper J, Castrén E, Zafra F, Sofroniew M, Thoenen H, Lindholm D (1993) Cholinergic regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) but not neurotrophin-3 (NT-3) mRNA levels in the developing rat hippocampus. *J Neurosci* 13:3818-3826.
- Daitz HM, Powell TPS (1954) Studies of the connexions of the fornix system. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 17:75-82.
- Davies AM (1994) The role of neurotrophins in the developing nervous system. *J Neurobiol* 25:1334-1348.
- Davies AM, Bandtlow C, Heumann R, Korsching S, Rohrer H, Thoenen H (1987) Timing and site of nerve growth factor synthesis in developing skin in relation to innervation and expression of the receptor. *Nature* 326:353-358.
- Davies AM, Minichiello L, Klein R (1995) Developmental changes in NT3 signalling via TrkA and TrkB in embryonic neurons. *EMBO J* 14:4482-4489.
- Davies SJA, Field PM, Raisman G (1996) Regeneration of cut adult axons fails even in the presence of continuous aligned glial pathways. *Exp Neurol* 142:203-216.
- Davies SJA, Fitch MT, Memberg SP, Hall AK, Raisman G, Silver J (1997) Regeneration of adult axons in white matter tracts of the central nervous system. *Nature* 390:680-683.
- Davis S, Aldrich TH, Stahl N, Pan L, Taga T, Kishimoto T, Ip NY, Yancopoulos GD (1993a) LIFR beta and gp130 as heterodimerizing signal transducers of the tripartite CNTF receptor. *Science* 260:1805-1808.
- Davis S, Aldrich TH, Valenzuela DM, Wong VV, Furth ME, Squinto SP, Yancopoulos GD (1991) The receptor for ciliary neurotrophic factor. *Science* 253:59-63.
- Davis S, Aldrich TH, Ip NY, Stahl N, Scherer S, Farruggella T, DiStefano PS, Curtis R, Panayotatos N, Gascan H (1993b) Released form of CNTF receptor alpha component as a soluble mediator of CNTF responses. *Science* 259:1736-1739.
- De Lacalle S, Cooper JD, Svendsen CN, Dunnett SB, Sofroniew MV (1996) Reduced retrograde labelling with fluorescent tracer accompanies neuronal atrophy of basal forebrain cholinergic neurons in aged rats. *Neurosci* 75:19-27.
- Dechant G, Barde Y-A (2002) The neurotrophin receptor p75^{NTR}: novel functions and implications for diseases of the nervous system. *Nat Neurosci* 5:1131-1136.
- DeFreitas MF, McQuillen PS, Shatz CJ (2001) A novel p75^{NTR} signaling pathway promotes survival, not death, of immunopurified neocortical subplate neurons. *J Neurosci* 21:5121-5129.
- Dickinson-Anson H, Winkler J, Fisher LJ, Song H-J, Poo M, Gage FH (2003) Acetylcholine-secreting cells improve age-induced memory deficits. *Mol Therapy* 8:51-61.

- DiStefano PS, Friedman B, Radziejewski C, Alexander C, Boland P, Schick CM, Lindsay RM, Wiegand SJ (1992) The neurotrophins BDNF, NT-3, and NGF display distinct patterns of retrograde axonal transport in peripheral and central neurons. *Neuron* 8:983-993.
- Dobrowsky RT, Werner MH, Castellino AM, Chao MV, Hannun YA (1994) Activation of the sphingomyelin cycle through the low-affinity neurotrophin receptor. *Science* 265:1596-1599.
- Doering LC, Snyder EY (2000) Cholinergic expression by a neural stem cell line grafted to the adult medial septum/diagonal band complex. *J Neurosci Res* 61:597-604.
- Dragunow M (1992) Axotomized medial septal-diagonal band neurons express Jun-like immunoreactivity. *Mol Brain Res* 15:141-144.
- Dugich-Djordjevic MM, Peterson C, Isono F, Ohsawa F, Widmer HR, Denton TL, Bennett GL, Hefti F (1995) Immunohistochemical visualization of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. *Eur J Neurosci* 7:1831-1839.
- Durkin T, Ayad G, Ebel A, Mandel P (1977) Regional acetylcholine turnover rates in the brains of three inbred strains of mice : correlation with some interstrain behavioural differences. *Brain Res* 136:475-486.
- Dutar P, Bassant M-H, Senut M-C, Lamour Y (1995) The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physiol Rev* 75:393-427.
- Eckenstein F, Thoenen H (1982) Production of specific antisera and monoclonal antibodies to choline acetyltransferase: characterization and use for identification of cholinergic neurons. *EMBO* 1:363-368.
- Eckenstein F, Sofroniew MV (1983) Identification of central cholinergic neurons containing both choline acetyltransferase and acetylcholinesterase and of central neurons containing only acetylcholinesterase. *J Neurosci* 3:2286-2291.
- Eide FF, Vining ER, Eide BL, Zang K, Wang X-Y, Reichardt LF (1996) Naturally occurring truncated trkB receptors have dominant inhibitory effects on brain-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci* 16:3123-3129.
- Emerick AJ, Neafsey EJ, Schwab ME, Kartje GL (2003) Functional reorganization of the motor cortex in adult rats after cortical lesion and treatment with monoclonal antibody IN-1. *J Neurosci* 23:4826-4830.
- Erickson JT, Conover JC, Borday V, Champagnat J, Barbacid M, Yancopoulos G, Katz DM (1996) Mice lacking brain-derived neurotrophic factor exhibit visceral sensory neuron losses distinct from mice lacking NT4 and display a severe developmental deficit in control of breathing. *J Neurosci* 16:5361-5371.
- Ernfors P, Ibáñez CF, Ebendal T, Olson L, Persson H (1990) Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to β -nerve growth factor: developmental and topographical expression in the brain. *PNAS* 87:5454-5458.

- Ernfors P, Lee K-F, Kucera J, Jaenisch R (1994) Lack of neurotrophin-3 leads to deficiencies in the peripheral nervous system and loss of limb proprioceptive afferents. *Cell* 77:503-512.
- Escandón E, Soppet D, Rosenthal A, Mendoza-Ramirez J-L, Szönyi E, Burton LE, Henderson CE, Parada LF, Nicolics K (1994) Regulation of neurotrophin receptor expression during embryonic and postnatal development. *J Neurosci* 14:2054-2068.
- Fagan AM, Garber M, Barbacid M, Silos-Santiago I, Holtzman DM (1997) A role for TrkA during maturation of striatal and basal forebrain cholinergic neurons *in vivo*. *J Neurosci* 17:7644-7654.
- Fagan AM, Zhang H, Landis S, Smeyne RJ, Silos-Santiago I, Barbacid M (1996) TrkA, but not TrkC, receptors are essential for the survival of sympathetic neurons *in vivo*. *J Neurosci* 16:6208-6218.
- Fariñas I, Jones KR, Backus C, Wang X-Y, Reichardt LF (1994) Severe sensory and sympathetic deficits in mice lacking neurotrophin-3. *Nature* 369:658-661.
- Fariñas I, Yoshida CK, Backus C, Reichardt LF (1996) Lack of neurotrophin-3 results in death of spinal sensory neurons and premature differentiation of their precursors. *Neuron* 17:1065-1078.
- Field PM, Zhou C-F, Li Y, Raisman G (1997) Endogenous synaptogenesis in the deafferented dentate gyrus does not exclude synapse formation by embryonic entorhinal transplants. *Brain Res* 751:352-355.
- Fine A (1985) Cholinergic basal forebrain development in rat. *Neurosci Lett (Suppl)* 21:S72.
- Fischer W, Björklund A (1991) Loss of AchE- and NGFr-labeling precedes neuronal death of axotomized septal-diagonal band neurons: reversal by intraventricular NGF infusion. *Exp Neurol* 113:93-108.
- Fischer W, Gage FH, Björklund A (1989) Degenerative changes in forebrain cholinergic nuclei correlate with cognitive impairments in aged rats. *Eur J Neurosci* 1:34-45.
- Fischer W, Victorin K, Björklund A, Williams LR, Varon S, Gage FH (1987) Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature* 329:65-68.
- Frade JM, Barde Y-A (1998) Microglia-derived nerve growth factor causes cell death in the developing retina. *Neuron* 20:35-41.
- Frade JM, Rodríguez-Tébar A, Barde Y-A (1996) Induction of cell death by endogenous nerve growth factor through its p75 receptor. *Nature* 383:166-168.
- Frankel WN (1998) Mouse strain backgrounds: more than black and white. *Neuron* 20:183.
- Freund TF (1989) GABAergic septohippocampal neurons contain parvalbumin. *Brain Res* 478 :375-381.

- Freund TF, Antal M (1988) GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature* 336:170-173.
- Friden PM, Walus LR, Watson P, Doctrow SR, Kozarich JW, Bäckman C, Bergman H, Hoffer B, Bloom F, Granholm A-C (1993) Blood-brain barrier penetration and in vivo activity of an NGF conjugate. *Science* 259:373-377.
- Friedman WJ, Black IB, Kaplan DR (1998) Distribution of the neurotrophins brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4/5 in the postnatal rat brain : an immunocytochemical study. *Neurosci* 84:101-114.
- Frölich L (2002) The cholinergic pathology in Alzheimer`s disease – discrepancies between clinical experience and pathophysiological findings. *J Neural Transm* 109:1003-1013.
- Frotscher M, Léránth C (1985) Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: a combined light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 239:237-246.
- Fryer RH, Kaplan DR, Feinstein SC, Radeke MJ, Grayson DR, Kromer LF (1996) Developmental and mature expression of full-length and truncated TrkB receptors in the rat forebrain. *J Comp Neurol* 374:21-40.
- Furukawa S, Sugihara Y, Iwasaki F, Fukumitsu H, Nitta A, Nomoto H, Furukawa Y (1998) Brain-derived neurotrophic factor-like immunoreactivity in the adult rat central nervous system predominantly distributed in neurons with substantial amounts of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA or responsiveness to brain-derived neurotrophic factor. *Neurosci* 82:653-670.
- Gage FH (2002) Neurogenesis in the adult brain. *J Neurosci* 22:612-613.
- Gage FH, Tuszynski MH, Chen KS, Armstrong D, Buzsàki G (1989) Survival, growth and function of damaged cholinergic neurons. In M. Frotscher and U. Misgeld (eds): *Central Cholinergic Synaptic Transmission*. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser Verlag, pp.259-274.
- Gage FH, Wictorin K, Fischer W, Williams LR, Varon S, Björklund A (1986) Retrograde cell changes in medial septum and diagonal band following fimbria-fornix transection: quantitative temporal analysis. *Neurosci* 19:241-255.
- Gall CM, Lauterborn JC, Guthrie KM, Stinis CT (1997) Seizures and the regulation of neurotrophic factor expression: associations with structural plasticity in epilepsy. *Adv Neurol* 72:9-24.
- Gasser UE, Weskamp G, Otten U, Dravid AR (1986) Time course of the elevation of nerve growth factor (NGF) content in the hippocampus and septum following lesions of the septohippocampal pathway in rats. *Brain Res* 376:351-356.
- Gaykema RPA, Luiten PGM, Nyakas C, Traber J (1990) Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *J Comp Neurol* 293:103-124.

- Gaykema RPA, van der Kuil J, Hersh LB, Luiten PGM (1991) Patterns of direct projections from the hippocampus to the medial septum-diagonal band complex: anterograde tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin combined with immunohistochemistry of choline acetyltransferase. *Neurosci* 43:349-360.
- Gearing DP, Comeau MR, Fried DJ, Gimpel SD, Thut CJ, McGourty J, Brasher KK, King JA, Gillis S, Mosley B (1992) The IL-6 signal transducer, gp130: an oncostatin M receptor and affinity converter for the LIF receptor. *Science* 255:1434-1437.
- Gearing DP, Thut CJ, Van de Bos T, Gimpel SD, Delaney PB, King JA, Price V, Cosman D, Beckmann MP (1991) Leukemia inhibitory factor receptor is structurally related to the IL-6 signal transducer, gp130. *EMBO J* 10:2839-2848.
- Gearing DP, Ziegler SF, Comeau MR, Fried D, Thoma B, Cosman D, Park L, Mosley B (1994) Proliferative responses and binding properties of hematopoietic cells transfected with low-affinity receptors for leukemia inhibitory factor, oncostatin M, and ciliary neurotrophic factor. *PNAS* 91:1119-1123.
- Gibbs RB (1997) Effects of estrogen on basal forebrain cholinergic neurons vary as a function of dose and duration of treatment. *Brain Res* 757:10-16.
- Gibbs RB (2003) Effects of aging and long-term hormone replacement on cholinergic neurones in the medial septum and nucleus basalis magnocellularis of ovariectomized rats. *J Neuroendocrinol* 15:477-485.
- Gibbs RB, Aggarwal P (1998) Estrogen and basal forebrain cholinergic neurons: implications for brain aging and Alzheimer's disease related cognitive decline. *Hormones Behav* 34:98-111.
- Gibbs RB, Pfaff DW (1994) In situ hybridization detection of trkA mRNA in brain: distribution, colocalization with p75^{NGFR} and up-regulation by nerve growth factor. *J Comp Neurol* 341:324-339.
- Ginsberg SD, Martin LJ (1998) Ultrastructural analysis of the progression of neurodegeneration in the septum following fimbria-fornix transection. *Neurosci* 86:1259-1272.
- Giulian D (1994) The consequences of inflammation after injury to the central nervous system. In S. K. Salzman, A. I. Faden (eds): *The neurobiology of central nervous system trauma*. New York, Oxford: Oxford University Press, pp.155-164.
- Gnahn H, Hefti F, Heumann R, Schwab ME, Thoenen H (1983) NGF-mediated increase of choline acetyltransferase (ChAT) in the neonatal rat forebrain: evidence for a physiological role of NGF in the brain? *Dev Brain Res* 9:45-52.
- Goedert MA, Fine A, Dawbarn D, Wilcock GK, Chao M (1989) Nerve growth factor mRNA distribution in human brain: normal levels in basal forebrain in Alzheimer's disease. *Mol Brain Res* 5:1-7.
- Goldberg JL, Barres BA (2000) The relationship between neuronal survival and regeneration. *Annu Rev Neurosci* 23:579-612.

- Goldschmidt RB, Steward O (1980) Time course of increase in retrograde labelling and increases in cell size of entorhinal cortex neurons sprouting in response to unilateral entorhinal lesions. *J Comp Neurol* 189:359-379.
- Goss JR, O'Malley ME, Zou L, Styren SD, Kochanek PM, DeKosky ST (1998) Astrocytes are the major source of nerve growth factor upregulation following traumatic brain injury in the rat. *Exp Neurol* 149:301-309.
- Götz M, Sommer L (2005) Cortical development: the art of generating cell diversity. *Development* 132:3327-3332.
- Götz R, Köster R, Winkler C, Raulf F, Lottspeich F, Scharf M, Thoenen H (1994) Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature* 372:256-259.
- Gough NM, Williams RL (1989) The pleiotropic actions of leukemia inhibitory factor. *Cancer Cells* 1:77-80.
- Gould E, Gross CG (2002) Neurogenesis in adult mammals: some progress and problems. *J Neurosci* 22:619-623.
- Gould E, Reeves AJ, Graziano MSA, Gross CG (1999) Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 286:548-552.
- Grafstein B (1975) The nerve cell body response to axotomy. *Exp Neurol* 48:32-51.
- Greferath U, Bennie A, Kourakis A, Bartlett PF, Murphy M, Barrett GL, (2000) Enlarged cholinergic forebrain neurons and improved spatial learning in p75 knockout mice. *Eur J Neurosci* 12:885-893.
- Gritti I, Mainville L, Mancina M, Jones BE (1997) GABAergic and other noncholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. *J Comp Neurol* 383:163-177.
- Guntinas-Lichius O, Wewetzer K, Tomov, TL, Azzolin N, Kazemi S, Streppel M, Neiss WF, Angelov DN (2002) Transplantation of olfactory mucosa minimizes axonal branching and promotes the recovery of vibrissae motor performance after facial nerve repair in rats. *J Neurosci* 22:7121-7131.
- Haas CA, Deller T, Naumann T, Frotscher M (1996) Selective expression of the immediate early gene *c-jun* in axotomized rat medial septal neurons is not related to neuronal degeneration. *J Neurosci* 16:1894-1903.
- Haas CA, Hofmann H-D, Kirsch M (1999) Expression of CNTF/LIF-receptor components and activation of STAT3 signaling in axotomized facial motoneurons: evidence for a sequential postlesional function of the cytokines. *J Neurobiol* 41:559-571.
- Haas CA, Hollerbach E, Deller T, Naumann T, Frotscher M (2000) Up-regulation of growth-associated protein 43 mRNA in rat medial septum neurons axotomized by fimbria-fornix transection. *Eur J Neurosci* 12:4233-4242.

- Häge B, Frotscher M, Naumann T (1996) Activity of choline acetyltransferase in the rat medial septal nucleus following fimbria-fornix transection or selective immunolesioning with 192 IgG-saporin. *Neurosci Lett* 205:119-122.
- Hagg T (1999) Neuronal cell death: retraction. *Science* 285:340.
- Hagg T, Fass-Holmes B, Vahlsing HL, Manthorpe M, Conner JM, Varon S (1989) Nerve growth factor (NGF) reverses axotomy-induced decreases in choline acetyltransferase, NGF receptor and size of medial septum cholinergic neurons. *Brain Res* 505:29-38.
- Hagg T, Louis J-C, Longo FM, Varon S (1994) Neurotrophic factors, growth factors, and central nervous system trauma. In S. K. Salzman, A. I. Faden (eds): *The neurobiology of central nervous system trauma*. New York, Oxford: Oxford University Press, pp.245-264.
- Hagg T, Manthorpe M, Vahlsing HL, Varon S (1988) Delayed treatment with nerve growth factor reverses the apparent loss of cholinergic neurons after acute brain damage. *Exp Neurol* 101:303-312.
- Hagg T, Quon D, Higaki J, Varon S (1992) Ciliary neurotrophic factor prevents neuronal degeneration and promotes low affinity NGF receptor expression in the adult rat CNS. *Neuron* 8:145-158.
- Hagg T, Van der Zee CEEM, Ross GM, Riopelle RJ (1997) (technical comment). *Science* 277:838-839.
- Hallanger AE, Wainer BH (1988) Ascending projections from the pedunculo-pontine tegmental nucleus and the adjacent mesopontine tegmentum in the rat. *J Comp Neurol* 274:483-515.
- Hallböök F (1999) Evolution of the vertebrate neurotrophin and Trk receptor gene families. *Curr Opin Neurobiol* 9:616-621.
- Hallböök F, Ibáñez CF, Persson H (1991) Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary. *Neuron* 6:845-858.
- Hamburger V, Levi-Montalcini R (1949) Proliferation, differentiation and degeneration in the spinal ganglia of the chick embryo under normal and experimental conditions. *J Exp Zool* 111:457-502.
- Han S-H, McCool BA, Murchison D, Nahm S-S, Parrish AR, Griffith WH (2002) Single-cell RT-PCR detects shifts in mRNA expression profiles of basal forebrain neurons during aging. *Mol Brain Res* 98:67-80.
- Hantzopoulos PA, Suri C, Glass DJ, Goldfarb MP, Yancopoulos GD (1994) The low affinity NGF receptor, p75, can collaborate with each of the Trks to potentiate functional responses to the neurotrophins. *Neuron* 13:187-201.
- Hatanaka Y, Jones EG (1998) Early region-specific gene expression during tract formation in the embryonic rat forebrain. *J Comp Neurol* 395:296-309.

- Hatten ME (1999) Central nervous system neuronal migration. *Annu Rev Neurosci* 22 :511-539.
- Headon MP, Sloper JJ, Hiorns RW, Powell TPS (1985) Effects of monocular closure at different stages on deprived and undeprived cells in the primate lateral geniculate nucleus. *Dev Brain Res* 18:47-78.
- Hefti F (1986) Nerve growth factor promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transections. *J Neurosci* 6:2155-2162.
- Hefti F, Hartikka J, Eckenstein F, Gnahn H, Heumann R, Schwab M (1985) Nerve growth factor increases choline acetyltransferase but not survival or fiber outgrowth of cultured fetal septal cholinergic neurons. *Neurosci* 14:55-68.
- Hellweg R, Fischer W, Hock C, Gage FH, Björklund A, Thoenen H (1990) Nerve growth factor levels and choline acetyltransferase activity in the brain of aged rats with spatial memory impairments. *Brain Res* 537:123-130.
- Hempstead BL (2002) The many faces of p75 (NTR). *Curr Opin Neurobiol* 12:260-267.
- Hempstead BL, Martin-Zanca D, Kaplan DR, Parada LF, Chao MV (1991) High-affinity NGF binding requires coexpression of the *trk* proto-oncogene and the low-affinity NGF receptor. *Nature* 350:678-683.
- Herdegen T, Leah JD (1998) Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. *Brain Res Rev* 28:370-490.
- Herdegen T, Skene P, Bähr M (1997) The c-Jun transcription factor – bipotential mediator of neuronal cell death, survival and regeneration. *TINS* 20:227-231.
- Heumann R, Korsching S, Scott J, Thoenen H (1984) Relationship between levels of nerve growth factor (NGF) and its messenger RNA in sympathetic ganglia and peripheral target tissues. *EMBO J* 3:3183-3189.
- Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T (1990) Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* 63:1149-1157.
- Higgins GA, Koh S, Chen KS, Gage FH (1989) NGF induction of NGF receptor gene expression and cholinergic neuronal hypertrophy within the basal forebrain of the adult rat. *Neuron* 3:247-256.
- Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde Y-A (1990) Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family. *Nature* 344:339-341.
- Hollerbach E, Haas CA, Hildebrandt H, Frotscher M, Naumann T (1998) Region-specific activation of microglial cells in the rat septal complex following fimbria-fornix transection. *J Comp Neurol* 390:481-496.
- Holtzman DM, Kilbridge J, Li Y, Cunningham jr. ET, Lenn NJ, Clary DO, Reichardt LF, Mobley WC (1995) *TrkA* expression in the CNS: evidence for the existence of several novel NGF-responsive CNS neurons. *J Neurosci* 15:1567-1576.

- Holtzman DM, Li Y, Parada LF, Kinsman S, Chen C-K, Valletta JS, Zhou J, Long JB, Mobley WC (1992) p140^{trk} mRNA marks NGF-responsive forebrain neurons: evidence that *trk* gene expression is induced by NGF. *Neuron* 9:465-478.
- Hoyle GW, Mercer EH, Palmiter RD, Brinster RL (1993) Expression of NGF in sympathetic neurons leads to excessive axon outgrowth from ganglia but decreased terminal innervation within tissues. *Neuron* 10:1019-1034.
- Huang EJ, Reichardt LF (2001) Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 24:677-736.
- Ibáñez CF (1998) Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. *TINS* 21:438-444.
- Ibáñez CF, Ebendal T, Barbany G, Murray-Rust J, Blundell TL, Persson H (1992) Disruption of the low affinity receptor-binding site in NGF allows neuronal survival and differentiation by binding to the *trk* gene product. *Cell* 69:329-341.
- Ip NY, McClain J, Barrezueta NX, Aldrich TH, Pan L, Li Y, Wiegand SJ, Friedman B, Davies S, Yancopoulos GD (1993a) The α component of the CNTF receptor is required for signaling and defines potential CNTF targets in the adult and during development. *Neuron* 10:89-102.
- Ip NY, Nye SN, Boulton TG, Davis S, Taga T, Li Y, Birren SJ, Yasukawa K, Kishimoto T, Anderson DJ, Stahl N, Yancopoulos GD (1992) CNTF and LIF act on neuronal cells via shared signalling pathways that involve the IL-6 signal transducing receptor component gp130. *Cell* 69:1121-1132.
- Ip NY, Stitt TN, Tapley P, Klein R, Glass DJ, Fandl J, Greene LA, Barbacid M, Yancopoulos GD (1993b) Similarities and differences in the way neurotrophins interact with the Trk receptors in neuronal and nonneuronal cells. *Neuron* 10:137-149.
- Ip NY, Yancopoulos GD (1992) Ciliary neurotrophic factor and its receptor complex. *Prog Growth Factors Res* 4:139-155.
- Ip NY, Yancopoulos GD (1995) The neurotrophins and CNTF: two families of collaborative neurotrophic factors. *Annu Rev Neurosci* 19:491-515.
- Jakab RL, Leranath C (1995) Septum. In G. Paxinos (ed): *The rat nervous system*. Vol. 1. Sydney, New York, London: Academic Press, pp. 405-442.
- Jenkins R, Tetzlaff W, Hunt SP (1993) Differential expression of immediate early genes in rubrospinal neurons following axotomy in rat. *Eur J Neurosci* 5:203-209.
- Johnson D, Lanahan A, Buck CR, Sehgal A, Morgan C, Mercer E, Bothwell M, Chao MV (1986) Expression and structure of the human NGF receptor. *Cell* 47:545-554.
- Jones KR, Fariñas I, Backus C, Reichardt LF (1994) Targeted disruption of the BDNF gene perturbs brain and sensory neuron development but not motor neuron development. *Cell* 76:989-999.

- Junard EO, Montero CN, Hefti F (1990) Long-term administration of mouse nerve growth factor to adult rats with partial lesions of the cholinergic septohippocampal pathway. *Exp Neurol* 110:25-38.
- Kamegai M, Nijjima K, Kunishita T, Nishizawa M, Ogawa M, Araki M, Ueki A, Konishi Y, Tabira T (1990) Interleukin 3 as a trophic factor for central cholinergic neurons in vitro and in vivo. *Neuron* 2:429-436.
- Kaplan DR, Hempstead BL, Martin-Zanca D, Chao MV, Parada LF (1991a) The *trk* proto-oncogene product: a signal transducing receptor for nerve growth factor. *Science* 252:554-558.
- Kaplan DR, Martin-Zanca D, Parada LF (1991b) Tyrosine phosphorylation and tyrosine kinase activity of the *trk* proto-oncogene product induced by NGF. *Nature* 350:158-160.
- Kaplan DR, Miller FD (2000) Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 10:381-391.
- Kasa P, Rakonczay Z, Gulya K (1997) The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 52:511-535.
- Kawaja MD, Walsh GS, Tovich PR, Julien JP (1998) Effects of elevated levels of nerve growth factor on the septohippocampal system in transgenic mice. *Eur J Neurosci* 10:2207-2216.
- Kawamoto Y, Nakamura S, Nakano S, Oka N, Akiguchi I, Kimura J (1996) Immunohistochemical localization of brain-derived neurotrophic factor in adult rat brain. *Neurosci* 74:1209-1226.
- Kenney AM, Kocsic JD (1998) Peripheral axotomy induces long-term c-Jun amino-terminal kinase-1 activation and activator protein-1 binding activity by c-Jun and junD in adult rat dorsal root ganglia *in vivo*. *J Neurosci* 18:1318-1328.
- Kermer P, Naumann T, Bender R, Frotscher M (1995) Fate of GABAergic septohippocampal neurons after fimbria-fornix transection as revealed by in situ hybridization for glutamate decarboxylase mRNA and parvalbumin immunocytochemistry. *J Comp Neurol* 362:385-399.
- Kerwin JM, Morris CM, Johnson M, Perry RH, Perry EK (1993) Hippocampal p75 nerve growth factor receptor immunoreactivity in development, normal aging and senescence. *Acta Anat* 147:216-222.
- Kew JN, Sofroniew MV (1995) Ciliary neurotrophic factor supports p75NGFR-immunoreactive non-cholinergic, but not cholinergic, developing septal neurons in vitro. *Neurosci* 66:793-804.
- Kew JN, Sofroniew MV (1997) Brain-derived neurotrophic factor, acidic and basic fibroblast growth factors, insulin-like growth factor-1, and various antioxidants do not prevent the apoptotic death of developing septal cholinergic neurons following nerve growth factor withdrawal in vitro. *Neurosci* 76:809-820.

- Kimelberg HK, Norenberg MD (1994) Astrocytic responses to central nervous system trauma. In S. K. Salzman, A. I. Faden (eds): The neurobiology of central nervous system trauma. New York, Oxford: Oxford University Press, pp.245-264.
- Kirsch M, Schneider T, Lee M-Y, Hofmann H-D (1998) Lesion-induced changes in the expression of ciliary neurotrophic factor and its receptor in rat optic nerve. *Glia* 23:239-248.
- Klein R, Lamballe F, Bryant S, Barbacid M (1992) The *trkB* tyrosine protein kinase is a receptor for neurotrophin-4. *Neuron* 8:947-956.
- Klein R, Nanduri V, Jing SA, Lamballe F, Tapley P, Bryant S, Cordon-Cardo C, Jones KR, Reichardt LF, Barbacid M (1991) The *trkB* tyrosine protein kinase is a receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *Cell* 66:395-403.
- Klein R, Parada LF, Coulier F, Barbacid M (1989) *trkB*, a novel tyrosine protein kinase receptor expressed during mouse neural development. *EMBO J* 8:3701-3709.
- Klein R, Silos-Santiago I, Smeyne RJ, Lira SA, Bambrilla R, Bryant S, Zhang L, Snider WD, Barbacid M (1994) Disruption of the neurotrophin-3 receptor gene *trkC* eliminates Ia muscle afferents and results in abnormal movements. *Nature* 368:249-251.
- Klein R, Smeyne RJ, Wurst W, Long LK, Auerbach BA, Joyner AL, Barbacid M (1993) Targeted disruption of the *trkB* neurotrophin receptor gene results in nervous system lesions and neonatal death. *Cell* 75:113-122.
- Knüsel B, Beck KD, Winslow JW, Rosenthal A, Burton LE, Widmer HR, Nicolics K, Hefti F (1992) Brain-derived neurotrophic factor administration protects basal forebrain cholinergic but not nigral dopaminergic neurons from degenerative changes after axotomy in the adult rat brain. *J Neurosci* 12:4391-4402.
- Knüsel B, Winslow JW, Rosenthal A, Burton LE, Seid DP, Nikolics K, Hefti F (1991) Promotion of central cholinergic and dopaminergic neuron differentiation by brain-derived neurotrophic factor but not neurotrophin 3. *PNAS* 88:961-965.
- Koh S, Loy R (1988) Age-related loss of nerve growth factor sensitivity in rat basal forebrain neurons. *Brain Res* 440:396-401.
- Koh S, Loy R (1989) Localization and development of nerve growth factor-sensitive rat basal forebrain neurons and their afferent projections to hippocampus and neocortex. *J Neurosci* 9:2999-3018.
- Köhler C, Chan-Palay V, Wu J-Y (1984) Septal neurons containing glutamic acid decarboxylase immunoreactivity project to the hippocampal region in the rat brain. *Anat Embryol* 169:41-44.
- Koliatsos VE, Applegate MD, Kitt CA, Walker LC, DeLong MR, Price DL (1989) Aberrant phosphorylation of neurofilaments accompanies transmitter-related changes in rat septal neurons following transection of the fimbria-fornix. *Brain Res* 482:205-218.
- Kordower JH, Burke-Watson M, Roback JD, Wainer BH (1992) Stability of septohippocampal neurons following excitotoxic lesions of the rat hippocampus. *Exp Neurol* 117:1-16.

- Korsching S (1986) The role of nerve growth factor in the CNS. *TINS* 9:570-573.
- Korsching S (1993) The neurotrophic factor concept: a reexamination. *J Neurosci* 13:2739-2748.
- Korsching S, Auburger G, Heumann R, Scott J, Thoenen H (1985) Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation. *EMBO* 4:1389-1393.
- Korsching S, Thoenen H (1983) Nerve growth factor in sympathetic ganglia and corresponding target organs of the rat: correlation with density of sympathetic innervation. *PNAS* 80:3513-3516.
- Kromer LF (1987) Nerve growth factor treatment after brain injury prevents neuronal death. *Science* 235:214-216.
- Kuan C-Y, Roth KA, Flavell RA, Rakic P (2000) Mechanisms of programmed cell death in the developing brain. *TINS* 23:291-297.
- Lamballe F, Klein R, Barbacid M (1991) *trkC*, a new member of the *trk* family of tyrosine protein kinases, is a receptor for neurotrophin-3. *Cell* 66:967-979.
- Lams BE, Isacson O, Sofroniew MV (1988) Loss of transmitter-associated enzyme staining following axotomy does not indicate death of brainstem cholinergic neurons. *Brain Res* 475:401-406.
- Landmesser L, Pilar G (1978) Interactions between neurons and their targets during in vivo synaptogenesis. *Fed Proc* 37:2016-2022.
- Lapchak PA, Hefti F (1992) BDNF and NGF treatment in lesioned rats: effects on cholinergic function and weight gain. *Neuroreport* 3:405-408.
- Large TH, Bodary SC, Clegg DO, Weskamp G, Otten U, Reichardt LF (1986) Nerve growth factor gene expression in the developing rat brain. *Science* 234:352-355.
- Lärkfors L, Ebendal T, Whittmore SR, Persson H, Hoffer B, Olson L (1987) Decreased level of nerve growth factor (NGF) and its messenger RNA in the aged rat brain. *Mol Brain Res* 3:55-60.
- Lauterborn JC, Bizon JL, Tran TMD, Gall CM (1995) NGF mRNA is expressed by GABAergic but not cholinergic neurons in rat basal forebrain. *J Comp Neurol* 360:454-462.
- Lauterborn JC, Tran TMD, Isackson PJ, Gall CM (1993) Nerve growth factor mRNA is expressed by GABAergic neurons in rat hippocampus. *Neuroreport* 5:273-276.
- Lawson SN, May MK, Williams TH (1977) Prenatal neurogenesis in the septal region of the rat. *Brain Res* 129:147-151.
- Leah JD, Herdegen T, Bravo R (1991) Selective expression of Jun proteins following axotomy and axonal transport block in peripheral nerves in the rat: evidence for a role in the regeneration process. *Brain Res* 566:198-207.

- Leah JD, Herdegen T, Murashov A, Dragunow M, Bravo R (1993) Expression of immediate early gene proteins following axotomy and inhibition of axonal transport in the rat central nervous system. *Neurosci* 57:53-66.
- Leanza G, Nikkhah G, Nilsson OG, Wiley RG, Björklund A (1996) Extensive re-innervation of the hippocampus by embryonic basal forebrain cholinergic neurons grafted into the septum of neonatal rats with selective cholinergic lesions. *J Comp Neurol* 373:355-370.
- Lee K-F, Bachman K, Landis S, Jaenisch R (1994) Dependence on p75 for innervation of some sympathetic targets. *Science* 263:1447-1449.
- Lee K-F, Li E, Huber J, Landis SC, Sharpe AH, Chao MV, Jaenisch R (1992) Targeted mutation of the gene encoding the low affinity NGF receptor p75 leads to deficits in the peripheral sensory nervous system. *Cell* 69:737-749.
- Lee M-Y, Deller T, Kirsch M, Frotsche M, Hofmann H-D (1997a) Differential regulation of ciliary neurotrophic factor (CNTF) and CNTF receptor α expression in astrocytes and neurons of the fascia dentata after entorhinal cortex lesion. *J Neurosci* 17:1137-1146.
- Lee M-Y, Naumann T, Kirsch M, Frotscher M, Hofmann H-D (1997b) Transient up-regulation of ciliary neurotrophic factor receptor α mRNA in axotomized rat septal neurons. *Eur J Neurosci* 9:622-626.
- Leibrock J, Lottspeich F, Hohn F, Hofer M, Hengerer B, Masiakowski P, Thoenen H, Barde Y-A (1989) Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature* 341:149-152.
- Levi-Montalcini R (1987) The nerve growth factor 35 years later. *Science* 237:1154-1162.
- Levi-Montalcini R, Angeletti PU (1968) Nerve growth factor. *Physiol Rev* 48:534-569.
- Levi-Montalcini R, Skaper SD, Dal Toso R, Petrelli L, Leon A (1996) Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokine. *TINS* 19:514-519.
- Li D, Field PM, Raisman G (1995) Failure of axon regeneration in postnatal rat entorhino-hippocampal slice coculture is due to maturation of the axon, not that of the pathway or target. *Eur J Neurosci* 7:1164-1171.
- Li D, Field PM, Raisman G (1996) Connectional specification of regenerating entorhinal projection neuron classes cannot be overridden by altered target availability in postnatal organotypic slice co-culture. *Exp Neurol* 142:151-160.
- Li D, Field PM, Yoshioka N, Raisman G (1994) Axons regenerate with correct specificity in horizontal slice culture of the postnatal rat entorhino-hippocampal system. *Eur J Neurosci* 6:1026-1037.
- Li L, Oppenheim RW, Milligan CE (2001) Characterization of the execution pathway of developing motoneurons deprived of trophic support. *J Neurobiol* 46:249-264.
- Li M, Sendtner M, Smith A (1995) Essential function of LIF receptor in motor neurons. *Nature* 378:724-727.

- Li Y, Field PM, Raisman G (1998) Regeneration of adult rat corticospinal axons induced by transplanted olfactory ensheathing cells. *J Neurosci* 18:10514-10524.
- Li Y, Field PM, Raisman G (1997) Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells. *Science* 277:2000-2002.
- Li Y, Raisman G (1993) Long axon growth from embryonic neurons transplanted into myelinated tracts of the adult rat spinal cord. *Brain Res* 629:115-127.
- Li Y, Raisman G (1997) Integration of transplanted cultured Schwann cells into long myelinated fiber tracts of the adult spinal cord. *Exp Neurol* 145:397-411.
- Li Y, Holtzman DM, Kromer LF, Kaplan DR, Chua-Couzens J, Clary DO, Knüsel B, Mobley WC (1995) Regulation of TrkA and ChAT expression in the developing rat basal forebrain: evidence that both exogenous and endogenous NGF regulate differentiation of cholinergic neurons. *J Neurosci* 15:2888-2905.
- Lieberman AR (1971) The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. *Int Rev Neurobiol* 14:49-134.
- Liebl DJ, Tessarollo L, Palko ME, Parada LF (1997) Absence of sensory neurons before target innervation in brain-derived neurotrophic factor-, neurotrophin 3-, and TrkC-deficient embryonic mice. *J Neurosci* 17:9113-9121.
- Liepinsh E, Illag LL, Otting G, Ibáñez CF (1997) NMR structure of the death domain of the p75 neurotrophin receptor. *EMBO J* 16:4999-5005.
- Lin LF, Mismar D, Lile JD, Armes LG, Butler III ET, Vannice JL, Collins F (1989) Purification, cloning, and expression of ciliary neurotrophic factor (CNTF). *Science* 246:1023-1025.
- Lindholm D, Castrén M, Hengerer B, Leingärtner A, Castrén E, Thoenen H (1994) Glucocorticoids and neurotrophin gene regulation in the nervous system. *Ann NY Acad Sci* 746:195-203.
- Linke R, Frotscher M (1993) Development of the rat septohippocampal projection: tracing with Dil and electron microscopy of identified growth cones. *J Comp Neurol* 332:69-88.
- Linke R, Schwegler H, Boldyreva M (1994) Cholinergic and GABAergic septo-hippocampal projection neurons in mice: a retrograde tracing study combined with double immunocytochemistry for choline acetyltransferase and parvalbumin. *Brain Res* 653:73-80.
- Linker RA, Mäurer M, Gaupp S, Martini R, Holtmann B, Giess R, Rieckmann P, Lassmann H, Toyka KV, Sendtner M, Gold R (2002) CNTF is a major protective factor in demyelinating CNS disease : a neurotrophic cytokine as modulator in neuroinflammation. *Nat Med* 8:620-624.
- Lopez-Coviella I, Berse B, Krauss R, Thies RS, Blusztajn JK (2000) Induction and maintenance of the neuronal cholinergic phenotype in central nervous system by BMP-9. *Science* 289:313-316.

- Lu B, Buck CR, Dreyfus CF, Black IB (1989) Expression of NGF and NGF receptor mRNAs in the developing brain: evidence for local delivery and action of NGF. *Exp Neurol* 104:191-199.
- Lucidi-Phillipi CA, Clary DO, Reichardt LF, Gage FH (1996) TrkA activation is sufficient to rescue axotomized cholinergic neurons. *Neuron* 16:653-663.
- Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD (2000) Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature* 405:951-955.
- Maisonpierre PC, Belluscio L, Friedman B, Alderson RF, Wiegand SJ, Furth ME, Lindsay RM, Yancopoulos GD (1990a) NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron* 5:501-509.
- Maisonpierre PC, Belluscio L, Squinto S, Ip NY, Furth ME, Lindsay RM, Yancopoulos GD (1990b) Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science* 247:1446-1451.
- Majdan M, Lachance C, Gloster A, Aloyz R, Zeindler C, Bamji S, Bhakar A, Belliveau D, Fawcett J, Miller FD, Barker PA (1997) Transgenic mice expressing the intracellular domain of the p75 neurotrophin receptor undergo neuronal apoptosis. *J Neurosci* 17:6988-6998.
- Malik N, Kallestad JC, Gunderson NL, Austin SD, Neubauer MG, Ochs V, Marquardt H, Zarlring JM, Shoyab M, Wei CM (1989) Molecular cloning, sequence analysis, and functional expression of a novel growth regulator, oncostatin M. *Mol Cell Biol* 9:2847-2853.
- Manthorpe M, Skaper SD, Williams LR, Varon S (1986) Purification of adult rat sciatic nerve ciliary neurotrophic factor. *Brain Res* 367:282-286.
- Maranto AR (1982) Neuronal mapping: a photooxidation reaction makes Lucifer Yellow useful for electron microscopy. *Science* 217:953-955.
- Maricich SM, Gilmore EC, Herrup K (2001) The role of tangential migration in the establishment of mammalian cortex. *Neuron* 31:175-178.
- Marin O, Rubenstein JLR (2001) A long, remarkable journey: tangential migration in the telencephalon. *Nat Neurosci* 2:780-790.
- Marin O, Rubenstein JLR (2003) Cell migration in the forebrain. *Annu Rev Neurosci* 26:441-483.
- Martin A, Hofmann H-D, Kirsch M (2003) Glial reactivity in ciliary neurotrophic factor-deficient mice after optic nerve lesion. *J Neurosci* 23:5416-5424.
- Martin DL (1992) Synthesis and release of neuroactive substances by glial cells. *Glia* 5:81-94.
- Martinez-Serrano A, Hantzopoulos PA, Björklund A (1996) Ex vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic factor to the intact rat forebrain: neurotrophic effects on cholinergic neurons. *Eur J Neurosci* 8:727-735.

- Martinez-Serrano A, Lundberg C, Horellou P, Fischer W, Bentlage C, Campbell K, McKay RD, Mallet J, Björklund A (1995) CNS-derived neural progenitor cells for gene transfer of nerve growth factor to the adult rat brain: complete rescue of axotomized cholinergic neurons after transplantation into the septum. *J Neurosci* 15:5668-5680.
- Marty S, Berninger B, Carroll P, Thoenen H (1996) GABAergic stimulation regulates the phenotype of hippocampal interneurons through the regulation of brain-derived neurotrophic factor. *Neuron* 16:565-570.
- Marty S, da Penha Berzaghi M, Berninger B (1997) Neurotrophins and activity-dependent plasticity of cortical interneurons. *TINS* 20:198-202.
- Masu Y, Wolf E, Holtmann B, Sendtner M, Brem G, Thoenen H (1993) Disruption of the CNTF gene results in motor neuron degeneration. *Nature* 365:27-32.
- McAllister A, Katz L, Lo D (1999) Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22:295-318.
- McBride RL, Feringa ER, Garver MK, Williams JK Jr. (1989) Prelabeled red nucleus and sensorymotor cortex neurons of the rat survive 10 and 20 weeks after spinal cord transection. *J Neuropathol Exp Neurol* 48:568-576.
- McBride RL, Feringa ER, Smith BE (1988) The fate of prelabeled Clarke's column neurons after axotomy. *Exp Neurol* 102:236-243.
- McDonald NQ, Lapatto R, Murray-Rust J, Gunning J, Wlodawer A, Blundell TL (1991) New protein fold revealed by a 2.3-Å resolution crystal structure of nerve growth factor. *Nature* 354:411-414.
- McLardy T (1955a) Observations on the fornix of the monkey. I. Cell studies. *J Comp Neurol* 103:305-326.
- McLardy T (1955b) Observations on the fornix of the monkey. II. Fiber studies. *J Comp Neurol* 103:327-344.
- Mesulam M-M, Geula C, Moran MA (1987) Anatomy of cholinesterase inhibition in Alzheimer's disease: effect of physostigmine and tetrahydroaminoacridine on plaques and tangles. *Ann Neurol* 22:683-691.
- Mesulam M-M, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neurosci* 10:1185-1201.
- Milner TA, Kurucz OS, Veznedaroglu E, Pierce JP (1995) Septohippocampal neurons in the rat septal complex have substantial glial coverage and receive direct contacts from noradrenaline terminals. *Brain Res* 670:121-136.
- Milner TA, Loy R, Amaral DG (1983) An anatomical study of the development of the septo-hippocampal projection in the rat. *Dev Brain Res* 8:343-371.
- Milner TA, Prince SR (1998) Parvalbumin immunoreactive neurons in the rat septal complex have substantial glial coverage and receive few direct contacts from catecholaminergic terminals. *J Neurosci Res* 52:723-735.

- Miranda RC, Sohrabji F, Toran-Allerand D (1993) Neuronal colocalization of mRNAs for neurotrophins and their receptors in the developing central nervous system suggests a potential for autocrine interactions. *PNAS* 90:6439-6443.
- Miyamoto M, Kato J, Narumi S, Nagaoka A (1987) Characteristics of memory impairment following lesioning of the basal forebrain and medial septal nucleus in rats. *Brain Res* 419:19-31.
- Mobley WC, Rutkowski JL, Tennekoon GI, Gemski J, Buchanan K, Johnston MV (1986) Nerve growth factor increases choline acetyltransferase activity in developing basal forebrain neurons. *Mol Brain Res* 1:53-62.
- Mocchetti I, Spiga G, Hayes VY, Isackson PJ, Colangelo A (1996) Glucocorticoids differentially increase nerve growth factor and basic fibroblast growth factor expression in the rat brain. *J Neurosci* 16:2141-2148.
- Montero CN, Hefti F (1988) Rescue of lesioned septal cholinergic neurons by nerve growth factor: specificity and requirement for chronic treatment. *J Neurosci* 8:2986-2999.
- Morse JK, Wiegand SJ, Anderson K, You Y, Cai N, Carnahan J, Miller J, DiStefano PS, Altar CA, Lindsay RM, Alderson RF (1993) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents the degeneration of medial septal cholinergic neurons following fimbria transection. *J Neurosci* 13:4146-4156.
- Mufson EJ, Counts SE, Ginsberg SD (2002) Gene expression profiles of cholinergic nucleus basalis neurons in Alzheimer's disease. *Neurochem Res* 27:1035-1048.
- Mufson EJ, Kordower JH (1992) Cortical neurons express nerve growth factor receptors in advanced age and Alzheimer's disease. *PNAS* 89:569-573.
- Nadarajah B, Brunstrom JE, Grutzendler J, Wong RO, Pearlman AL (2001) Two modes of radial migration in early development of the cerebral cortex. *Nat Neurosci* 4:143-150.
- Nagata S (1989) Gene structure and function of granulocyte colony-stimulating factor. *Bioessays* 10:113-117.
- Nakatomi H, Kurio T, Okabe S, Yamamoto S-i, Hatano O, Kawahara N, Tamura A, Kirino T, Nakafuko M (2002) Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell* 110:429-441.
- Naumann T, Casademunt E, Hollerbach E, Hofmann J, Dechant G, Frotscher M, Barde Y-A (2002) The complete deletion of the neurotrophin receptor p75^{NTR} leads to long-lasting increases in the number of basal forebrain neurons. *J Neurosci* 22:2409-2418.
- Naumann T, Deller T, Frotscher M (1996) Multiple projections are unlikely to account for the survival of rat medial septal neurons after axotomy. *Neurosci Lett* 211:117-120.
- Naumann T, Härtig W, Frotscher M (2000) Retrograde tracing with FLUORO-GOLD: different methods of tracer detection at the ultrastructural level and neurodegenerative changes of back-filled neurons in long-term studies. *J Neurosci Meth* 103:11-21.

- Naumann T, Kermer P, Frotscher M (1994a) Fine structure of rat septohippocampal neurons: III. Recovery of choline acetyltransferase immunoreactivity after fimbria-fornix transection. *J Comp Neurol* 350:161-170.
- Naumann T, Kermer P, Seydewitz V, Ortman R, D'Amato F, Frotscher M (1994b) Is there a long-lasting effect of a short-term nerve growth factor application on axotomized rat septohippocampal neurons? *Neurosci Lett* 173:213-215.
- Naumann T, Linke R, Frotscher M (1992a) Fine structure of rat septohippocampal neurons: I. Identification of septohippocampal projection neurons by retrograde tracing combined with electron microscopic immunocytochemistry and intracellular staining. *J Comp Neurol* 325:207-218.
- Naumann T, Peterson GM, Frotscher M (1992b) Fine structure of rat septohippocampal neurons: II. A time course analysis following axotomy. *J Comp Neurol* 325:219-242.
- Naumann T, Schnell O, Zhi Q, Kirsch M, Schubert O, Sendtner M, Hofmann H-D (2003) Endogenous ciliary neurotrophic factor protects GABAergic, but not cholinergic, septohippocampal neurons following fimbria-fornix transection. *Brain Pathol* 13:309-321.
- Naumann T, Steup A, Schnell O, Schubert KO, Zhi Q, Guijarro C, Kirsch M, Hofmann H-D (2006) Altered neuronal responses and regulation of neurotrophic proteins following fimbria-fornix transection in the medial septum of CNTF- and LIF-deficient mice. *Eur J Neurosci* 24:2223-2232.
- Naumann T, Straube A, Frotscher M (1997) Recovery of ChAT immunoreactivity in axotomized rat cholinergic septal neurons despite reduced NGF receptor expression. *Eur J Neurosci* 9:1340-1349.
- Nilsson AS, Fainzilber M, Falck P, Ibáñez CF (1998) Neurotrophin-7: a novel member of the neurotrophin family from zebrafish. *FEBS Lett* 424:285-290.
- Nishio T, Akiguchi I, Furukawa S (1992) Detailed distribution of nerve growth factor in rat brain determined by a highly sensitive enzyme immunoassay. *Exp Neurol* 116:76-84.
- Nishio T, Furukawa S, Akiguchi I, Oka N, Ohnishi K, Tomimoto H, Nakamura S, Kimura J (1994) Cellular localization of nerve growth factor-like immunoreactivity in adult rat brain: quantitative and immunohistochemical study. *Neurosci* 60:67-84.
- Nottebohm F (2002) Why are some neurons replaced in adult brain? *J Neurosci* 22:624-628.
- O'Brien TS, Svendsen CN, Isacson O, Sofroniew MV (1990) Loss of true blue labelling from the medial septum following transection of the fimbria-fornix: evidence for the death of cholinergic and non-cholinergic neurons. *Brain Res* 508:249-256.
- Oderfeld-Nowak B, Bacia A (1994) Expression of astroglial nerve growth factor in damaged brain. *Acta Neurobiol Exp* 54:73-80.
- Oppenheim RW (1991) Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 14:453-501.

- Oppenheim RW, Flavell RA, Vinsant S, Prevet D, Kuan C-Y, Rakic P (2001) Programmed cell death of developing mammalian neurons after genetic depletion of caspases. *J Neurosci* 21:4752-4760.
- Oorschot DE, Jones DG (1990) Axonal regeneration in the mammalian central nervous system. *Advances in anatomy, embryology and cell biology: Vol. 119*. Springer-Verlag, Berlin.
- Oosawa H, Fujii T, Kawashima K (1999) Nerve growth factor increases the synthesis and release of acetylcholine and the expression of vesicular acetylcholine transporter in primary cultured rat embryonic septal cells. *J Neurosci Res* 57:381-387.
- Otto D, Frotscher M, Unsicker K (1989) Basic fibroblast growth factor and nerve growth factor administered in gel foam rescue medial septal neurons after fimbria fornix transection. *J Neurosci Res* 22:83-91.
- Panni MK, Atkinson J, Sofroniew MV (1999) Leukaemia inhibitory factor prevents loss of p75-nerve growth factor receptor immunoreactivity in medial septal neurons following fimbria-fornix lesions. *Neurosci* 89:1113-1121.
- Pascual M, Rocamora N, Acsády L, Freund TF, Soriano E (1998) 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* 365:73-90.
- Patel TD, Jackman A, Rice FL, Kucera J, Snider WD (2000) Development of sensory neurons in the absence of NGF/TrkA signalling in vivo. *Neuron* 25:345-357.
- Patterson PH (1992) The emerging neuropoietic cytokine family : first CDF/LIF, CNTF and IL-6; next ONC, MGF, GCSF ? *Curr Opin Neurobiol* 2:94-97.
- Pencea V, Bingaman KD, Wiegand SJ, Luskin MB (2001) 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* 21:6706-6717.
- Peterson DA, Dickinson-Anson HA, Leppert JT, Lee K-F, Gage FH (1999) Central neuronal loss and behavioral impairment in mice lacking neurotrophin receptor p75. *J Comp Neurol* 404:1-20.
- Peterson DA, Leppert JT, Lee K-F, Gage FH (1997) Basal forebrain neuronal loss in mice lacking neurotrophin receptor p75. *Science* 277:837-838.
- Peterson GM (1989) A quantitative analysis of the crossed septohippocampal projection in the rat brain. *Anat Embryol* 180:421-425.
- Peterson GM (1994) Differential projections to the hippocampus by neurons of the medial septum and vertical limb of the diagonal band. *Brain Res* 646:129-134.
- Peterson GM, Lanford GW, Powell EW (1990) Fate of septohippocampal neurons following fimbria-fornix transection: a time course analysis. *Brain Res Bull* 25:129-137.

- Peterson GM, Naumann T, Frotscher M (1992) Identified septohippocampal neurons survive axotomy: a fine-structural analysis in the rat. *Neurosci Lett* 138:81-85.
- Peterson GM, Naumann T, Frotscher M (1993) Light- and electron microscopic studies of identified septohippocampal neurons surviving axotomy. *Ann NY Acad Sci* 679:291-298.
- Phillips HS, Hains JM, Laramée GR, Rosenthal A, Winslow JW (1990) Widespread expression of BDNF but not NT3 by target areas of basal forebrain cholinergic neurons. *Science* 250:290-294.
- Piñon LGP, Minichiello L, Klein R, Davies AM (1996) Timing of neuronal death in *trkA*, *trkB*, and *trkC* mutant embryos reveals developmental changes in sensory neuron dependence on Trk signalling. *Dev* 122:3255-3261.
- Plaschke M, Kasper EM, Naumann T, Frotscher M (1994) Survival and transmitter expression of rat cholinergic medial septal neurons despite removal of hippocampus in the early postnatal period. *Neurosci Lett* 176:243-246.
- Plaschke M, Naumann T, Kasper E, Bender R, Frotscher M (1997) Development of cholinergic and GABAergic neurons in the rat medial septum: effect of target removal in early postnatal development. *J Comp Neurol* 379:467-481.
- Poo M-m (2001) Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2:24-32.
- Popratiloff AS, Neiss WF, Skouras E, Streppel M, Guntinas-Lichius O, Angelov DN (2001) Evaluation of muscle re-innervation employing pre- and post-axotomy injections of fluorescent retrograde tracers. *Brain Res Bull* 54:115-123.
- Price JL, Stern R (1983) Individual cells in the nucleus basalis-diagonal band complex have restricted axonal projections to the cerebral cortex in the rat. *Brain Res* 269:352-356.
- Qiu L, Towle MF, Bernd P, Fukada K (1997) Distribution of cholinergic neuronal differentiation factor/leukemia inhibitory factor binding sites in the developing and adult rat nervous system *in vivo*. *J Neurobiol* 32:163-192.
- Rabizadeh S, Bredesen DE (1994) Is p75^{NGFR} involved in developmental neural cell death? *Dev Neurosci* 16:207-211.
- Rabizadeh S, Oh J, Zhong LT, Yang J, Bitler CM, Butcher LL, Bredesen DE (1993) Induction of apoptosis by the low-affinity NGF receptor. *Science* 261:345-348.
- Radeke MJ, Misko TP, Hsu C, Herzenberg LA, Shooter EM (1987) Gene transfer and molecular cloning of the rat nerve growth factor receptor: *Nature* 325:593-597.
- Raisman G (1966) The connexions of the septum. *Brain* 89:317-348.
- Raisman G (1969) Neuronal plasticity in the septal nuclei of the adult rat. *Brain Res* 14:25-48.
- Raisman G, Cowan WM, Powell TPS (1966) An experimental analysis of the efferent projection of the hippocampus. *Brain* 89:83-108.

- Raisman G, Field PM (1973) A quantitative investigation of the development of collateral reinnervation after partial deafferentation of the septal nuclei. *Brain Res* 50:241-264.
- Rakic P (2002) Adult neurogenesis in mammals: an identity crisis. *J Neurosci* 22:614-618.
- Ramón y Cajal S (1928) *Degeneration and Regeneration in the nervous system*. Vol. I & II. New York: Hafner.
- Riccio A, Pierchala BA, Ciarallo CL, Ginty DD (1997) An NGF-TrkA-mediated retrograde signal to transcription factor CREB in sympathetic neurons. *Science* 277:1097-1100.
- Rocamora N, Palacios JM, Mengod G (1992) Limbic seizures induce a differential regulation of the expression of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3, in the rat hippocampus. *Mol Brain Res* 13:27-33.
- Rocamora N, Pascual M, Acsády L, de Lecea L, Freund TF, Soriano E (1996) Expression of NGF and NT-3 mRNAs in hippocampal interneurons innervated by the GABAergic septohippocampal pathway. *J Neurosci* 16:3991-4004.
- Rodriguez-Tébar A, Dechant G, Götz R, Barde Y-A (1992) Binding of neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *EMBO J* 11:917-922.
- Rose TM, Bruce AG (1991) Oncostatin M is a member of a cytokine family that includes leukemia inhibitory factor, granulocyte colony-stimulating factor, and interleukin 6. *PNAS* 88:8641-8645.
- Rosenthal A, Goeddel DV, Nguyen T, Lewis M, Shih A, Laramée GR, Nikolics K, Winslow JW (1990) Primary structure and biological activity of a novel human neurotrophic factor. *Neuron* 4:767-773.
- Rossi FM, Sala R, Maffei L (2002) Expression of the nerve growth factor receptors TrkA and p75^{NTR} in the visual cortex of the rat : development and regulation by the cholinergic input. *J Neurosci* 22:912-919.
- Rudkin BB, Lazarovici P, Levi B-Z, Abe Y, Fujita K, Guroff G (1989) Cell cycle-specific action of nerve growth factor in PC12 cells : differentiation without proliferation. *EMBO J* 8:3319-3325.
- Sahay A, Molliver ME, Ginty DD, Kolodkin AL (2003) Semaphorin 3F is critical for development of limbic system circuitry and is required in neurons for selective CNS axon guidance events. *J Neurosci* 23:6671-6680.
- Saporito MS, Carswell S (1995) High levels of synthesis and local effects of nerve growth factor in the septal complex of the adult rat. *J Neurosci* 15:2280-2286.
- Schambra UB, Sulik KK, Petrusz P, Lauder JM (1989) Ontogeny of cholinergic neurons in the mouse forebrain. *J Comp Neurol* 288:101-122.
- Schmued LC, Fallon JH (1986) Fluoro-Gold: a new fluorescent retrograde axonal tracer with numerous unique properties. *Brain Res* 377:147-154.

- Schmued LC, Kyriakidis K, Fallon JH, Ribak CE (1989) Neurons containing retrogradely transported Fluoro-Gold exhibit a variety of lysosomal profiles: a combined brightfield, fluorescence, and electron microscopic study. *J Neurocytol* 18:333-343.
- Schwab C, Brückner G, Mares V, Biesold D (1988) A combined method of acetylcholinesterase histochemistry and (H) thymidine autoradiography: application to neurogenesis of the rat basal forebrain cholinergic system. *Neurosci Lett* 90:69-70.
- Schwab ME (2002) Repairing the injured spinal cord. *Science* 295:1029-1031.
- Schwab ME, Otten U, Agid Y, Thoenen H (1979) Nerve growth factor (NGF) in the rat CNS: absence of specific retrograde axonal transport and tyrosine hydroxylase induction in locus coeruleus and substantia nigra. *Brain Res* 168:473-483.
- Scott J, Selby M, Urdea M, Quiroga M, Bell GI, Rutter WJ (1983) Isolation and nucleotide sequence of a cDNA encoding the precursor of mouse nerve growth factor. *Nature* 302:538-540.
- Seiler M, Schwab ME (1984) Specific retrograde transport of nerve growth factor (NGF) from neocortex to nucleus basalis in the rat. *Brain res* 300:33-39.
- Semba K, Fibinger HC (1988) Time of origin of cholinergic neurons in the rat basal forebrain. *J Comp Neurol* 269:87-95.
- Sendtner M, Carroll P, Holtmann B, Hughes RA, Thoenen H (1994) Ciliary neurotrophic factor. *J Neurobiol* 25:1436-1453.
- Sendtner M, Götz R, Holtmann B, Escary J-L, Masu Y, Carroll P, Wolf E, Brem G, Brûlet P, Thoenen H (1996) Cryptic physiological trophic support of motoneurons by LIF revealed by double gene targeting of CNTF and LIF. *Curr Biol* 6:686-694.
- Sendtner M, Götz R, Holtmann B, Thoenen H (1997) Endogenous ciliary neurotrophic factor is a lesion factor for axotomized motoneurons in adult mice. *J Neurosci* 17:6999-7006.
- Sendtner M, Kreutzberg GW, Thoenen H (1990) Ciliary neurotrophic factor prevents the degeneration of motor neurons after axotomy. *Nature* 345:440-441.
- Shelton DL, Reichardt LF (1984) Expression of the nerve growth factor gene correlates with the density of sympathetic innervation in the effector organs. *PNAS* 81:7951-7955.
- Shelton DL, Reichardt LF (1986) Studies on the expression of beta nerve growth factor (NGF) gene in the central nervous system: level and regional distribution of NGF mRNA suggest that NGF functions as a trophic factor for several distinct populations of neurons. *PNAS* 83:2714-2718.
- Shi B, Rabin SJ, Brandoli C, Mocchetti I (1998) Dexamethasone induces hypertrophy of developing medial septal cholinergic neurons: potential role of nerve growth factor. *J Neurosci* 18:9326-9334.
- Shimamura K, Rubenstein JLR (1999) Inductive interactions direct early regionalization of the mouse forebrain. *Dev* 124:2709-2718.

- Shimazaki T, Shingo T, Weiss S (2001) The ciliary neurotrophic factor/leukemia inhibitory factor/gp130 receptor complex operates in the maintenance of mammalian forebrain neural stem cells. *J Neurosci* 21:7642-7653.
- Singh B, Henneberger C, Betances D, Arevalo MA, Rodriguez-Tébar A, Meier JC, Grantyn R (2006) Altered balance of glutamatergic/GABAergic synaptic input and associated changes in dendrite morphology after BDNF expression in BDNF-deficient hippocampal neurons. *J Neurosci* 26:7189-7200.
- Shooter E (2001) Early days of the nerve growth factor proteins. *Annu Rev Neurosci* 24:601-629.
- Silos-Santiago I, Fagan AM, Garber M, Fritsch B, Barbacid M (1997) Severe sensory deficits but normal CNS development in newborn mice lacking TrkB and TrkC tyrosine protein kinase receptors. *Eur J Neurosci* 9:2045-2056.
- Simpson EM, Linder CC, Sargent EE, Davisson MT, Mobraaten LE, Sharp JJ (1997) Genetic variation among 129 substrains and its importance for targeted mutagenesis in mice. *Nat Genet* 16:19-27.
- Skene JHP (1989) Axonal growth-associated proteins. *Annu Rev Neurosci* 12:127-156.
- Smeyne RJ, Klein R, Schnapp A, Long LK, Bryant S, Lewin A, Lira SA, Barbacid M (1994) Severe sensory and sympathetic neuropathies in mice carrying a disrupted Trk/NGF receptor gene. *Nature* 368:246-249.
- Sobreviela T, Clary DO, Reichardt LF, Brandabur MM, Kordower JH, Mufson EJ (1994) TrkA-immunoreactive profiles in the central nervous system: colocalization with neurons containing p75 nerve growth factor receptor, choline acetyltransferase, and serotonin. *J Comp Neurol* 350:587-611.
- Sofroniew MV, Campbell PE, Cuello AC, Eckenstein F (1985) Central cholinergic neurons visualized by immunohistochemical detection of choline acetyltransferase. In G. Paxinos (ed): *The rat nervous system*. Vol. 1. Sydney, New York, London: Academic Press, pp. 471-485.
- Sofroniew MV, Cooper JD, Svendsen CN, Crossman P, Ip NY, Lindsay RM, Zafra F, Lindholm D (1993) Atrophy but not death of adult septal cholinergic neurons after ablation of target capacity to produce mRNAs for NGF, BDNF, and NT3. *J Neurosci* 13:5263-5276.
- Sofroniew MV, Eckenstein F, Thoenen H, Cuello AC (1982) Topography of choline acetyltransferase-containing neurons in the basal forebrain of the rat. *Neurosci Lett* 33:7-12.
- Sofroniew MV, Galletly NP, Isacson O, Svendsen CN (1990) Survival of adult basal forebrain cholinergic neurons after loss of target neurons. *Science* 247:338-342.
- Sofroniew MV, Howe CL, Mobley WC (2001) Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair. *Annu Rev Neurosci* 24:1217-1281.

- Sofroniew MV, Isacson O (1988) Distribution of degeneration of cholinergic neurons in the septum following axotomy in different portions of the fimbria-fornix: a correlation between degree of cell loss and proximity of neuronal somata to the lesion. *J Chem Neuroanat* 1:327-337.
- Sofroniew MV, Pearson RCA, Isacson O, Björklund A (1986) Experimental studies on the induction and prevention of retrograde degeneration of basal forebrain cholinergic neurons. *Progr Brain Res* 70:363-389.
- Sofroniew MV, Pearson RCA, Powell TPS (1987) The cholinergic nuclei of the basal forebrain of the rat: normal structure, development and experimentally induced degeneration. *Brain Res* 411:310-331.
- Soppet D, Escandon E, Maragos J, Middlemas DS, Reid SW, Blair J, Burton LE, Stanton BR, Kaplan DR, Hunter T, Nikolics K, Parada LF (1991) The neurotrophic factors brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 are ligands for the *trkB* tyrosine kinase receptor. *Cell* 65:895-903.
- Squinto SP, Aldrich TH, Lindsay RM, Morrissey DM, Panayotatos N, Bianco SM, Furth ME, Yancopoulos GD (1990) Identification of functional receptors for ciliary neurotrophic factor on neuronal cell lines and primary neurons. *Neuron* 5:757-766.
- Squinto SP, Stitt TN, Aldrich TH, Davis S, Bianco SM, Radziejewski C, Glass DJ, Masiakowski P, Furth ME, Valenzuela DM, DiStefano PS, Yancopoulos GD (1991) *trkB* encodes a functional receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 but not nerve growth factor. *Cell* 65:885-893.
- Stahl N, Yancopoulos GD (1994) The tripartite CNTF receptor complex: activation and signaling involves components shared with other cytokines. *J Neurobiol* 25:1454-1466.
- Steininger TL, Wainer BH, Klein R, Barbacid M, Palfrey HC (1993) High-affinity nerve growth factor receptor (Trk) immunoreactivity is localized in cholinergic neurons of the basal forebrain and striatum in the adult rat brain. *Brain Res* 612:330-335.
- Stephan H (1975) Allocortex. in: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, IV/9. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag.
- Stichel CC, Müller HW (1998) The CNS lesion scar: new vistas on an old regeneration barrier. *Cell Tiss Res* 294:1-9.
- Stichel CC, Niermann H, D'Urso D, Lausberg F, Hermanns S, Müller HW (1999) Basal membrane-depleted scar in lesioned CNS: characteristics and relationship with regenerating axons. *Neurosci* 93:321-333.
- Stöckli KA, Lottspeich F, Sendtner M, Masiakowski P, Carroll P, Götz R, Lindholm D, Thoenen H (1989) Molecular cloning, expression and regional distribution of rat ciliary neurotrophic factor. *Nature* 342:920-923.
- Strohmaier C, Carter BD, Urfer R, Barde Y-A, Dechant G (1996) A splice variant of the neurotrophin receptor *trkB* with increased specificity for brain-derived neurotrophic factor. *EMBO J* 15:3332-3337.

- Sutter A, Riopelle RJ, Harris-Warwick RM, Shooter EM (1979) The heterogeneity of nerve growth factor receptors. *Prog Clin Biol Res* 31:659-667.
- Svendsen CN, Kew JNC, Staley K, Sofroniew MV (1994) Death of developing septal cholinergic neurons following NGF withdrawal in vitro: protection by protein synthesis inhibition. *J Neurosci* 14:75-87.
- Svendsen CN, Sofroniew MV (1996) Do central nervous system neurons require target-derived neurotrophic support for survival throughout adult life and aging? *Perspect Dev Neurobiol* 3:133-142.
- Swanson LW, Cowan WM (1976) Autoradiographic studies of the development and connections of the septal area in the rat. In J. F. DeFrance (ed): *The Septal Nuclei*. New York: Plenum Press, pp. 37-64.
- Swanson LW, Cowan WM (1979) The connections of the septal region in the rat. *J Comp Neurol* 186:621-656.
- Swanson LW, Köhler C, Björklund A (1987) The limbic region. I: The septohippocampal system. In A. Björklund, T. Hökfelt, and L. W. Swanson (eds): *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol. 5: Integrated Systems of the CNS, Part 1*. Amsterdam: Elsevier, pp. 125-277.
- Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T (1989) Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 58:573-581.
- Taga T, Kishimoto T (1992) Cytokine receptors and signal transduction. *FASEB J* 6:3387-3396.
- Takei N, Kuramoto H, Endo Y, Hatanaka H (1997) NGF and BDNF increase the immunoreactivity of vesicular acetylcholine transporter in cultured neurons from the embryonic rat septum. *Neurosci Lett* 226:207-209.
- Thal LJ, Gilbertson E, Armstrong DM, Gage FH (1991) Development of the basal forebrain cholinergic system: phenotype expression prior to target innervation. *Neurobiol Aging* 13:67-72.
- Thanos S (1997) Neurobiology of the regenerating retina and its functional reconnection with the brain by means of peripheral nerve transplants in adult rats. *Surv Ophthalmol* 42 Suppl 1:S5-26.
- Thanos S, Mey J (1995) Type-specific stabilization and target-dependent survival of regenerating ganglion cells in the retina of adult rats. *J Neurosci* 15:1057-1079.
- Thanos S, Mey J, Wild M (1993) Treatment of the adult retina with microglia-suppressing factors retards axotomy-induced neuronal degradation and enhances axonal regeneration in vivo and in vitro. *J Neurosci* 13:455-466.
- Thanos S, Naskar R, Heiduschka P (1997) Regenerating ganglion cell axons in the adult rat establish retinofugal topography and restore visual function. *Exp Brain Res* 114:483-491.

- Thoenen H (1995) Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 270:593-598.
- Thoenen H, Barde Y-A (1980) Physiology of nerve growth factor. *Physiol Rev* 60:1284-1335.
- Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R (1987) The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: comparison with the periphery. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 109:145-178.
- Thoenen H, Sendtner M (2002) Neurotrophins: from enthusiastic expectations through sobering experiences to rational therapeutic approaches. *Nat Neurosci* 5:1046-1050.
- Titmus MJ, Faber DS (1990) Axotomy-induced alterations in the electrophysiological characteristics of neurons. *Prog Neurobiol* 35:1-51.
- Toran-Allerand CD (2000) Novel sites and mechanisms of estrogen action in the brain. *Novartis Found Symp* 230:56-69.
- Toran-Allerand CD, Singh M, Sétáló jr G (1999) Novel mechanisms of estrogen action in the brain: new players in an old story. *Front Neuroendocrin* 20:97-121.
- Torcia M, Bracci-Laudiero L, Lucibello M, Nencioni L, Labardi D, Rubartelli A, Cozzolino F, Aloe L, Garaci E (1996) Nerve growth factor is an autocrine survival factor for memory B lymphocytes. *Cell* 85:345-356.
- Tóth K, Borhegyi Z, Freund TF (1993) Postsynaptic targets of GABAergic hippocampal neurons in the medial septum-diagonal band of Broca complex. *J Neurosci* 13:3712-3724.
- Tucker KL, Meyer M, Barde Y-A (2001) Neurotrophins are required for nerve growth during development. *Nat Neurosci* 4:29-37.
- Tunncliffe G, Wimer CC, Wimer RE (1973) Relationship between neurotransmitter metabolism and behaviour in seven inbred strains of mice. *Brain Res* 61:428-434.
- Turnley AM, Bartlett PF (2000) Cytokines that signal through the leukemia inhibitory factor receptor- β complex in the nervous system. *J Neurochemistry* 74:889-899.
- Tuszynski M, Armstrong DA, Gage FH (1990) Basal forebrain cell loss following fimbria/fornix transection. *Brain Res* 508:241-248.
- Urdiales JL, Becker E, Andrieu M, Thomas A, Jullien J, van Grunsven LA, Menut S, Evan GI, Martin-Zanca D, Rudkin BB (1998) Cell cycle phase-specific surface expression of nerve growth factor receptors TrkA and p75^{NTR}. *J Neurosci* 18:6767-6775.
- Van der Zee CE, Hagg T (2002) Delayed NGF infusion fails to reverse axotomy-induced degeneration of basal forebrain cholinergic neurons in adult p75(LNTR)-deficient mice. *Neurosci* 110:641-651.
- Van der Zee CEEM, Ross GM, Riopelle RJ, Hagg T (1996) Survival of cholinergic fore-brain neurons in developing p75^{NGFR}-deficient mice. *Science* 274:1729-1732.

- van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH (2002) Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 415:1030-1034.
- Van Snick (1990) Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* 8:253-278.
- Vantini G, Schiavo N, Di Martino A, Polato P, Triban C, Callegaro L, Toffano G, Leon A (1989) Evidence for a physiological role of nerve growth factor in the central nervous system of neonatal rats. *Neuron* 3:267-273.
- Varga C, Härtig W, Grosche J, Keijser J, Luiten PMG, Seeger J, Brauer K, Harkany T (2003) Rabbit forebrain cholinergic system: morphological characterization of nuclei and distribution of cholinergic terminals in the cerebral cortex and hippocampus. *J Comp Neurol* 460:597-611.
- Venero JL, Knüsel B, Beck KD, Hefti F (1994) Expression of neurotrophin and *trk* receptor genes in adult rats with fimbria transections : effects of intraventricular nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor administration. *Neurosci* 59:797-815.
- Virgili M, Contestabile A, Barnabei O (1991) Postnatal maturation of cholinergic markers in forebrain regions of C57BL/6 mice. *Dev Brain Res* 63:281-285.
- von Schack D, Casademunt E, Schweigreiter R, Meyer M, Bibel M, Dechant G (2001) Complete ablation of the neurotrophin receptor p75^{NTR} causes defects both in the nervous and the vascular system. *Nat Neurosci* 4:977-978.
- Wahlsten D (1982) Deficiency of corpus callosum varies with strain and supplier of the mice. *Brain Res* 239:329-347.
- Wahlsten D, Bulman-Fleming B (1994) Retarded growth of the medial septum : a major gene effect in acallosal mice. *Dev Brain Res* 77:203-214.
- Ward NL, Hagg T (1999) p75^{NGFR} and cholinergic neurons in the developing forebrain : a re-examination. *Dev Brain Res* 118:79-91.
- Wardle RA, Poo M-m (2003) Brain-derived neurotrophic factor modulation of GABAergic synapses by postsynaptic regulation of chloride transport. *J Neurosci* 23:8722-8732.
- Weiser M, Baker H, Joh TH (1994) Gene expression in central cholinergic neurons in response to axotomy and deafferentation. *Synapse* 16:81-92.
- Weskamp G, Gasser UE, Dravid AR, Otten U (1986) Fimbria-fornix lesion increases nerve growth factor content in adult rat septum and hippocampus. *Neurosci Lett* 70:121-126.
- Wetmore C, Ernfors P, Persson H, Olson L (1990) Localization of brain-derived neurotrophic factor mRNA to neurons in the brain by *in situ* hybridization. *Exp Neurol* 109:141-152.
- White FA, Silos-Santiago I, Molliver DC, Nishimura M, Phillips H, Barbacid M, Snider WD (1996) Synchronous onset of NGF and TrkA survival dependence in developing dorsal root ganglia. *J Neurosci* 16:4662-4672.

- Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR (1982) Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 215:1237-1239.
- Whittemore SR, Ebendal T, Lärkfors L, Olson L, Seiger Å, Strömberg I, Persson H (1986) Developmental and regional expression of b nerve growth factor messenger RNA and protein in the rat central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:817-821.
- Whittemore SR, Seiger A (1987) The expression, localization and functional significance of β -nerve growth factor in the central nervous system. *Brain Res Rev* 12:439-464.
- Wichterle H, Lieberam I, Porter JA, Jessell TM (2002) Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons. *Cell* 110:385-397.
- Widmer HR, Knüsel B, Hefti F (1993) BDNF protection of basal forebrain cholinergic neurons after axotomy: complete protection of p75NGFR-positive cells. *Neuroreport* 4:363-366.
- Williams LR, Varon S, Peterson GM, Victorin K, Fischer W, Björklund A, Gage FH (1986) Continuous infusion of nerve growth factor prevents basal forebrain neuronal death after fimbria fornix transaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:9231-9235.
- Witter MP, Daelmans HE, Jorritsma-Byham B, Staiger JF, Wouterlood FG (1992) Restricted origin and distribution of projections from the lateral to the medial septal complex in rat and guinea pig. *Neurosci Lett* 148:164-168.
- Wright DE, Zhou L, Kucera J, Snider WD (1997) Introduction of a neurotrophin-3 transgene into muscle selective rescues proprioceptive neurons in mice lacking endogenous neurotrophin-3. *Neuron* 19:503-517.
- Woodhams PL, Atkinson DJ, Raisman G (1993) Rapid decline in the ability of entorhinal axons to innervate the dentate gyrus with increasing time in organotypic co-culture. *Eur J Neurosci* 5:1596-1609.
- Wu P, Tarasenko YI, Gu Y, Huang L-YM, Coggeshall RE, Yu Y (2002) Region-specific generation of cholinergic neurons from fetal human neural stem cells grafted in adult rat. *Nat Neurosci* 5:1271-1278.
- Yamamori T, Fukada K, Aebersold R, Korsching S, Fann MJ, Patterson PH (1989) The cholinergic neuronal differentiation factor from heart cells is identical to leukemia inhibitory factor. *Science* 246:1412-1416.
- Yan Q, Radeke MJ, Matheson CR, Talvenheimo J, Welcher AA, Feinstein SC (1997) Immunocytochemical localization of TrkB in the central nervous system of the adult rat. *J Comp Neurol* 378:135-157.
- Yano H, Lee FS, Kong H, Chuang J-Z, Arevalo JC, Perez P, Sung C-H, Chao MV (2001) Association of Trk neurotrophin receptors with components of the cytoplasmic dynein motor. *J Neurosci* 21:RC125.

- Yeo TT, Chua-Couzens J, Butcher LL, Bredesen DE, Cooper JD, Valetta JS, Mobley WC, Longo FM (1997) Absence of p75^{NTR} causes increased basal forebrain cholinergic neuron size, choline acetyltransferase activity, and target innervation. *J Neurosci* 17:7594-7605.
- Yoon SO, Casaccia-Bonofil P, Carter B, Chao MV (1998) Competitive signaling between TrkA and p75 nerve growth factor receptors determines cell survival. *J Neurosci* 18:3273-3281.
- Zafra F, Castrén E, Thoenen H, Lindholm D (1991) Interplay between glutamate and gamma-aminobutyric acid transmitter systems in the physiological regulation of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor synthesis in hippocampal neurons. *PNAS* 88:10037-10041.
- Zafra F, Hengerer B, Leibrock J, Thoenen H, Lindholm D (1990) Activity dependent regulation of BDNF and NGF mRNAs in the rat hippocampus is mediated by non-NMDA glutamate receptors. *EMBO J* 9:3545-3550.
- Zagrebelsky M, Holz A, Dechant G, Barde Y-A, Bonhoeffer T, Korte M (2005) The p75 neurotrophin receptor negatively modulates dendrite complexity and spine density in hippocampal neurons. *J Neurosci* 25:9989-9999.
- Zhang X, Poo M-m (2002) Localized synaptic potentiation by BDNF requires local protein synthesis in the developing axon. *Neuron* 36:675-688.

8. Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. M. Frotscher (Freiburg) für die Betreuung und Unterstützung über einen langen Zeitraum hinweg bedanken. Sein wissenschaftliches Engagement und das Interesse an meinen Arbeiten hat über die Promotion zur nun vorliegenden Habilitationsschrift geführt.

Herrn Prof. Dr. R. Nitsch danke ich für die jetzige Unterstützung am neuen Arbeitsort Berlin sowie für die Hilfe bei der Durchführung meiner Habilitation.

Die ersten Arbeiten am septohippokampalen System sind in enger Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Eberhard Buhl (Oxford) sowie Herrn Prof. Dr. Gary M. Peterson (Greenville, NC) entstanden. Beide sind inzwischen auf tragische Weise verstorben; ihre initiale Unterstützung für das Erlernen verschiedenster Techniken einschließlich vieler wissenschaftlicher Diskussionen war unverzichtbare Voraussetzung für das Gelingen der Promotion sowie der späteren Weiterentwicklung der Projekte.

Herrn Prof. Dr. Hans-Dieter Hofmann (Freiburg) danke ich für die vielen anregenden Diskussionen über Jahre hinweg. Daraus sind mehrere Projekte entstanden und wir konnten inzwischen in gemeinsamen Publikationen zeigen, daß im septohippokampalen System neben den Neurotrophinen u. a. auch Zytokine eine bedeutende Rolle spielen. Dafür und für das Lesen der Habilitationsschrift gilt mein besonderer Dank.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen ehemaligen Doktoranden bedanken. Ohne sie wären viele Arbeiten so nicht entstanden und es hat Spaß gemacht, mit ihnen zu arbeiten: Dr. Pawel Kermer, Dr. Ewald Hollerbach, Dr. Beate Häge, Dr. Oliver Schnell und Dr. Oliver Schubert.

Gleiches gilt für drei ehemalige Mitarbeiter des Freiburger Anatomischen Instituts: Dr. Angela Straube, Dr. Roland Bender, Prof. Dr. Thomas Deller.

Weiterhin möchte ich mich bei folgenden MTAs für deren engagierte Mitarbeit bedanken: Frau Anikö Schneider, Frau Barbara Joch, Frau Heika Hildebrandt sowie Frau Jutta Hofmann.

Schließlich bedanke ich mich bei allen anderen Mitarbeitern des Freiburger Anatomischen Institutes für die geleistete Unterstützung sowie bei meiner Lebenspartnerin Karin Kömpf.

9. Originalarbeiten