

Technische Universität München, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Klinikum rechts der Isar (Direktion: Prof. Dr. Gerhard Schneider)

Ursachen für geschlechtsspezifische Unterschiede im transgenen Alzheimer Mausmodell Tg2576

Sebastian Bratke

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Jürgen Schlegel

Prüfende/-r der Dissertation:

1. Prof. Dr. Bettina Jungwirth

2. Priv.-Doz. Dr. Frauke Neff

Die Dissertation wurde am 23.07.2020 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 16.02.2021 angenommen.

Ursachen für geschlechtsspezifische Unterschiede im transgenen Alzheimer Mausmodell Tg2576

von
Sebastian Bratke

München 2020

gewidmet meiner Familie
und
in Gedenken an meinen Großvater

„Luminous beings are we, not this crude matter.“

- Yoda, *The Empire Strikes Back*

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1 Die Alzheimer-Erkrankung	7
1.1.1 Epidemiologie	7
1.1.2 Pathophysiologie	8
1.1.2.1 Amyloid-Peptide (A β 42)	8
1.1.2.2 Tau-Protein	13
1.1.2.3 Inflammation (TNF- α)	15
1.1.2.4 Veränderung der Neurotransmission (mGluR5) und der Langzeitpotenzierung (NR2B).....	16
1.1.2.5 Oxidativer Stress (Kaspase-3).....	17
1.1.3 Klinischer Verlauf und Risikofaktoren	19
1.1.4 Alzheimer und Geschlecht	20
1.2 Das transgene Mausmodell Tg2576	21
2. Zielsetzung.....	24
3. Material und Methoden	25
3.1 Versuchstiere	25
3.1.1 Herkunft und Haltung.....	25
3.1.2 Versuchsorganisation	26
3.1.3 Modifizierter Hole-Board-Test.....	26
3.1.4 Probenentnahme und -aufbereitung.....	27
3.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	28
3.2.1 Proteinaufbereitung und Konzentrationsbestimmung	28
3.2.2 Proteinauftragung, -trennung und -markierung.....	29
3.2.3 Bestimmung der A β -Konzentration	30
3.3 Methoxy-X04-Färbung	30
3.3.1 Vorbereitung.....	30
3.3.2 Plauefärbung.....	32

3.3.3	Floureszenzmikroskopische Untersuchung.....	32
3.3.4	Bearbeitung und Auswertung der Rohdaten	33
3.4	Western-Blot.....	34
3.4.1	Proteinaufbereitung und Konzentrationsbestimmung	34
3.4.2	Gelelektrophorese und Proteintransfer	35
3.4.3	Proteinmarkierung und Konzentrationsbestimmung des gesuchten Proteins	36
3.5	Statistische Auswertung	37
4.	Ergebnisse	39
4.1	Verhalten	39
4.2	A β	41
4.3	NR2B	44
4.4	Kaspase-3, TNF- α , mGluR5	47
5.	Diskussion.....	48
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	48
5.2	Diskussion der Methoden	48
5.2.1	Mausmodell Tg2576	48
5.2.2	Modifizierter Hole-Board-Test.....	49
5.2.3	ELISA.....	50
5.2.4	Methoxy-X04-Färbung.....	51
5.2.5	Western-Blot	52
5.3	Diskussion der Ergebnisse.....	54
5.3.1	A β	54
5.3.2	NR2B.....	55
5.3.3	Kaspase-3, TNF- α , mGluR5.....	56
5.4	Ausblick.....	57
6.	Zusammenfassung	58
7.	Abkürzungsverzeichnis.....	59
8.	Abbildungsverzeichnis	61

9.	Tabellenverzeichnis	63
10.	Literaturverzeichnis	64
11.	Danksagung	89

1. Einleitung

Die Erstbeschreibung der Alzheimer-Erkrankung erfolgte bereits 1907 von Alois Alzheimer. Er berichtete schon damals von „merkwürdige[n] Veränderungen der Neurofibrillen“ und der „Einlagerung eines [...] pathologischen Stoffwechselproduktes in die Ganglienzellen“ im Gehirn seiner Patientin Auguste Deter, die schon mit 51 Jahren erste Symptome der Erkrankung zeigte (Alzheimer 1907). Erst 1984 konnte das Stoffwechselprodukt aus den Einlagerungen isoliert werden und ist heute als Amyloid- β (A β) bekannt (Glennner und Wong 1984). 1986 wurden die Veränderung der Neurofibrillen als hyperphosphorylierte und aggregierte Tau-Proteine weiter charakterisiert (Grundke-Iqbal et al. 1986).

A β und Tau bilden die Hauptbestandteile der charakteristischen pathologischen Veränderungen in Alzheimer-Gehirnen: A β als Teil der extrazellulären Amyloidplaques und Tau als Teil der intrazellulären Neurofibrillenbündel (NFT, engl. Neurofibrillary tangle). Neben diesen beiden pathologischen Veränderungen, existieren eine Vielzahl an Pathologien und zugehörigen Erkrankungshypothesen (Selkoe 2001, FINDER 2010, Querfurth und LaFerla 2010), jedoch konnten bis zum jetzigen Zeitpunkt die Ätiologie und Pathogenese der Alzheimer-Erkrankung nicht abschließend geklärt werden. Im Rahmen der klinischen Forschung erwiesen sich Tiermodelle als unverzichtbar, unter anderem das transgene Mausmodell Tg(HuAPP695.K670N-M671L)2576 (kurz: Tg2576) (Hsiao et al. 1996).

Das Hauptsymptom der Alzheimer-Erkrankung ist die Abnahme der kognitiven Leistungsfähigkeit bis hin zum vollständigen Verlust der Selbständigkeit (Schulz 2016, Schmidtke 2017). Gerade dies ist eine Herausforderung für eine, durch bessere medizinische Versorgung und somit gestiegenen Lebenserwartung, älter werdende Gesellschaft. Lebten 2018 in Deutschland noch ca. 1,7 Millionen Erkrankte, gehen Schätzungen für 2050 von über drei Millionen aus (Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Epidemiologischen Studien zufolge leiden hierbei mehr Frauen als Männer an der Alzheimer-Erkrankung (Andersen et al. 1999, Imfeld et al. 2013, Chene et al. 2015). Ebenso ist die Inzidenz als auch Prävalenz bei Frauen erhöht (Irvine et al. 2012, Li und Singh 2014).

Aus diesen Fakten ergibt sich die Notwendigkeit einerseits die Ätiologie und Pathogenese der Erkrankung aufzuklären und andererseits die geschlechtsspezifischen Unterschiede zu ergründen, sowohl beim Menschen als auch im Mausmodell, um zukünftig eine Heilung anzustreben.

1.1 Die Alzheimer-Erkrankung

1.1.1 Epidemiologie

Laut dem World Alzheimer Report lebten im Jahr 2018 schätzungsweise 50 Millionen Menschen weltweit mit einer Demenzerkrankung (Alzheimer's Disease International 2018). Im Jahr 2015 lebten in der Europäischen Union knapp 10,5 Millionen Demenzerkrankte (Alzheimer's Disease International 2015). In Deutschland waren es 2018 ca. 1,7 Millionen Menschen mit einer Demenzerkrankung (Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Die Alzheimer-Erkrankung war darunter die häufigste Form der Demenzerkrankungen, wobei verschiedene Quellen von einem Anteil von 60% bis 80% ausgehen (Alzheimer's Association 2016, Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Pro Jahr kommen in Deutschland knapp 317.000 Patienten, die neu mit einer Demenzerkrankung diagnostiziert werden, hinzu (Alzheimer's Disease International 2015, Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Verschärft wird die Situation durch Faktoren wie den demographischen Wandel, bessere medizinische Versorgung und eine infolgedessen gestiegene Lebenserwartung. Schätzungen gehen für das Jahr 2050 von über drei Millionen Erkrankten in Deutschland und 152 Millionen weltweit aus (Alzheimer's Disease International 2018, Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018).

Mit steigendem Lebensalter steigt auch die Prävalenzrate dramatisch an: Von 1,6% für 65- bis 69-Jährige auf ca. 26,2% für 85- bis 89-Jährige. Wichtig ist hierbei der Vergleich der einzelnen Prävalenzraten von Frauen und Männern: So liegt sie bei den 85- bis 89-jährigen Frauen bei 28,5% und bei 85- bis 89-jährigen Männern bei 20,9%. Dieser dramatische Unterschied wird mit weiter steigendem Alter noch größer: 44,4% bei 90- bis 94-jährigen Frauen und 29,2% bei 90- bis 94-jährigen Männern (European Collaboration on Dementia 2013, Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und Bickel 2018). Dieser Anstieg konnte in verschiedenen epidemiologischen Studien bestätigt werden (Andersen et al. 1999, Barnes et al. 2005, Imfeld et al. 2013).

Neben den individuellen Auswirkungen für die Betroffenen, kommt es auch zu gravierenden volkswirtschaftlichen Folgen. So wurden die durch die Erkrankung verursachten weltweiten Kosten auf ca. eine Billion US-Dollar für das Jahr 2018 geschätzt (Alzheimer's Disease International 2018).

1.1.2 Pathophysiologie

Nach dem aktuellen Stand der Wissenschaften existieren verschiedene Hypothesen zur Erklärung sowohl der pathologischen Merkmale als auch der symptomatischen Veränderungen der Alzheimer-Erkrankung. Nachfolgend werden die zurzeit am meisten beachteten Hypothesen vorgestellt und mit den untersuchten Proteinen in Verbindung gesetzt.

1.1.2.1 Amyloid-Peptide (A β 42)

Zu den charakteristischen pathologischen Veränderungen in Gehirnen von Alzheimer-Patienten gehören Ablagerungen von extrazellulären Amyloid- β -Peptiden (A β -Peptide) (Glennner und Wong 1984, Selkoe 1991, Selkoe 2001, Finder 2010, Querfurth und LaFerla 2010). Als Vorläufer dieser Peptide gilt das Amyloid-Precursor-Protein (APP) (Finder 2010), welches auf Chromosom 21 kodiert ist (Kang et al. 1987). Es besteht aufgrund von verschiedenen N-terminalen Segmenten aus 695 bis 770 Aminosäuren (Finder 2010). Durch die Spaltung mit unterschiedlichen Sekretasen an verschiedenen Aminosäurepositionen wird die weitere Prozessierung dieses Vorläuferproteins in einen nicht-amyloiden und einen amyloiden Weg unterteilt (Abbildung 1) (Finder 2010). Die drei beteiligten Sekretasen werden α -, β - und γ -Sekretase genannt (Haass 2004).

α -Sekretasen sind dabei vor allem verschiedene Zink-Metallproteinasen (Allinson et al. 2003), welche Teil der Plasmamembran sind (Sisodia 1992). Die β -Sekretase wird mit membrandurchdringenden Segmenten (Hussain et al. 1999, Vassar et al. 1999) vor allem im endoplasmatischen Retikulum und dem Golgi-Apparat verordnet (Haass et al. 1995). Als Kandidaten für die β -Sekretase kommen zwei Enzyme in Frage: „Beta-site APP cleaving enzyme 1“ (BACE1) (Hussain et al. 1999, Vassar et al. 1999) und BACE2 (Yan et al. 1999, Lin et al. 2000, Solans et al. 2000). Jedoch weisen mehrere Forschungsergebnisse auf BACE1 als β -Sekretase hin, da unter anderem deren Knockout die A β -Sekretion blockt (Cai et al. 2001, Roberds et al. 2001, Luo et al. 2003). Die γ -Sekretase besteht als Enzymkomplex aus vier Bestandteilen: Präsenilin, Präsenilin-Verstärker 2 (Pen-2, engl. Presenilin Enhancer 2), „Anterior Pharynx-defective 1“ (Aph-1) und Nicastrin (Yu et al. 2000, Kimberly et al. 2003, Sato et al. 2007, Steiner et al. 2008, De Strooper et al. 2012), wobei als katalytisches Zentrum im Komplex Präsenilin dient (Ahn et al. 2010). Edbauer und Winkler konnten zeigen, dass dabei alle vier Komponenten unverzichtbar für die Aktivität der γ -Sekretase sind (Edbauer et al. 2003).

Die Spaltung per α -Sekretase stellt den Startpunkt für den nicht-amyloiden Weg dar, bei dem APP zuerst in ein extrazelluläres sAPP α und ein intramembranäres C-terminales Fragment

C83 gespalten wird. Anschließend werden sA β PP α zu p3 und C83 zu „Amyloid precursor protein intracellular domain“ (AICD) per γ -Sekretase prozessiert (Haass und Selkoe 1993) (Abbildung 1). Hierbei kommt es nicht zur Bildung von A β -Peptiden. Beim amyloiden Weg wird APP hingegen initial per β -Sekretase und nachfolgend ebenfalls per γ -Sekretase gespalten (Haass und Selkoe 2007, FINDER 2010, Querfurth und LaFerla 2010), wobei laut Vassar die Prozessierung durch die β -Sekretase den limitierenden Schritt in der A β -Produktion darstellt (Vassar 2004). Die β -Sekretase spaltet APP in das extrazelluläre sA β PP β -Fragment und das intramembranäre C99, anschließend wird C99 per γ -Sekretase in AICD und A β gespalten (FINDER 2010) (Abbildung 1). A β wird nachfolgend in extrazelluläre Flüssigkeiten (Plasma oder Liquor) ausgeschieden (Seubert et al. 1992). AICD spielt in der Zelle im per Phosphoinositid-3-Kinase regulierten Calcium-Stoffwechsel eine Rolle (Leissring et al. 2002). Neben C99 ist ein weiteres Substrat der γ -Sekretase der Rezeptor des Notch-Signalweges, welcher unter anderem eine Rolle in der Zelldifferenzierung von Neuronen spielt (De Strooper et al. 1999, Ray et al. 1999, Ray et al. 1999).

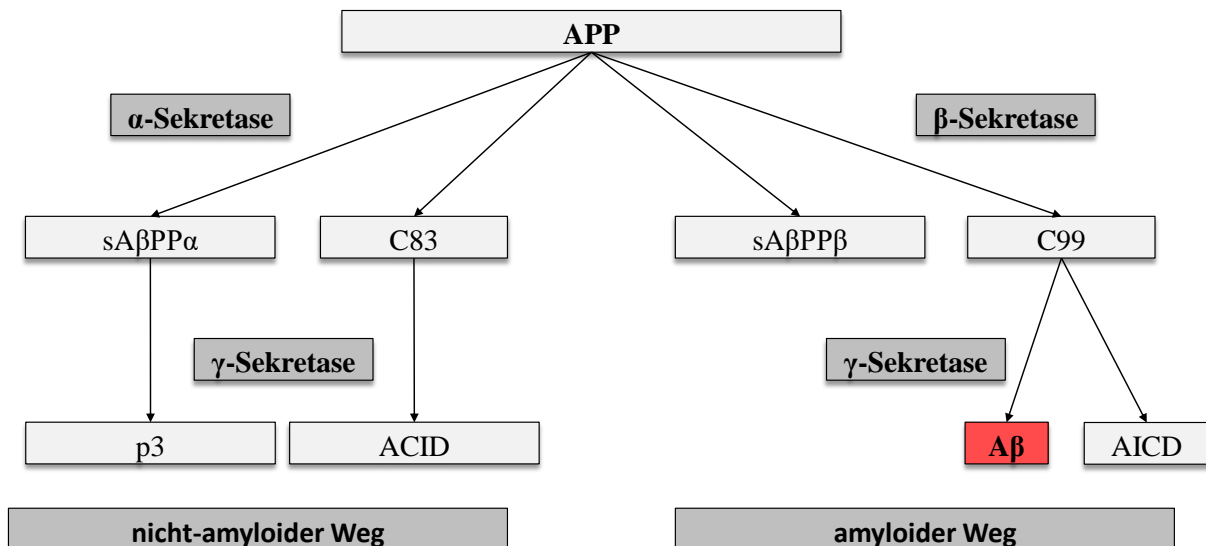


Abbildung 1: Schematische Darstellung der APP-Prozessierung und des amyloiden und nicht-amyloiden Weges; (FINDER 2010, Querfurth und LaFerla 2010).

Die γ -Sekretase schneidet C99 nicht einheitlich an einer einzigen Stelle, sondern an verschiedenen Stellen. Somit ergeben sich Spaltprodukte von unterschiedlicher Länge, welche aus 38 bis 43 Aminosäuren bestehen (Haass und Selkoe 2007). Die beiden häufigsten Varianten sind A β ₁₋₄₀ und A β ₁₋₄₂ (FINDER 2010), die in einem Verhältnis von 10:1 auftreten (Irie et al. 2005). Schon geringe Änderungen in diesem Verhältnis resultieren in einer schnelleren Bildung von Oligomeren und einer höheren synaptischen Toxizität (Suzuki et al. 1994, Kuperstein et al.

2010). Die Länge der A β -Peptide spielt ebenfalls eine entscheidende Rolle, da mit zunehmender Länge deren Toxizität steigt und diese schneller zu Penta- bzw. Hexameren oligomerisieren (Jarrett et al. 1993, Suzuki et al. 1994). Diese wiederum fungieren als Grundsteine für größere A β -Peptide und somit den Plaques (Bitan et al. 2003), wobei die Längenvarianten A β ₄₂ und A β ₄₃ als Beginn für die Ablagerungen dienen (Iwatsubo et al. 1994).

Als Verbindungselement zwischen den pathologischen Veränderungen im Gehirn und der symptomatischen Klinik, gilt die 1992 von Hardy und Higgins formulierte Amyloid-Kaskaden-Hypothese und deren Erweiterung (Abbildung 2). Als pathologisches Zentrum der Alzheimer-Erkrankung werden in dieser A β und dessen Plaques gesehen, welche somit Ursprung der weiteren pathologischen Veränderungen und der Erkrankungssymptomatik wären (Hardy und Higgins 1992, Hardy und Selkoe 2002, Hardy 2006). Gestützt wird diese Hypothese vor allem durch die Mutationen in den Genen von APP und Präsenilin. Diese führen zu familiären Alzheimerformen (FAD, engl. familial Alzheimer's diseases), etwa durch eine Veränderung der A β -Entstehung hin zu einer größeren Menge an A β ₁₋₄₂ oder einem verlagerten Verhältnis von A β ₁₋₄₀ zu A β ₁₋₄₂ (Pimplikar 2009, Bekris et al. 2010, FINDER 2010, Herrup 2010, Pimplikar et al. 2010, Armstrong 2014, Herrup 2015, Karran und De Strooper 2016). Jedoch wurde die Amyloid-Kaskaden-Hypothese in den letzten Jahren vielfach diskutiert und erhielt eine neue, kontroverse Bewertung. Ein Argument gegen die Hypothese ist vor allem die Tatsache, dass es keine Korrelation zwischen der Menge an A β -Plaques und kognitiven Einschränkungen gab (Terry et al. 1991, Gomez-Isla et al. 1997, Giannakopoulos et al. 2003, Guillozet et al. 2003, Nelson et al. 2012). So gab es Patienten mit Plaqueablagerungen, aber keinen kognitiven Beeinträchtigungen (Pimplikar 2009, Herrup 2015). Auch wird betont, dass es (noch) keinen direkten Beweis dafür gibt, dass A β der „primäre Auslöser für Alzheimer ist“ (Pimplikar 2009). Laut Armstrong könnten senile Plaques sogar eher Produkte der Neurodegeneration, als deren Grund sein (Armstrong 2014). Als protektives Agens wird A β hingegen etwa von Lee angesehen, der die Amyloid-Kaskaden-Hypothese komplett verneint (Lee et al. 2004, Lee et al. 2007). Eine Weiterentwicklung der Ursprungshypothese sieht das Patientenalter als zentrales Element an (Herrup 2010, Herrup 2015). Außerdem wurden in den letzten Jahren weitere Hypothesen entwickelt, mit verschiedenen anderen Proteinen oder Pathomechanismen als zentrales Element (Pimplikar et al. 2010, Karran und De Strooper 2016).

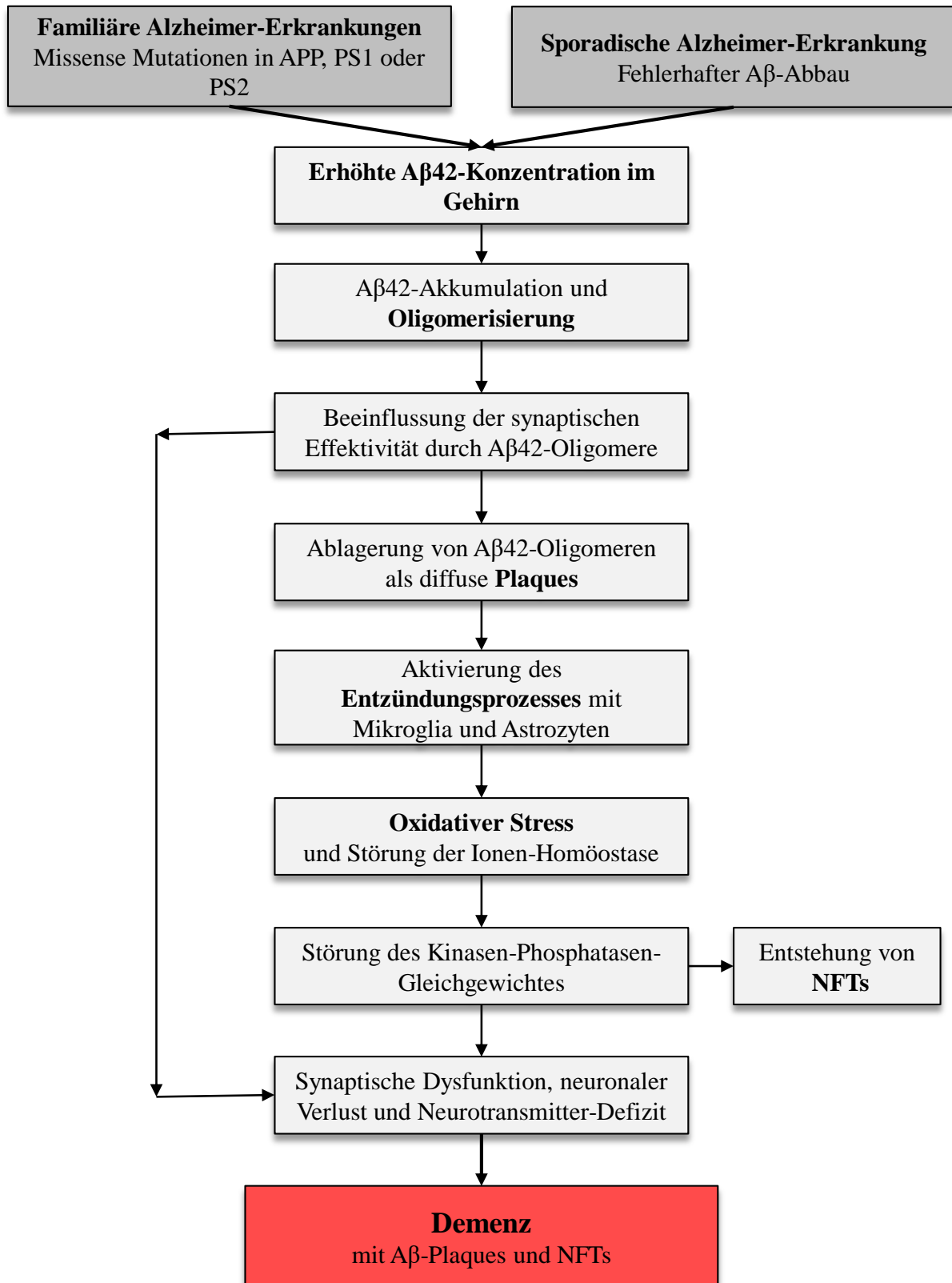


Abbildung 2: Amyloid-Kaskaden Hypothese; modifiziert nach (Hardy und Selkoe 2002, Haass und Selkoe 2007, FINDER 2010, Herrup 2010, Fendl 2013).

Neben A β -Plaques rücken immer mehr lösliche A β -Oligomere, auch ADDL (engl. A β -derived diffusible ligands) genannt (Klein et al. 2001), in den wissenschaftlichen Fokus. A β -Oligomere sind dabei eine heterogene Gruppe aus Dimeren, Trimeren und größeren A β -Proteinen, jedoch keinen Plaques (Finder 2010). Die ersten Beweise für eine Neurotoxizität dieser A β -Oligomere wurden 1998 von Lambert präsentiert (Lambert et al. 1998). Später konnten A β -Oligomere direkt aus Gehirnen von Alzheimer-Patienten (Shankar et al. 2008) und Tg2576-Mäusen isoliert werden (Lesne et al. 2006).

Als potenzielles Reservoir für lösliche Oligomere gelten die extrazellulären A β -Plaques (Koffie et al. 2009, Mucke und Selkoe 2012). Teilweise werden lösliche A β -Formationen auch als „Ausgangssamen“ für A β -Plaques im Rahmen der Prionen-Theorie (Walker und Jucker 2015) oder als Initialstadium der Plaqueablagerung gesehen (Kayed et al. 2003, Glabe 2008). Somit wurden A β -Oligomere in die Amyloid-Kaskaden-Hypothese als pathologisches Agens integriert (Abbildung 2) (Klein et al. 2001, Hardy und Selkoe 2002, Selkoe 2002, Walsh und Selkoe 2004, Walsh und Selkoe 2007, Ferreira et al. 2015). Es besteht darüber hinaus eine Verbindung zum zweiten großen pathologischen Korrelat der Alzheimer-Erkrankung: Untersuchungen zeigen, dass A β -Oligomere die Hyperphosphorylierung von Tau-Proteinen induzieren (Ferreira et al. 2007, De Felice et al. 2008, Chabrier et al. 2012).

A β -Oligomere verringern in Ratten die Anzahl an dendritischen Dornfortsätzen, inhibieren die Langzeitpotenzierung (LTP, engl. long-term potentiation), fördern die Langzeitdepression (LTD, engl. long-term depression) und beeinflussen auf diese Weise die synaptische Plastizität (Lambert et al. 1998, Wang et al. 2002, Glabe 2005, Walsh et al. 2005, Haass und Selkoe 2007, Shankar et al. 2008, Shankar und Walsh 2009, Ferreira et al. 2015). Gerade die Verringerung an dendritischen Dornfortsätzen gilt dabei als aussagekräftiges neuropathologisches Korrelat des Schweregrades von Alzheimer (Terry et al. 1991). In Mäusen stören die Oligomere ebenfalls Gedächtnis- und Lernvorgänge (Lesne et al. 2006, Lesne et al. 2008). Auch besteht zwischen der Menge an löslichen A β -Oligomeren und dem Grad der Demenz eine starke Korrelation (DeKosky et al. 1996, Lue et al. 1999, McLean et al. 1999, Koffie et al. 2009, Tomic et al. 2009). Die synaptotoxischen Effekte der Oligomere werden teilweise durch eine direkte Interaktion mit den Synapsen vermittelt. Hier lösen sie eine Dysfunktion und den Verlust an Dornfortsätzen aus (Koffie et al. 2009). Weitere Effekte sind oxidativer Stress, Induktion von Apoptose und Entzündungsprozessen, Membranpermeabilisierung, Störung der mitochondrialen Vorgänge (Finder 2010) und Störung von neuronalen Rezeptoren (Mucke und Selkoe 2012). Verschiedene Untersuchungsergebnisse weisen jedoch auch auf eine nicht ausschließlich pathologische Rolle von A β -Proteinen hin. So gibt es Hinweise für eine antimikrobielle Wirkung

(Soscia et al. 2010, Gosztyla et al. 2018), eine Rolle im Lipidstoffwechsel (Grimm et al. 2005, Hartmann 2006, Grimm et al. 2007, Grosgen et al. 2010), eine Aufgabe als Faktor der Transmigration von Monozyten durch Endothelien (Gonzalez-Velasquez und Moss 2008) oder als Antioxidans (Kontush et al. 2001, Castellani et al. 2006). Hervorzuheben im Kontext der Alzheimer-Erkrankung sind jedoch geradezu diametral erscheinende Hinweise für eine Notwendigkeit von A β für die Vitalität von Neuronen (Plant et al. 2003, Hiltunen et al. 2009) und als notwendigen Faktor für Erinnerung (Garcia-Osta und Alberini 2009, Morley et al. 2010, Puzzo und Arancio 2013, Fedele et al. 2015), synaptische Plastizität (Parihar und Brewer 2010) und LTP (Koudinov und Berezov 2004, Puzzo et al. 2011, Palmeri et al. 2017).

1.1.2.2 Tau-Protein

Neurofibrillenbündel (NFT, engl. neurofibrillary tangle) in Soma und Dendriten sind eine weitere charakteristische Pathologie für an Alzheimer erkrankte Patienten. Diese bestehen aus hyperphosphorylierten und aggregierten Tau-Proteinen (Brion et al. 1985, Grundke-Iqbal et al. 1986, Querfurth und LaFerla 2010). Tau gilt als wichtiges mikrotubuli-assoziiertes Protein (MAP, engl. microtubule associated Protein), dessen Aufgabe eine Interaktion mit Tubulin und somit Aufbau und Stabilisierung von Mikrotubuli ist (Weingarten et al. 1975, Mandelkow und Mandelkow 2012). Des Weiteren spielt es eine wichtige Rolle in der Steuerung des mikrotubulinabhängigen axonalen Transports, indem es Kinesin und Dynein in ihren Funktionen beeinflusst (Dixit et al. 2008), wobei die biologische Aktivität des Taus abhängig vom Phosphorylierungsgrad ist (Lindwall und Cole 1984). Im menschlichen Gehirn existieren sechs Tau-Isoformen (Goedert et al. 1989), die auf Chromosom 21 codiert sind (Neve et al. 1986). Neben Tau existieren zwei weitere MAPs: MAP1 and MAP2 (Iqbal et al. 2009).

Eine entscheidende Rolle spielt Tau darüber hinaus in der neurodegenerativen Erkrankungsgruppe der Tauopathien. Bei diesen Erkrankungen sind NFTs ebenfalls eine charakteristische Pathologie, jedoch fehlen im Vergleich zur Alzheimer-Erkrankung Amyloid- β -Ablagerungen (Lee et al. 2001). Zu der Erkrankungsgruppe gehören etwa die frontotemporale Demenz mit Parkinsonismus des Chromosoms 17 (FTDP-17), die kortikobasale Degeneration, die frontotemporale Demenz (Pick-Krankheit) oder die progressive supranukleäre Blickparese (Iqbal et al. 2010). Bei diesen sind Mutationen verantwortlich für einen Funktionsverlust, eine Hyperphosphorylierung oder eine Störung der Tau-Proteinbiosynthese (Goedert und Jakes 2005, Iqbal et al. 2010).

Die Hyperphosphorylierung und anschließende Aggregation des Proteins in NFTs kommt durch eine Störung der Stabilität zwischen Kinasen (Phosphorylierung) und Phosphatasen

(Dephosphorylierung) zustande, wobei eine Verschiebung hin zu einer pathologischen Aktivität der Kinasen stattfindet (Iqbal und Grundke-Iqbal 2008, Mandelkow und Mandelkow 2012). Zu den beiden wichtigsten Kinasen zählen die zyklin-abhängige Kinase (CDK5, engl. cyclin-dependent kinase 5) und die Glykogensynthase-Kinase 3 (GSK-3, engl. glycogen synthase kinase-3) (Iqbal und Grundke-Iqbal 2008). Neben der pathologischen Kinasenaktivität ist die Aktivität der wichtigsten Phosphatase für Tau, die Protein-Phosphatase-2A (PP-2A, engl. protein phosphatase 2), im Gehirn von Alzheimer-Patienten gesenkt (Wang et al. 2007, Iqbal und Grundke-Iqbal 2008). Dabei ist diese Phosphatase für ca. 70% der gesamten Phosphatasenaktivität bei Tau verantwortlich und steuert diese direkt oder indirekt per Regulation von Kinasen (Iqbal et al. 2016). Mehrere Studien konnten zeigen, dass die Menge und Ausbreitung der NFTs gut mit dem Demenzgrad und der kognitiven Einschränkung korreliert (Arriagada et al. 1992, Giannakopoulos et al. 2003, Guillozet et al. 2003, Nelson et al. 2012). Ferner korreliert der Verlust an Neuronen mit der Menge an NFTs und übertrifft diese sogar (Gomez-Isla et al. 1997). Die Gesamtmengen an normalem Tau im Gehirn von Alzheimer-Patienten und gesunden Patienten ist sehr ähnlich, wohingegen im Gehirn von erkrankten Patienten die Menge an hyperphosphoryliertem Tau vier- bis achtfach erhöht ist (Khatoon et al. 1992).

Die Neurotoxizität des hyperphosphorylierten Taus gründet sich vor allem auf neue Proteineigenschaften: Es aggregiert spontan selbst (Iqbal et al. 2010), zerstört normales Tau und die beiden übrigen MAPs (Alonso et al. 1994, Iqbal et al. 2008) und hat die Eigenschaft verloren an Tubulin zu binden und die Entstehung der Mikrotubuli zu unterstützen (Ballatore et al. 2007, Li et al. 2007, Iqbal et al. 2010). Dabei scheint diese „Loss-of-function“ einerseits und das toxische „Gain-of-function“ andererseits ausschließlich aufgrund der Hyperphosphorylierung aufzutreten, da eine Dephosphorylierung Tau seine physiologischen Eigenschaften zurückgibt (Iqbal und Grundke-Iqbal 2008). Über die Induktion von oxidativem Stress fördert Tau zusätzlich die Bildung von A β (Yan et al. 1995). Die NFTs hingegen sind inert, da sie die Entstehung von Mikrotubuli weder hemmen noch fördern (Iqbal et al. 2008). Dies zeigen auch Studien, bei denen lösliche Oligomere des Tau-Proteins für eine Reduktion der LTP verantwortlich sind (Sydow et al. 2011) und kognitive Defizite mit dem Auftreten von löslichem hyperphosphoryliertem Tau korrelierten (Santacruz et al. 2005).

Tau bindet neben Mikrotubuli ebenso an die Tyrosinkinase Fyn und könnte damit eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion in der Zelle spielen (Lee et al. 1998, Ittner et al. 2010). Zusätzlich fungiert Fyn als eine Art Bindeglied in der Interaktion von Tau und A β und deren gegenseitiger Beeinflussung ihrer Toxizität (Haass und Mandelkow 2010, Roberson et al. 2011). So stört Tau per Dislokation von Fyn im Neuron die Signaltransduktion und verstärkt die A β -

Toxizität per Phosphorylierung von NMDA-Rezeptoren (Haass und Mandelkow 2010, Ittner et al. 2010). Überdies können durch eine Reduktion oder Elimination von Tau im Mausmodell A β -induzierte kognitive Defizite verhindert werden (Roberson et al. 2007, Ittner et al. 2010). Ebenso stützen Studien die These, dass A β -, Tau und Fyn durch eine Dysregulation synaptischer Aktivität neurotoxisch wirken (Roberson et al. 2011). Auf der anderen Seite fördert A β im Mausmodell die Phosphorylierung und Aggregation von Tau in NFTs (Gotz et al. 2001, Lewis et al. 2001) und in vitro per Förderung des Zerschneidens durch Kaspasen (Gamblin et al. 2003). Zusätzlich scheinen A β -Oligomere die Hyperphosphorylierung von Tau-Proteinen zu induzieren (De Felice et al. 2008).

1.1.2.3 Inflammation (TNF- α)

Die Tatsache, dass es bei der Alzheimer-Erkrankung zu einer lokalen Entzündungsreaktion im Gehirn der Patienten kommt, führte 1995 zur Formulierung der Hypothese, dass gerade diese Entzündungsreaktion Teil der Alzheimer-Pathologie ist (McGeer und McGeer 1995). Dahinter steht die Frage, ob die Entzündungsreaktion durch die Beseitigung von Zellüberresten und Proteinablagerungen als Schutzmechanismus oder durch die Zerstörung von Zellen als Pathomechanismus Einfluss auf die Erkrankung nimmt (Akiyama et al. 2000). Aktuelle Forschungen gehen davon aus, dass die Entzündungsreaktion als Verbindung zwischen den verschiedenen Pathomechanismen wirkt und diese verstärkt. So startet diese in den Anfängen der Alzheimer-Erkrankung und entwickelt sich durch Chronifizierung von einem Schutz- zu einem Pathomechanismus (McGeer und McGeer 1995, Akiyama et al. 2000, Heneka et al. 2015, Kinney et al. 2018). Vermittler der neuronalen Entzündung sind dabei aktivierte Mikrogliazellen und Astrozyten, welche sich um A β -Plaques finden (Akiyama et al. 2000, Querfurth und LaFerla 2010). A β aktiviert Mikrogliazellen hierbei durch Bindung an das Thrombozytenglykoprotein 4 (Synonym CD36), an Toll-like-Rezeptoren (TLR) (Stewart et al. 2010) oder per Rezeptoren für fortgeschrittene Glykosierungsprodukte (RAGE, engl. receptor for advanced glycation endproducts) (Yan et al. 1996). Als Reaktion auf diese Aktivierung schütten Mikrogliazellen Entzündungsmediatoren, wie Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) aus (Dickson et al. 1993, Lue et al. 2001, Glass et al. 2010) und phagozytieren A β -Plaques (Shaffer et al. 1995, Paresce et al. 1997, Bolmont et al. 2008). Astrozyten werden direkt von A β (Glass et al. 2010) oder von IL-1 (Giulian et al. 1988) und TNF- α (Saijo et al. 2009) aus den Mikrogliazellen aktiviert. Dies führt wiederum zur Ausschüttung von Zytokinen, Chemokinen, Nitritoxid und weiteren Entzündungsmediatoren (McGeer und McGeer 2010, Heneka et al. 2015), was eine Verschärfung der Entzündungsreaktion hervorruft.

Die Wirkung der einzelnen Entzündungsmediatoren, Chemokinen und Zytokinen ist dabei sehr vielfältig. Für TNF- α zeigen Untersuchungen, dass bei einer Zunahme vermehrt kognitive Defizite auftreten (Holmes et al. 2009) und die Menge an Amyloidplaques wächst, indem es die β -Sekretaseproduktion und die γ -Sekretaseaktivität steigert (Liao et al. 2004, Yamamoto et al. 2007). Des Weiteren beeinflusst der von TNF- α stimulierte Transkriptionsfaktor Nukleärer Faktor-kappa-B (NF- κ B) die Expression von BACE1 per Bindestellen nahe dessen Promoters (Sambamurti et al. 2004, Sastre et al. 2008, Chen et al. 2012). Das proinflammatorische Zytokin IL-1 fördert die Synthese und Verarbeitung von APP und dadurch die Menge von A β (Goldgaber et al. 1989, Buxbaum et al. 1992). Somit entwickelt sich aus einer akuten Entzündungsreaktion eine sich selbst erhaltende chronische Entzündung, ein „positive feedforward loop“ (Glass et al. 2010, Heneka et al. 2015). Die Entzündungsreaktion ist somit ein ambivalenter Effekt, welcher die Plaquemenge im Anfangsstadium verringert, aber später durch die chronische Entzündung vergrößern kann (Wyss-Coray und Mucke 2002).

Aufgrund dieser Beteiligung der Inflammation an der Alzheimer-Pathologie, entwickelten sich Ansätze mithilfe von nichtsteroidalen Antirheumatika die Entzündungsreaktion einzudämmen. Jedoch ergaben Studien sehr unterschiedliche Ergebnisse: Diese reichen von keinem Effekt (Heneka et al. 2015, Miguel-Alvarez et al. 2015) bis hin zu einem positiven Effekt bei längerer Einnahme (McGeer et al. 1996, Stewart et al. 1997, Vlad et al. 2008).

1.1.2.4 Veränderung der Neurotransmission (mGluR5) und der Langzeitpotenzierung (NR2B)

Zentral für kognitive Leistungen ist das reibungslose Funktionieren von neuronalen Netzwerken. So können schon kleine Störungen bei der Neurotransmission oder Synapsenverbindung zur Beeinträchtigung der Kognition führen. Teil der Pathophysiologie der Alzheimer-Erkrankung ist gerade diese Störung von neuronalen Netzwerken (Querfurth und LaFerla 2010). Neben der direkten Neurotoxizität von A β -Oligomeren (Lambert et al. 1998) spielt dabei das glutamaterge System eine wichtige Rolle, wobei Untersuchungen zeigen, dass es zu einer calciumvermittelten Exzitotoxizität kommen kann (Revett et al. 2013). A β -Oligomere binden dabei an den metabotropen Glutamat-Rezeptor 5 (mGluR5) und sorgen für die Bildung von Clustern, die zu einem erhöhten Calcium-Einstrom führen und so neurotoxisch wirken (Renner et al. 2010). Des Weiteren konnten Studien zeigen, dass mGluR5 an der durch A β -vermittelten LTD und LTP beteiligt ist (Wang et al. 2004, Hu et al. 2014). Überdies kam es bei Tierversuchen mit Mäusen, denen per Knockoutmutation mGluR5 fehlt oder deren Rezeptor per Antagonisten blockiert wurde, zu geringeren kognitiven Einschränkungen im Morris-Water-Maze-

Test (MWM) und es fanden sich weniger A β -Oligomere und Amyloid- β -Plaques im Gehirn (Um et al. 2013, Hamilton et al. 2014).

A β -Oligomere beeinflussen LTP und LTD (Lambert et al. 1998, Wang et al. 2002, Glabe 2005, Walsh et al. 2005, Haass und Selkoe 2007, Shankar et al. 2008, Shankar und Walsh 2009, Ferreira et al. 2015). Versuche zeigen, dass die Bindung von A β -Oligomeren an den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR) die von diesem vermittelte LTP unterdrückt (Chen et al. 2002), wobei gerade die N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptorsubtyp 2B-Untereinheit (NR2B) dafür verantwortlich zu sein scheint (Li et al. 2011) und durch Synapsenverlust und Veränderungen des Aktivitätszustandes von NMDARs zur LTD führen kann (Shankar et al. 2007). Die NR2B-Untereinheit scheint auch direkt die synaptische Plastizität zu beeinflussen (Ronicke et al. 2011). Diese Untereinheit ist ebenfalls an dem von hyperphosphorylierten Tau initiierten neuronalen Zelluntergang beteiligt (Amadoro et al. 2006). Darüber hinaus beeinflussen A β -Oligomere die Expression von NMDARs auf der Zelloberfläche negativ (Snyder et al. 2005). Passend dazu konnten Studien bei Alzheimer-Patienten eine Abnahme der Proteinkonzentration der NR2B-Untereinheit und der Boten-Ribonukleinsäure-Synthese (mRNA-Synthese) feststellen (Sze et al. 2001, Hynd et al. 2004). Als therapeutischer Ansatz aus diesen Erkenntnissen über die Rolle des Rezeptors, wurde der NMDAR-Antagonist Memantine 2002 von der EU zugelassen und hatte in Studien positive Effekte auf die kognitive Leistungsfähigkeit von Alzheimer-Patienten (Reisberg et al. 2003, Tariot et al. 2004, Emre et al. 2008, Revett et al. 2013). Zwischen den beiden Pathomechanismen besteht eine Interaktion. Dabei erhöht mGluR5 durch die Phosphorylierung der NR2B-Untereinheit die Aktivität des Rezeptors und induziert so den Zelltod (Takagi et al. 2012).

1.1.2.5 Oxidativer Stress (Kaspase-3)

Einen weiteren Erklärungsversuch für die Pathophysiologie der Alzheimer-Erkrankung stellt die „Oxidative Stress“-Hypothese dar. Diese besagt, dass es durch ein Ungleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien zu einer Schädigung innerhalb des Gehirns kommt (Good et al. 1996, Smith et al. 1996, Markesbery 1997, Smith et al. 2000, Pratico 2008). Dabei ist das Gehirn aufgrund eines hohen Gehalts an Fettsäuren, einem hohen Sauerstoffverbrauch und geringen Mengen an Antioxidantien besonders anfällig für Oxidantien (Nunomura et al. 2006, Reddy 2006, Reddy und Beal 2008). Zu diesen zählen vor allem die reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies (engl. ROS und RNS) (Pratico 2008, Jiang et al. 2016). Der oxidative Stress kann sich dabei, abhängig vom Substrat der ROS, in Form von Proteinen, Desoxyribonuklein-

säure (DNA), Ribonukleinsäure (RNA) oder Lipiden manifestieren (Pratico 2008). Im zeitlichen Verlauf der pathophysiologischen Veränderungen im Gehirn tritt der oxidative Stress vor A β -Plaques oder NFTs auf (Nunomura et al. 2001). Vor allem A β , gestörte Abläufe in Mitochondrien und aktivierte Mikrogliazellen im Rahmen der chronischen Inflammation sind die Quellen von ROS und RNS (Hensley et al. 1994, Smith et al. 2000, Reddy und Beal 2008).

Oxidativer Stress führt einerseits durch die direkte Schädigung von Zellbestandteilen und andererseits durch die Förderung anderer Pathomechanismen zu einem Fortschreiten der Erkrankung. So zeigen Studien, dass oxidativer Stress die β - und γ -Sekretase aktiviert und somit die A β -Entstehung beeinflusst (Reddy 2006, Tamagno et al. 2008, Cai et al. 2011). Zugleich deuten Ergebnisse darauf hin, dass per oxidativem Stress einerseits die Tau-Aggregation induziert werden kann (Nunomura et al. 2006, Jiang et al. 2016) und andererseits durch hyperphosphoryliertes Tau oxidativer Stress gefördert wird (Yan et al. 1995). A β selbst steigert den durch oxidativen Stress verursachten Schaden (Behl et al. 1994) und wechselseitig steigert oxidativer Stress die A β -Entstehung (Yan et al. 1995).

Ergänzend dazu spielt A β direkt eine Rolle bei der Störung von mitochondrialen Abläufen und fördert somit die Produktion von ROS (Reddy und Beal 2008). Manche Autoren sehen hingegen in A β -Plaques und NFTs eine kompensatorische Reaktion auf den oxidativen Stress (Nunomura et al. 2006). Pathophysiologisch sind oxidativer Stress und die neuronale Entzündungsreaktion ebenfalls eng miteinander verbunden. So gibt es Hinweise, dass sie sich gegenseitig per aktivierten Mikroglia und ROS aufrechterhalten (Mhatre et al. 2004, Maccioni et al. 2009).

Eine wichtige Rolle innerhalb der „Oxidative Stress“-Hypothese spielt die Kaspase-3. Sie ist neben ihrer Funktion während der Apoptose von neuronalen Zellen (Nicholson et al. 1995, Kuida et al. 1996, Nicholson und Thornberry 1997) direkt an der Alzheimer-Pathologie beteiligt. Im Mausmodell korreliert die Kaspase-3-Aktivität mit einer Erhöhung der LTD und einer Abnahme der Dichte an Dornfortsätzen (D'Amelio et al. 2011). Darüber hinaus ist sie involviert in die Spaltung von APP und die Entstehung von A β (Gervais et al. 1999). Kaspase-3 spaltet ebenfalls Tau-Proteine und leitet somit deren Aggregation ein, was mit einem kognitiven Defizit korreliert (Gamblin et al. 2003, Rissman et al. 2004, Jarero-Basulto et al. 2013, Means et al. 2016). Überdies besteht eine direkte Verbindung zwischen A β und Kaspase-3. So induziert A β per Kaspase-3 den Verlust von Neuronen (Takuma et al. 2004) oder kann im Zusammenhang mit dem oxidativen Stress und mit Beteiligung von Kaspase-3 eine Apoptose herbeiführen (Velez-Pardo et al. 2002).

Auf Grundlage dieser Hypothese sind einige Therapieansätze unter Beteiligung von Antioxidantien, wie etwa Vitamin E oder Ginkgo-Extrakt, entstanden. Studien konnten jedoch nur sehr kontroverse Ergebnisse liefern. So kam es bei der Einnahme von Vitamin E in einigen Studien zu einer Verbesserung der Erkrankungssymptomatik, wohingegen in anderen Studien kein positiver Effekt auf die Kognition nachgewiesen werden konnte (Pratico 2008). Ein Review der Cochrane Collaboration konnte ebenfalls keine positiven Effekte nach der Einnahme von Ginkgo-Extrakt feststellen (Birks und Grimley Evans 2009).

1.1.3 Klinischer Verlauf und Risikofaktoren

Das Hauptsymptom der Alzheimer-Erkrankung ist die Abnahme der kognitiven Leistungsfähigkeit bis hin zum vollständigen Verlust der Selbstständigkeit, wobei der Zeitraum vom Beginn bis zur schweren Demenz meist zwischen vier und fünf Jahren beträgt (Schulz 2016). Abhängig vom Krankheitsbeginn werden die senile (>65 Jahre) und präsenile (<65 Jahre) Alzheimer-Demenz unterschieden (Schmidtke 2017).

Als erste Symptome der Erkrankung tritt meist eine Störung des Kurzzeitgedächtnisses oder eine Desorientiertheit in Bezug zu Ort und Zeit auf. Ebenso können nicht-kognitive Symptome wie etwa eine Abnahme der Aktivität oder Motivation und depressive Stimmung auftreten. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es zum Verlust des autobiographischen Langzeitgedächtnisses und Desorientierung in Bezug auf Situation oder Person. Sprachstörungen mit semantischem Paraphrasieren und Aphasie sind ebenfalls Teil des Krankheitsbildes. Darüber hinaus nehmen die grob- und feinmotorischen Fähigkeiten ab, es treten Apraxie und Alexie auf. Außerdem kommt es unter anderem zu Störungen des Schlaf-Wachrhythmus, Apathie oder Hyperaktivität und Inkontinenz. Häufig sind mit dem Fortschreiten der Erkrankung ein sozialer Rückzug sowie eine Einschränkung der Selbstständigkeit im Alltag, bedingt durch Verhaltens- und Aufmerksamkeitsstörungen, verbunden. Weitere nicht-kognitive Veränderungen sind Ängstlichkeit oder Depressivität, psychomotorische Unruhe oder Wahnbildung, Aggressivität und Enthemmung. Im Endstadium kommt es zu einem vollständigen Verlust der Selbstständigkeit. (Masuhr 2007, Alzheimer's Association 2016, Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016, Schulz 2016, Schmidtke 2017)

Aus einem damit verbundenen Mutismus ergibt sich meist eine umfassende Pflegebedürftigkeit, in deren Rahmen es zu Nahrungsverweigerung kommen kann. Durch optimierte Pflege und Versorgung führt die Erkrankung selbst nicht zum Tod. Dieser tritt vor allem durch sekundäre Erkrankungen ein. (Masuhr 2007, Alzheimer's Association 2016, Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016, Schulz 2016, Schmidtke 2017)

Bisher wurden verschiedene Risikofaktoren für die Alzheimer-Erkrankung identifiziert. Die größte Rolle spielt das Alter (Querfurth und LaFerla 2010). Als bedeutendster genetischer Risikofaktor gilt das $\epsilon 4$ -Allel des Apolipoproteins E (ApoE). Die Angaben über dessen Effekt auf das Risiko zu erkranken variieren in der Literatur allerdings sehr stark: Von einem zwei- bis viermal erhöhtem Risiko (bei einem Allel), bis zu einem fünf- bis 19-mal erhöhten Risiko (bei zwei Allelen) (Querfurth und LaFerla 2010, Michaelson 2014, Reitz und Mayeux 2014). ApoE scheint dies durch eine Förderung der A β -Ablagerung (Reiman et al. 2009) und der Tau-Phosphorylierung (Holtzman et al. 2000) zu bewirken. Des Weiteren ist es vergesellschaftet mit einem erhöhten Level an löslichen A β -Oligomeren (Hashimoto et al. 2012) und einer Beeinträchtigung der neuronalen Plastizität (Arendt et al. 1997). Als weitere Risikofaktoren sind autosomal-dominant vererbte Mutationen bekannt, die zu einer familiären Alzheimer-Erkrankung führen. Zu diesen gehören Missense Mutationen in den Genen, die für APP (Goate et al. 1991, Mullan et al. 1992) und Präsenilin 1 (Sherrington et al. 1995) oder 2 (Levy-Lahad et al. 1995, Levy-Lahad et al. 1995) kodieren. Dies führt zu einer gesteigerten A β -Entstehung oder einem verschobenen Verhältnis von A β_{1-40} hin zu A β_{1-42} (Scheuner et al. 1996, Citron et al. 1997, Selkoe 2001, Bekris et al. 2010, FINDER 2010). Ferner gibt es Hinweise, dass nicht-genetische Faktoren das Risiko zu erkranken erhöhen. Dazu gehören körperliche Faktoren, wie Diabetes mellitus, erhöhtes Körpergewicht und Cholesterinwerte, kardiovaskuläre Erkrankungen und Schädel-Hirn-Traumata oder soziale Faktoren, wie ein niedriger Bildungsstand und geringe geistige oder körperliche Aktivität im Alter (Finder 2010, Querfurth und LaFerla 2010, Reitz und Mayeux 2014, Alzheimer's Association 2016).

1.1.4 Alzheimer und Geschlecht

Epidemiologischen Studien zufolge leiden mehr Frauen als Männer an der Alzheimer-Erkrankung (Andersen et al. 1999, Imfeld et al. 2013, Chene et al. 2015). Dabei ist bei Frauen sowohl die Inzidenz als auch die Prävalenz erhöht (Irvine et al. 2012, Li und Singh 2014). Bei Frauen besteht eine stärkere Korrelation zwischen der Alzheimer-Pathologie und dem klinischen Bild der Alzheimer-Erkrankung (Barnes et al. 2005) und es zeigt sich ein schnellerer und stärkerer Verfall ihrer kognitiven Fähigkeiten (Li und Singh 2014). In Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass Frauen eine generell stärkere alzheimerassoziierte Pathologie (Barnes et al. 2005), mehr A β -Plaques (Corder et al. 2004, Liesinger et al. 2018) und mehr NFTs entwickeln (Filon et al. 2016, Oveisgharan et al. 2018). Eine naheliegende Hypothese für diesen Unterschied ist die Tatsache, dass Frauen meist älter werden als Männer (Hebert et al. 2001, Mielke et al. 2014, Oveisgharan et al. 2018).

Eine weitere Hypothese sieht in der abrupten Abnahme der weiblichen Geschlechtshormone nach der Menopause eine Erklärung für das erhöhte Erkrankungsrisiko bei Frauen, da diese als protektive Faktoren wirken (Vest und Pike 2013, Li und Singh 2014). So zählen zu den protektiven Eigenschaften von Östrogen in Bezug auf A β , eine positive Beeinflussung der APP-Prozessierung (Xu et al. 1998, Gandy 2003), eine Verhinderung der A β -Oligomerisierung (Morinaga et al. 2007, Morinaga et al. 2011) und eine Förderung des A β -Abbaus per Enzymaktivierung (Eckman und Eckman 2005, Amtul et al. 2010, Liang et al. 2010) oder per Mikroglia (Li et al. 2000). Des Weiteren verhindert es die Hyperphosphorylierung von Tau (Pike et al. 2009), bewirkt eine Minderung der Exzitotoxizität per Inhibition von NMDA-Rezeptor (Weaver et al. 1997), hat eine antioxidative Wirkung (Behl et al. 1997) und verbessert die Kognition (Vest und Pike 2013). Progesteron beeinflusst ebenfalls die Tau-Menge und die Aktivität der γ -Sekretase (Li und Singh 2014).

Studien mit Hormonersatztherapien (HET) konnten anfangs noch positive Effekte zeigen (Henderson et al. 1994, Zandi et al. 2002, Rapp et al. 2003). Diese Effekte wurden jedoch von der Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS) widerlegt. So zeigte diese Studie mit knapp 7500 Teilnehmerinnen sogar eine Verschlechterung der Kognition der Teilnehmerinnen (Rapp et al. 2003, Shumaker et al. 2003, Craig et al. 2005) und eine erhöhte Rate an Schlaganfällen (Rossouw et al. 2002, Anderson et al. 2004). Als wichtige Variabel stellte sich der Zeitpunkt der HET heraus, woraus sich die „critical period“-Hypothese entwickelte, nach der der optimale Zeitpunkt der HET nahe am Beginn der Menopause liegen sollte, also ein „window of opportunity“ existiert (Maki 2006, Sherwin 2007, Craig und Murphy 2010, Whitmer et al. 2011, Scott et al. 2012).

Eine weitere Theorie für diesen Unterschied postuliert eine größere kognitive Reserve bei Männern (Stern 2006, Stern 2012, Xu et al. 2015). Dieser Theorie liegt die Annahme zugrunde, dass effizientere neuronale Netzwerke eine höhere Widerstandskraft gegen Störungen haben und alternative Netzwerke diese Störungen kompensieren können. Dabei spielen Faktoren wie Bildung, geistige Forderung im Alltagsleben und Freizeitgestaltung eine Rolle, welche sich durch unterschiedliche Möglichkeiten der Lebensgestaltung im letzten Jahrhundert für Frauen und Männer auswirken (Stern 2006, Stern 2012, Xu et al. 2015).

1.2 Das transgene Mausmodell Tg2576

Das Mausmodell Tg2576 wurde 1996 von Hsiao entwickelt. Es exprimiert das humane APP695-Gen in der Form der „schwedischen Mutation“, welches von einem Hamster-Promoter

kontrolliert wird, der für eine Überexpression des human APPs sorgt (Hsiao et al. 1996). Diese Mutation geht auf zwei schwedische Familien zurück und enthält eine Doppelmutation (Mullan et al. 1992). Durch diese wird die APP-Prozessierung durch die β -Sekretase (Haass et al. 1995, Vassar et al. 1999) dahin gehend verändert, dass es zu einer Erhöhung der A β -Konzentration im Gehirn der Betroffenen kommt (Citron et al. 1992, Cai et al. 1993).

Im Mausmodell bewirkt diese Mutation ebenfalls eine Erhöhung der A β_{1-40} - und A β_{1-42} -Konzentration (Hsiao et al. 1996), was in einer Plaque-Entstehung ab dem achten oder neunten Monaten resultiert (Hsiao et al. 1996, Kawarabayashi et al. 2001). Beim Verhalten der Tiere kommt es zu einem mit dem Alter fortschreitenden kognitiven Defizit (Schaeffer et al. 2011, Webster et al. 2014), jedoch ohne Verlust von Neuronen als pathophysiologisches Korrelat im Hippocampus (Irizarry et al. 1997). Im Hippocampus zeigen sich Defizite in der synaptischen Plastizität und der Dichte der dendritischen Dornfortsätze, was mit einer Beeinträchtigung der LTP und des räumlichen Gedächtnisses einhergeht (Chapman et al. 1999, Jacobsen et al. 2006). Studien weisen auf lösliche A β -Oligomere als verantwortlich für diese Beeinträchtigungen hin (Westerman et al. 2002, Lesne et al. 2006, Lesne et al. 2008). Neben den A β -assoziierten pathophysiologischen Ähnlichkeiten zum Menschen sind beim Mausmodell weitere Ähnlichkeiten beschrieben: So werden Gliazellen (Astrozyten und Mikroglia) aktiviert und pro- und anti-inflammatorische Zytokine (u. a. TNF- α) ausgeschüttet (Benzing et al. 1999, Apelt und Schliebs 2001). Auch sind im Gehirn die Merkmale von oxidativem Stress feststellbar (Pappolla et al. 1998, Smith et al. 1998, Apelt et al. 2004). Studien konnten ebenfalls eine Kaspase-3-Aktivität als Zeichen von synaptischer Dysfunktion nachweisen (D'Amelio et al. 2011).

Problematisch bei vielen Studien mit Verwendung von Mausmodellen ist jedoch die Tatsache, dass geschlechtsspezifische Unterschiede nur selten direkt untersucht werden. Es gibt nur wenige Studien, die den Effekt des weiblichen Geschlechtes auf kognitive Funktionen untersuchen und keine dieser Studien beschäftigt sich dabei mit dem zeitlichen Verlauf der kognitiven Einschränkungen (King et al. 1999, Foley et al. 2015, Granger et al. 2016, Melnikova et al. 2016). Studien mit verschiedenen Mausmodellen ergaben sehr unterschiedliche Ergebnisse beim Vergleich von A β -Konzentration und kognitivem Defizit in Bezug zum weiblichen Geschlecht. In einigen zeigte sich ein Unterschied sowohl in der A β -Konzentration und dem kognitivem Defizit (Wang et al. 2003, Carroll et al. 2010), in anderen wurde nur von einem Unterschied des kognitiven Defizites berichtet, woraufhin die Autoren eine höhere Sensibilität der weiblichen Tiere für A β postulierten (Granger et al. 2016, Melnikova et al. 2016). Untersuchungen speziell

des Mausmodells Tg2576 auf geschlechtsspezifische Unterschiede ergaben ebenfalls kontroverse Ergebnisse. King beobachtete etwa ein verstärktes kognitives Defizit (King et al. 1999) und Callahan eine erhöhte A β -Konzentration (Callahan et al. 2001) bei weiblichen Carriern. Jedoch konnten andere Untersuchungen dies nicht bestätigen (Foley et al. 2015). Aus diesen Ergebnissen ergibt sich die Notwendigkeit, das Mausmodell Tg2576 mit dem Fokus auf geschlechtsspezifische Unterschiede im zeitlichen Verlauf der kognitiven Defizite und pathophysiologischen Merkmale zu untersuchen.

2. Zielsetzung

Ziel dieser Studie war eine umfassende geschlechtsspezifische Phänotypisierung des transgenen Mausmodells Tg2576.

In einem ersten Schritt lag der Fokus bei den geschlechtsspezifischen Verhaltensänderungen abhängig vom Alter der Tiere. Dabei erfolgte die Verhaltenstestung mittels modifiziertem Hole-Board-Test (mHBT). Dieser Teil der Untersuchung wurde von Dr. Diana Fendl durchgeführt und im Rahmen ihrer Promotion „Phänotypische Charakterisierung eines transgenen Mausmodells [Anmerk.: Tg2576] der Alzheimer-Krankheit unter Bezug auf Alter und Geschlecht“ (Fendl 2013) veröffentlicht.

Ziel des, in dieser Arbeit beschriebenen, zweiten Schrittes, war die weiterführende laborchemische Analyse der Gehirne der Tiere und eine geschlechtsbezogene Untersuchung der zu Grunde liegenden Pathomechanismen. Dabei wurde der Fokus auf Amyloidopathie, Inflammation, Apoptose, oxidativen Stress und Veränderungen der Neurotransmission und LTP gelegt. Hierfür wurden die Gesamtmenge an Amyloidplaques und die Konzentration der Proteine A β ₁₋₄₂, Kaspase-3, TNF- α , NR2B und mGluR5 im Gehirn der Tiere bestimmt und mit den Ergebnissen der neurokognitiven Testung korreliert.

Die Ergebnisse beider Dissertationen wurden mit dem Titel „Cognitive decline in Tg2576 mice shows sex-specific differences and correlates with cerebral amyloid-beta“ veröffentlicht (Schmid et al. 2019).

3. Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Der Tierversuch wurde durch die Regierung von Oberbayern (Aktenzeichen 55.2-1-54-2531-1-10 und 55.2-1-54-2532-149-11) gemäß §8 des deutschen Tierschutzgesetzes (TierSchG in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313) nach der Aktualisierung am 9. Dezember 2010 (BGBl. I S. 1934)) genehmigt.

3.1.1 Herkunft und Haltung

Die Tiere des Mausmodells Tg2576 wurden in einem gesonderten Raum gezüchtet. Die hemizygoten Männchen wurden von Taconic Europe, Lille Skensved, Dänemark und die weiblichen C57B6/SJL-Zuchttiere von Jackson Laboratory (Maine, USA) über Charles River Laboratories (Sulzfeld, Deutschland) bezogen. Das Zuchtalter lag jeweils über acht Wochen und vor der Zucht wurde eine mindestens einwöchige Eingewöhnungszeit eingehalten. Für die Zucht wurden jeweils ein Männchen und ein oder zwei Weibchen im Käfig des Männchens zur Paarung gehalten. Bei Trächtigkeitsanzeichen wurden die Tiere getrennt. Die Nachkommen wurden nach 21 Tagen abgesetzt und per Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (im Charles River Laboratories L'Arbresle Cedex, Frankreich) genotypisiert.

Spätestens einen Monat vor Versuchsbeginn des modifizierten Hole-Board-Tests wurden die Tiere in einen speziellen Tierhaltungs- und Versuchsraum umgesiedelt, in dem sie bis Versuchsende gehalten wurden. Dieser Raum entsprach der Verordnung über die Sicherheitsstufen und Sicherheitsmaßnahmen bei gentechnischen Arbeiten in gentechnischen Anlagen (Gentechnik-Sicherheitsverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 14. März 1995 (BGBl. I S. 297), zuletzt geändert am 18. Dezember 2008 (BGBl. I S. 2768)). Des Weiteren wurden die Empfehlungen für Versuchstierhaltung (Ausschuss für die Ausbildung und Tiergerechte Haltung der GV-SOLAS – Gesellschaft für Versuchstierkunde, 1998) berücksichtigt. Der Raum war somit vollklimatisiert (Temperatur 22 ± 2 °C, relative Luftfeuchte von 60 ± 15 %, konstanter Luftwechsel), durch eine Zeitschaltautomatik wurde ein Tag-Nacht-Rhythmus von jeweils zwölf Stunden simuliert. Laborstandardkäfige (Makrolonkäfig Typ II) dienten zur Haltung. Hierbei wurden Männchen aufgrund gesteigerter Aggressivität isoliert und Weibchen in Gruppen von drei Tieren gehalten. Als Einstreu wurden autoklavierte Weichholzfaser (Lignocel®, Fa. J. Rettenmaier & Söhne GmbH und Co. KG, Rosenberg) und zum Nestbau Zellstoff und

autoklaviertes Heu genutzt. Die Ernährung erfolgte per Alleinfuttermittel (Altromin™ Hal- tungsmittel, Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Lage) und Leitungswasser per Nip- peltränke, beides nach Belieben. Der Käfigwechsel fand zweimal pro Woche statt, wobei so- wohl das Einstreu als auch das Wasser gewechselt wurden. Für die Hygienemaßnahmen wurden die Richtlinien der „Federation of Laboratory Animal Sciences Association“ befolgt.

3.1.2 Versuchsorganisation

Die Studie bestand aus 144 Tieren in 24 verschiedenen Gruppen. Dabei wurden sechs Alters- gruppen gebildet (6, 8, 10, 12, 14 und 16 Monate), die jeweils aus einer Gruppe von männlichen und weiblichen Tieren bestanden, welche nochmals in transgene Tiere („Carrier“) und nicht transgene Tiere („Wildtyp“) unterteilt wurde. Somit ergaben sich 24 verschiedene Gruppen mit jeweils sechs Versuchstieren (Abbildung 3). Im ersten Teil des Versuches wurde der mHBT mit jedem Tier durchgeführt. Im zweiten Teil wurden die Gehirne von jeweils zwei Tieren aus jeder Gruppe zufällig ausgewählt (48 Gehirne) und zur weiteren Untersuchung vorbereitet.

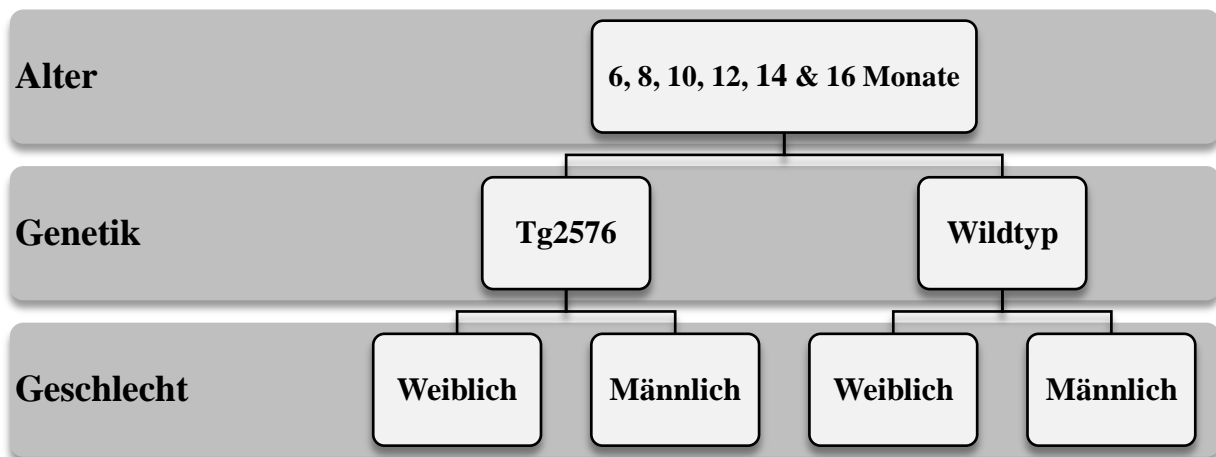


Abbildung 3: Versuchsorganisation und Aufteilung der Gruppen.

3.1.3 Modifizierter Hole-Board-Test

Für die kognitive Verhaltensuntersuchung der Mäuse wurde der mHBT verwendet, welcher als räumlich-sensorischer Verhaltenstest konzipiert wurde. Mithilfe des Tests konnten sowohl kog- nitive und motorische Fähigkeiten als auch verschiedene Verhaltensparameter gemessen wer- den (Ohl et al. 2001, Ohl und Keck 2003, Gordan et al. 2012). Dafür wurden die Tiere in einer Versuchsbox getestet, in deren Mitte das Holeboard mit zehn Zylindern platziert wurde. Jeder

der Zylinder enthielt unter einem Netz eine Mandel und wurde mit Vanillearoma bestrichen. In drei der Zylinder wurden randomisiert eine weitere für die Tiere erreichbare Mandel gelegt. Per Eingabe in ein Computerprogramm wurden die Aktionen des Tieres mithilfe vorher definierter Befehle festgehalten. Dabei wurde die Aktionsart, der Zeitpunkt des Auftretens und die Dauer protokolliert. Der Durchgang wurde entweder nach fünf Minuten beendet oder sobald das Tier alle drei Mandeln gefunden hatte. Der Test wurde an acht aufeinander folgenden Tagen in vier Versuchsdurchgängen pro Tier von derselben Person und in der Aktivitätsphase der Mäuse durchgeführt. Die bestückten Zylinder wechselten dabei zwischen den Tagen, nicht aber zwischen den Versuchsdurchgängen an einem Tag. Für die genaue Versuchsdurchführung des mHBT und der Auswertung dessen Ergebnisse darf auf die Vorgängerarbeit von Dr. Fendl oder die veröffentlichte Studie verwiesen werden (Fendl 2013, Schmid et al. 2019).

3.1.4 Probenentnahme und -aufbereitung

Die Tiere wurden am neunten Tag mit Isofluran (5,0 Vol.-%; Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) betäubt und per Dekapitation getötet. Es erfolgte die Öffnung des Schädelknochens und die Entnahme des Gehirns. Die nach der Entnahme bei -80°C gefrorenen Gehirne werden ca. zwölf Stunden vor dem Schneiden bei -20°C aufgetaut. Im ersten Schritt wurde das Gehirn per Sagittalschnitt in zwei Hemisphären geteilt und das Kleinhirn abgetrennt. Anschließend wurden am Kryotom (Thermo Scientific Microm HM 560 V) von der ersten Hemisphäre Sagittalschnitte zur späteren Färbung erstellt. Dabei wurden jeweils drei Hirnschnitte auf einen Objektträger (Thermo Scientific Menzel-Gläser Superfrost Ultra Plus) aufgetragen, wobei nach jeweils drei Objektträgern zwischen den Schnittdicken von $10\mu\text{m}$ und $50\mu\text{m}$ gewechselt wurde. Die Objektträger wurden nummeriert.

Von der zweiten Hemisphäre wurden für die Proteinanalytik Frontalschnitte angefertigt, wobei mit einer Schnittdicke von $100\mu\text{m}$ nach folgendem Schnittprotokoll gearbeitet wurde: $1000\mu\text{m}$ Rest; $400\mu\text{m}$ medialer präfrontaler Kortex (MPFC, engl. medial prefrontal cortex); $100\mu\text{m}$ Rest; $500\mu\text{m}$ motorischer Kortex; $400\mu\text{m}$ Rest; $2000\mu\text{m}$ sensorischer Kortex (SC); ca. $500\text{--}1200\mu\text{m}$ Rest bis der Hippocampus (HC) zu erkennen war. Die Schnitte wurden jeweils in beschrifteten Mikroreaktionsgefäßen (HC, MPFC, motorischer Kortex, SC, Rest) (Eppendorf AG, Hamburg) gesammelt. Danach wurde der Hippocampus aus dem restlichen Hirngewebe entfernt und ebenfalls in einem Mikroreaktionsgefäß gesammelt. Die Objektträger und Mikroreaktionsgefäße wurden bei -80°C eingefroren.

3.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

3.2.1 Proteinaufbereitung und Konzentrationsbestimmung

Es wurden jeweils zwei bis drei Frontalhirnschnitte des MPFC in Mikroreaktionsgefäße (Eppendorf AG, Hamburg) gegeben und mit dem zehnfachen Gewicht in Eiswasser gekühltem Guanidine-Puffer (5,0mol/l / 50mmol/L Tris-Cl bei pH 8,0; Tabelle 1) homogenisiert. Diese Mischung wurde für dreieinhalb Stunden bei Raumtemperatur auf einem 3D-Schüttler gemischt. Anschließend wurde die Mischung mit dem zehnfachen Gewicht in Eiswasser gekühlten Casein-Puffer (0,25% Casein, 0,05% Natriumazid, 20µg/ml Aprotinin, 5mmol/l Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), 10µg/ml Leupeptin in Phosphatgepufferter-Salzlösung (PBS) bei pH 8,0; Tabelle 2) verdünnt und bei vier Grad mit 13.000 Umdrehungen für 20 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Mikroreaktionsgefäß gefüllt und diese Proteinlösungen bei -80°C gelagert. Die Proteinaufbereitung wurde nach der Anleitung eines ELISA-Kits für Amyloid-β von Wako Pure Chemical Industries durchgeführt.

Tabelle 1: Guanidine-Puffer

Substanz	Produkt
Tris	Roche, #10708976001
Guanidine-HCl	Sigma-Aldrich, #G3272-100G

Tabelle 2: Casein-Puffer

Substanz	Produkt
Casein	Sigma-Aldrich, #22090-100G
Natriumazid	Sigma-Aldrich, #S8032-25G?
Aprotinin	Sigma-Aldrich, #A1153-5MG
EDTA	Sigma-Aldrich, #EDS-100G?
Leupeptin	Sigma-Aldrich, #L2884-5MG
PBS	AppliChem PanReac, #A0965,9050

Die Konzentrationsbestimmung der einzelnen Proteinlösungen wurde per Bradford-Test durchgeführt (Bradford 1976, Kruger 1994). Hierfür wurden je Lösung zwei Mikroreaktionsgefäße (Eppendorf AG, Hamburg) bereitgestellt, in welchen jeweils eine 1:5 und 1:10 Verdünnung der Lösung angefertigt wurde. Nach Bradford wurde eine Standardreihe (jeweils dreimal pro Konzentration: 125; 250; 500; 750; 1000; 1500; 2000µg/ml (Thermo Scientific, Pre-Diluted Protein

Assay Standards: BSA-Set, #23208) und jeweils dreimal 5 μ l der Verdünnungen (1:5 & 1:10) auf eine 96-well-Mikrotiterplatte (Brand microplate, Brand 781602)) pipettiert. Anschließend wurden 25 μ l der Reagenz A und 200 μ l der Reagenz B (BioRad DC Protein Assay Reagent A (#500-0113) & B (#500-0114)) in die Wells pipettiert. Nach einer Inkubation von 30 Minuten wurde die 96-well-Mikrotiterplatte bei 620nm optischer Wellenlänge per Sunrise™ (Tecan Group, Maennedorf, Swiss) ausgelesen, Standardkurve und einzelne Probenkonzentrationen wurden per Magellan (Tecan Group, Maennedorf, Swiss) erstellt und ausgewertet.

3.2.2 Proteinauftragung, -trennung und -markierung

Für den folgenden ELISA wurde das Human-A β 42 ELISA Kit (Wako Pure Chemicals Industries, USA) benutzt, welches alle nachfolgend genutzten Reagenzien enthält und eine Sensitivität von < 10pg/ml für humanes Amyloid- β ₁₋₄₂ besitzt.

Die einzelnen Proben wurden per Standardverdünnungspuffer (im ELISA Kit enthalten) auf eine einheitliche Proteingesamtkonzentration (0.075 μ g/ μ l) verdünnt. Zur Herstellung einer Standardlösung für eine Standardverdünnungsreihe wurde dem Standardpulver 1,4ml des Reconstitution-Puffers zugefügt (55mM Natriumhydrogencarbonat, pH 9,0; Sigma-Aldrich, #S5761-1KG). Aus dieser Mischung wurde per Verdünnung durch den Standardverdünnungspuffer eine Verdünnungsreihe des Standards (0; 15,63; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000pg/ml) hergestellt. Als Vorbereitung für die Waschvorgänge wurde das Waschpufferkonzentrat (25x) mit Reinstwasser (Merck, Milli-Q® Direct Wasseraufbereitungssystem) auf eine einfache Konzentration verdünnt. Des Weiteren wurde die Anti-Hase IgG HRP-Lösung von einer hundertfachen Konzentration mit HRP-Verdünnungsmix auf eine einfache Konzentration verdünnt.

Für jede Probe und jede Verdünnung des Standards wurden zwei Wells der 96-well-Mikrotiterplatte mit 50 μ l befüllt. 50 μ l Human A β ₁₋₄₂ Detektionsantikörper wurde in jedes Wells hinzugefügt und anschließend die versiegelte Wellplatte über Nacht auf einem 3D-Schüttler im Kühlschrank inkubiert. Nach der Inkubation wurde per Schütteln der Inhalt jedes Wells entfernt und viermal mit jeweils 400 μ l Waschpuffer die einzelnen Wells gespült. Danach wurde in jedes Well 100 μ l der einfachen Anti-Hase IgG HRP-Lösung pipettiert. Anschließend wurde die versiegelte Wellplatte für 30 Minuten auf einem 3D-Schüttler inkubiert. Es folgten das Entfernen der Anti-Hase IgG HRP-Lösung und ein weiterer Waschvorgang (je Well viermal 400 μ l Waschpuffer). 100 μ l stabilisiertes Chromogen wurde in jedes Well pipettiert und für 30 Minuten in Dunkelheit inkubiert. Nachfolgend wurden 100 μ l Stopplösung pro Well hinzugefügt.

3.2.3 Bestimmung der A β -Konzentration

Die Wellplatte wurde bei 450nm optischer Wellenlänge per SunriseTM (Tecan Group, Maennedorf, Swiss) ausgelesen, Standardkurve und einzelne Probenkonzentrationen wurden per Magellan (Tecan Group, Maennedorf, Swiss) erstellt und ausgewertet.

3.3 Methoxy-X04-Färbung

3.3.1 Vorbereitung

Von den am Kryomikrotom (s.o.) erstellten Hirnschnitten auf Objektträgern (Thermo Scientific Menzel-Gläser Superfrost Ultra Plus) in den Dicken 10 μ m und 50 μ m wurden sieben Objektträger zum Färben ausgewählt (Auswahlschema nach Nummerierung der Objektträger: 7; 9; 13; 15; 21; 25) (Abbildung 4). Mit dem Ziel eine vergleichbare Auswahl an Objektträgern für alle Gehirne auszuwählen und den jeweils besten Schnitt zu färben, wurde aufgrund von Artefakten und Rissen teilweise von diesem festen Auswahlschema abgewichen.

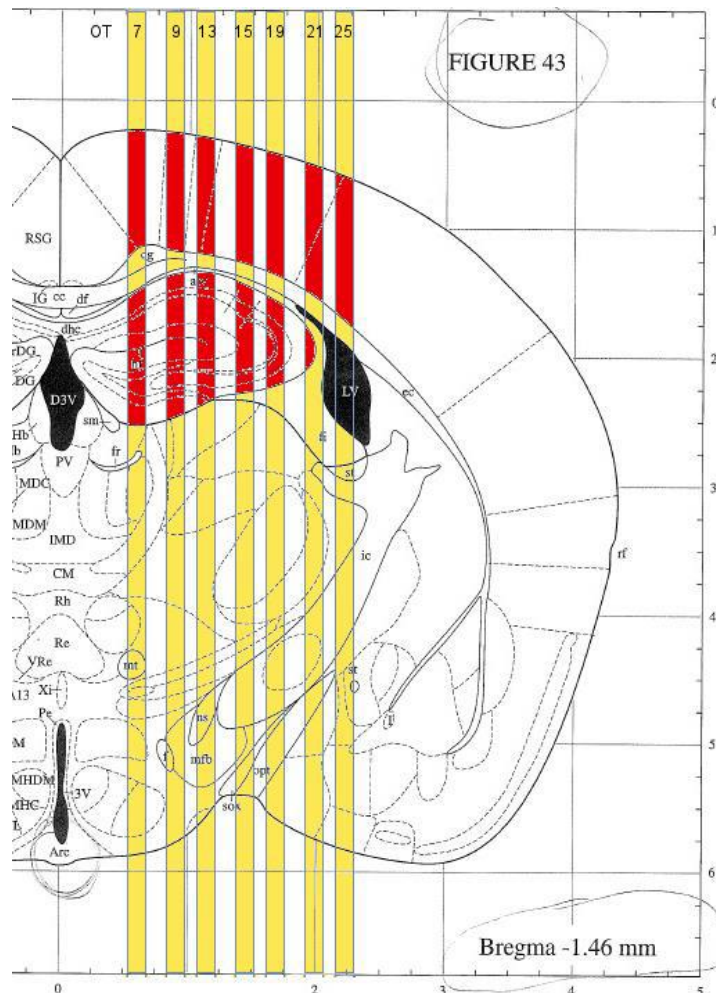


Abbildung 4: Auswahl der Objektträger (farblich hervorgehoben) für Fluoreszenzfärbung. Region von Interesse (ROI, engl. region of interest), rot. Restlicher Gewebeschnitt, gelb; in Anlehnung an Figure 43 in Paxinos & Franklin „The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates“; (Paxinos 2004).

Für die späteren Waschvorgänge und die Methoxy-X04-Fertiglösung wurde zuerst eine einfach konzentrierte PBS-Lösung hergestellt. Dafür wurden 95,5g des PBS-Pulvers (Tabelle 3) in 1L Reinstwasser (Merck, Milli-Q® Direct Wasseraufbereitungssystem) gelöst. 100ml dieser Lösung wurden anschließend mit 900ml Reinstwasser verdünnt. Zur Herstellung der Methoxy-X04-Fertiglösung wurden 10mg Methoxy-X04-Pulver in 100µl Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst, daraufhin mit jeweils 450µl 1xPBS-Lösung und 1,2-Propandiol sowie 50µl 1N Natriumhydroxid-Lösung aufgefüllt, bis die Lösung klar wurde. Anschließend wurden 800µl dieser Lösung mit 200ml einer 1:1-Ethanol-PBS-Lösung auf eine Konzentration von ca. 0,04mg/ml verdünnt und gemischt (Tabelle 4). Nach einer Filtrierung wurde die Lösung unter Schutz vor Licht bei vier Grad gelagert.

Tabelle 3: Phosphatgepufferter-Salzlösung

Substanz	Produkt
PBS-Puffer (10xDulbecco's) Pulver	AppliChem, #A0965
- Di-Natriumhydrogenphosphat; wasserfrei 11,50g/L	
- Kaliumchlorid 2,00g/L	
- Kaliumdihydrogenphosphat 2,00g/L	
- Natriumchlorid 80,00g/L	

Tabelle 4: Methoxy-X04-Fertiglösung

Substanz	Produkt
Methoxy-X04-Pulver	Tocris Bioscience, #4920
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich, #276855
1,2-Propandiol	Krankenhausapotheke MRI
1N Natriumhydroxid-Lösung	Sigma-Aldrich, #59223C
Ethanol	Merck, #100983

3.3.2 Plauefärbung

Zur Fixierung der Gewebeschnitte wurden diese 20 Minuten in auf -20°C gekühltem Aceton (Merck, #100014) inkubiert und anschließend bei Raumtemperatur getrocknet. Daraufhin wurden die Schnitte mit 1:1-Ethanol-PBS-Lösung (s.o.) zweimal für je zehn Minuten gewaschen. Aufgrund der Fotolabilität der Methoxy-X04-Lösung fanden alle weiteren Schritte unter Lichtschutz der Schnitte statt. Zur Färbung der Gewebeschnitte wurden diese 30 Minuten in der Methoxy-X04-Fertiglösung inkubiert. Anschließend wurden diese dreimal für jeweils zehn Minuten mit 1:1-Ethanol-PBS-Lösung und danach zweimal für jeweils zehn Minuten mit Reinstwasser gewaschen. Unter Lichtausschluss und bei Raumtemperatur wurden die Schnitte getrocknet. Daraufhin wurden diese mit Fluorescence Mounting Medium (DAKO, #S302380-2) eingedeckt und mit einem Deckglas (Menzel) bedeckt und bei vier Grad gelagert. Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden nachfolgend innerhalb von zwei Wochen durchgeführt.

3.3.3 Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung

Für die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung wurden die Objektträger (Menzel) in das Mikroskop (Tabelle 5) eingespannt und unter zehnfacher Vergrößerung angesehen. Zum Akquirieren der Rohdaten wurden im Programm „Zen 2012 Blue“ (Tabelle 6) Fluoreszenzbilder mit folgenden Einstellungen erstellt: Acquisition Parameter: Enable ApoTome, Phase Images

5; Live Mode: Grid Visible; Channels: DAPI (Camera MRm, Time 90ms, Shift 90%); Focus Strategy: Z-Stack Acquisition “Fixed Z”; Z-Stack: Center (Range: 50.000 μm , Slices: 6, Intervall: 8300, Keep: Interval), Tiles (X: 8; Y: 3). Dabei wurden die Regionen des Hippocampus und des Isokortex als „Region of Interest“ im Programm festgelegt.

Tabelle 5: Genutzte Geräte

Gerät	Produkt
ApoTome.2 (Fluoreszenz-Imaging-System)	Carl Zeiss Microscopy
Axio Imager (M)2 Mikroskop	Carl Zeiss Microscopy
Axiocam MRm/MRc (digitale Mikroskopkameras)	Carl Zeiss Microscopy
Beleuchtungseinrichtung HXP 120 C	Carl Zeiss Microscopy

Tabelle 6: Genutzte Programme

Programm	Produkt
Fiji (ImageJ 1.51h)	Rasband, W., National Institutes of Health, USA
GIMP 2.8.18 GNU Image Manipulation	Kimball S., Mattis P. et al.
Zen 2012 Black	Carl Zeiss Microscopy
Zen 2012 Blue	Carl Zeiss Microscopy

3.3.4 Bearbeitung und Auswertung der Rohdaten

Zur Bearbeitung wurden die Bilder normalisiert, gefiltert und von Artefakten gereinigt (Programmfunktionen: Normalization, Local Bleaching, Phase Correction, Fourier Filter-Medium, Stitching). Anschließend wurden diese in das Programm „Zen 2012 Black“ (Tabelle 6) übertragen und hier die einzelnen Slices aufeinander projiziert (Programmfunktion „Maximum Intensity Projection“). Mittels des Programms „Zen 2012 Blue“ wurden Helligkeit, Kontrast und Gamma angepasst. Mit dem Programm „GIMP“ (Tabelle 6) wurden etwaige Artefakte der Gewebeschnitte per Ausschneiden-Funktion aus den Bildern entfernt.

Die Bestimmung und Beurteilung der Last an Amyloid- β -Plaques in den Gewebeschnitten erfolgte mithilfe des Programmes „Fiji“ (Tabelle 6) nach folgenden Kriterien: Anzahl der Plaques im Hippocampus und Isokortex (n), Größe der Amyloid- β -Plaques (px), prozentualer Anteil der Plaques an Gesamt-, Hippocampus- & Isokortexfläche (px/px = %). Dabei wurden folgende „Allgemeinen Einstellungen“ genutzt: Area; Min & max gray value; Shape descriptors; Area fraction; Mean gray value; Centroid; Perimeter; Display label. Zur Skalierung wurden folgende

Parameter gewählt: Distance in pixel = 0; Known distance = 0; Pixel aspect ratio = 1,0; Unit of length: pixel; Global. Die separate Abgrenzung und Erfassung der Areale des Hippocampus und Isokortex erfolgte mithilfe des Allen Reference Atlas per Abbildung eines Referenz-Maushirns in sagittaler Ebene (Science 2019), wobei die Festlegung der ROI mithilfe des im Programm „Fiji“ enthaltenen Polygonale Selection Tool durchgeführt wurde. Für die Analyse wurden folgende Analyse Parameter genutzt: Size (0-Infinity); Circularity (0,00-1,00); Show (Overlay Masks); Display results; Summarize.

3.4 Western-Blot

3.4.1 Proteinaufbereitung und Konzentrationsbestimmung

Die Proteinaufbereitung fand unter kontinuierlicher Kühlung von Proben und Puffer per Wassereisbad statt. Es wurden jeweils zwei bis drei Frontalschnitte in Grinding Tubes (Sample Grinding Kit, GE Healthcare, Munich, Germany) umgefüllt und mit 300µl der Extraktionslösung (Tabelle 7) gemischt. Dabei wurden Hirnschnitte des sensorischen Kortex oder des Hippocampus verwendet. Die Mischung wurde für zwei bis drei Minuten per Pestles (Sample Grinding Kit) homogenisiert. Nachfolgend wurden die Grinding Tubes bei 13.000 Umdrehungen und vier Grad für 30 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in Mikroreaktionsgefäße (Eppendorf AG, Hamburg) umgefüllt und die Proteinlösungen bei -80°C gelagert.

Die Konzentrationsbestimmung der einzelnen Proteinlösungen wurde per Bradford-Test wie unter 3.2.1 beschrieben durchgeführt (Bradford 1976, Kruger 1994). Die einzelnen Proteinlösungen wurden daraufhin mit Sample-Buffer (auch „Laemmli-Puffer“) (Tabelle 8) auf eine einheitliche Gesamtproteinkonzentration eingestellt (Laemmli 1970).

Tabelle 7: Extraktionslösung

Substanz	Produkt	Volumen/Menge für 1ml
Ripa Buffer	Sigma-Aldrich, #R0278-500ML	970µl
50x Complete	Roche, #11697498001	20µl
100x PMSF	Sigma-Aldrich, #P7626	10µl
Pepstatin (1mg/ml)	Sigma-Aldrich, #P5318	1µl

Tabelle 8: Sample-Puffer/Laemmli-Puffer

Substanz	Produkt	Volumen/Menge für 4x Konzentration
LDS Sample Buffer	Novex, NuPAGE, #NP0007	1ml
Sample Reducing Agent	Invitrogen, NuPAGE, #NP0009	0,4ml

3.4.2 Gelelektrophorese und Proteintransfer

Die auf eine Gesamtproteinkonzentration standardisierten Proben wurden für fünf Minuten bei 95°C denaturiert. Anschließend wurden je Probe 40µg Gesamtproteinkonzentration (20µl bei 2µg/µl; 53µl bei 0,75µg/µl) auf jeweils eine Bahn von TGX Stain-Free™ FastCast™ Acrylamide Kit Gele (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany) (Tabelle 12) aufgetragen. Zur Proteinidentifikation wurde eine „Ladder“-Lösung mit Proteinen einer spezifischen Länge ebenfalls aufgetragen. Daraufhin wurden die Proteine in der anschließenden Gelelektrophorese (100 Volt für 20 Minuten, danach 200 Volt für 35 Minuten) aufgetrennt. Die Elektrophoresekammer wurde vor diesem Schritt mit Elektrophorese-Puffer (Tabelle 9) gefüllt. Im letzten Schritt wurde von den aufgetrennten Proteinen in den Gelen per Bio-Rad Molecular Imager® ChemiDoc™ XRS+ (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany) eine digitale Fotografie angefertigt.

Zur Vorbereitung auf den Proteintransfer wurden die Polyvinylidenfluorid-Membranen (PVDF-Membranen) (Amersham Hybond Low Fluorescence 0.2µm PVDF-Membrane; THGeyer, GmbH, Munich, Germany) zuerst ca. fünf Sekunden in Methanol (Merck Millipore, #1060071000), anschließend für fünf Sekunden in Reinstwasser (Merck, Milli-Q® Direct Wasseraufbereitungssystem) und zuletzt in Blotting-Puffer eingelegt. Der Proteintransfer der Proteine von den Gelen auf die Membranen wurde bei 80 Volt für eine Stunde durchgeführt, wobei die Transferkammer mit Blotting-Puffer (Tabelle 10) gefüllt war (sog. „wet blotting“ (Gavini und Parameshwaran 2019)). Von den Membranen wurde nach dem Proteintransfer per Bio-Rad Molecular Imager® ChemiDoc™ XRS+ ebenfalls eine digitale Fotografie angefertigt.

Tabelle 9: Elektrophorese-Puffer

Substanz	Produkt	Volumen/Menge (ad 1l dH ₂ O)
Tris	Roche, #10708976001	3g
Glycin	Sigma-Aldrich, #G8898-1KG	14,4g
Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)	Serva, #20765	1g

Tabelle 10: Blotting-Puffer

Substanz	Produkt	Volumen/Menge (ad 1l dH ₂ O)
Tris	Roche, #10708976001	30g
Glycin	Sigma-Aldrich, #G8898-1KG	69g

3.4.3 Proteinmarkierung und Konzentrationsbestimmung des gesuchten Proteins

Die PVDF-Membran wurde per Roti®-Block (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Germany) mit einer Verdünnung von 1:10 für eine Stunde geblockt und dreimal für fünf Minuten in Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit Tween 20 (TBS/T) (Tabelle 11) gewaschen. Die Membran wurde anschließend über Nacht in einer Verdünnung des primären Antikörpers (Tabelle 12) inkubiert, danach erneut dreimal für fünf Minuten in TBS/T gewaschen und für eine Stunde in einer Verdünnung des sekundären Antikörpers (Tabelle 12) inkubiert. Nach einem dritten Waschschrift (dreimal für fünf Minuten in TBS/T) wurde die Membran für eine Minute in 1,5ml Clarity™ Western ECL Substrate (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany) inkubiert. Die markierten Proteine wurden per Bio-Rad Molecular Imager® ChemiDoc™ XRS+ detektiert und für die Analyse wurde „ImageLab“ (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany) genutzt.

Tabelle 11: Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit Tween 20

Substanz	Produkt	Volumen/Menge (ad 1l dH ₂ O) bei pH 7,7
Tris	Roche, #10708976001	3g
Natriumchlorid	Sigma-Aldrich, #S7653-5KG	11,1g
Tween 20	Sigma-Aldrich, #P9416	1ml

Tabelle 12: Verwendete Chemikalien je untersuchtem Protein

	Kaspase-3	mGluR5	NR2B	TNF- α
Trennstufe der Gele	10%	7,5%	7,5%	10%
Ladder	Cell Signaling #12949	Color-Coded Prestained Protein Marker Cell Signaling #12949	Cell Signaling #12949 Invitrogen Magic Mark XP LC5602	Cell Signaling #12949
Block-Lösung	Roti-Block 1:10			
1. Antikörper	Cell Signaling Caspase3 AB CS #9662S	Abcam Anti-mGluR5 AB ab53090	Cell Signaling NMDAR2B AB CS #4207	Pro Science XP-5284 1 μ g/ml
Verdünnung	1:1.000			
2. Antikörper	Anti-rabbit IgG HRP-linked AB; Meerrettichperoxidase (HRP)			
Verdünnung	1:10.000			

3.5 Statistische Auswertung

Die Analyse der Kognitions- & Verhaltensparameter erfolgte mit Hilfe allgemeiner linearer Modelle in hierarchischer Reihenfolge. Dabei wurden die abhängigen Variablen mit den Zwischengruppen-Faktoren Geschlecht (weiblich und männlich), Genotyp (Tg2576 und Wildtyp), Alter bei Beginn der kognitiven Testung (6, 8, 10, 12, 14, 16 Monate), Zeit und deren Interaktionen analysiert. Die Ergebnisse der Testungen im mHBT an den acht aufeinanderfolgenden Testtagen wurden in das Modell einbezogen und die Effekte der zeitlichen Veränderung aufgrund des konstant fallenden Zeitbedarfs bei Lernkurven in einem linearen Modell untersucht.

Weiterführende Tests wurden durchgeführt, falls die Interaktion zwischen den Faktoren Geschlecht und Alter oder Genotyp und Alter signifikant waren.

Die statistischen Analysen der laborchemischen Ergebnisse wurden nach logarithmischer Transformation durchgeführt, da die Proteinmenge an Amyloid- β , der Prozentsatz an von Amyloidablagerungen belegter Hirnfläche und die Proteinkonzentrationen von TNF- α , Kaspase-3 und NR2B nicht normalverteilt war. Anschließend wurden zwischen diesen Parametern, den Gedächtnis- („Wrong choices gesamt“, „Repeated choices“), Verhaltensparametern und dem Alter der Tiere bei Beginn der Testung lineare Regressionsanalysen durchgeführt.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mithilfe von SPSS Statistics® (Version 24.0; IBM; New York; United States). Dabei wurde das Signifikanzniveau auf 5% ($\alpha = 0,05$) festgelegt.

4. Ergebnisse

4.1 Verhalten

Die Versuchsergebnisse des mHBT wurden direkt der Dissertation von Dr. Diana Fendl „Phänotypische Charakterisierung eines transgenen Mausmodells der Alzheimer-Krankheit unter Bezug auf Alter und Geschlecht“ entnommen (Fendl 2013, Schmid et al. 2019). Die Auswertung erfolgte mit dem Fokus auf Differenzen zwischen transgenen Tieren und Wildtyptieren und Geschlechtsunterschieden.

Ab einem Alter von acht Monaten war im Vergleich der Tg2576-Carrier zu den Wildtyptieren das deklarative Gedächtnis („Wrong choices gesamt“ (WC) und das Arbeitsgedächtnis („Repeated choices“ (RC)) der Carrier beeinträchtigt (Abbildung 5: A + B; p-Werte in Tabelle 13). Im Vergleich der gesamten kognitiven Leistungen („time complete“) zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Abbildung 5: C).

Neben den Genotypen wurden auch die geschlechtsspezifischen Unterschiede bei Tg2576-Carriern untersucht. Ab zwölf Monaten war das deklarative Gedächtnis („Wrong choices gesamt“) weiblicher Tiere signifikant schlechter als das der männlichen Tiere (Abbildung 5 A; p-Werte in Tabelle 14). Das Arbeitsgedächtnis („Repeated choices“) und die gesamte kognitive Leistung („time complete“) wiesen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede auf.

Tabelle 13: Statistische Analyse der kognitiven und Verhaltensparameter der Tg2576-Carrier im Vergleich zu den Wildtyptieren im entsprechenden Alter; nach (Schmid et al. 2019).

Parameter	6 Monate	8 Monate	10 Monate	12 Monate	14 Monate	16 Monate
WC gesamt	p = 0,731	p = 0,015	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
RC	p = 0,840	p = 0,005	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

Tabelle 14: Statistische Analyse der kognitiven und Verhaltensparameter der weiblichen Tg2576-Carrier im Vergleich zu männlichen Carriern im entsprechenden Alter; nach (Schmid et al. 2019).

Parameter	6 Monate	8 Monate	10 Monate	12 Monate	14 Monate	16 Monate
WC gesamt	p = 0,401	p = 0,962	p = 0,209	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

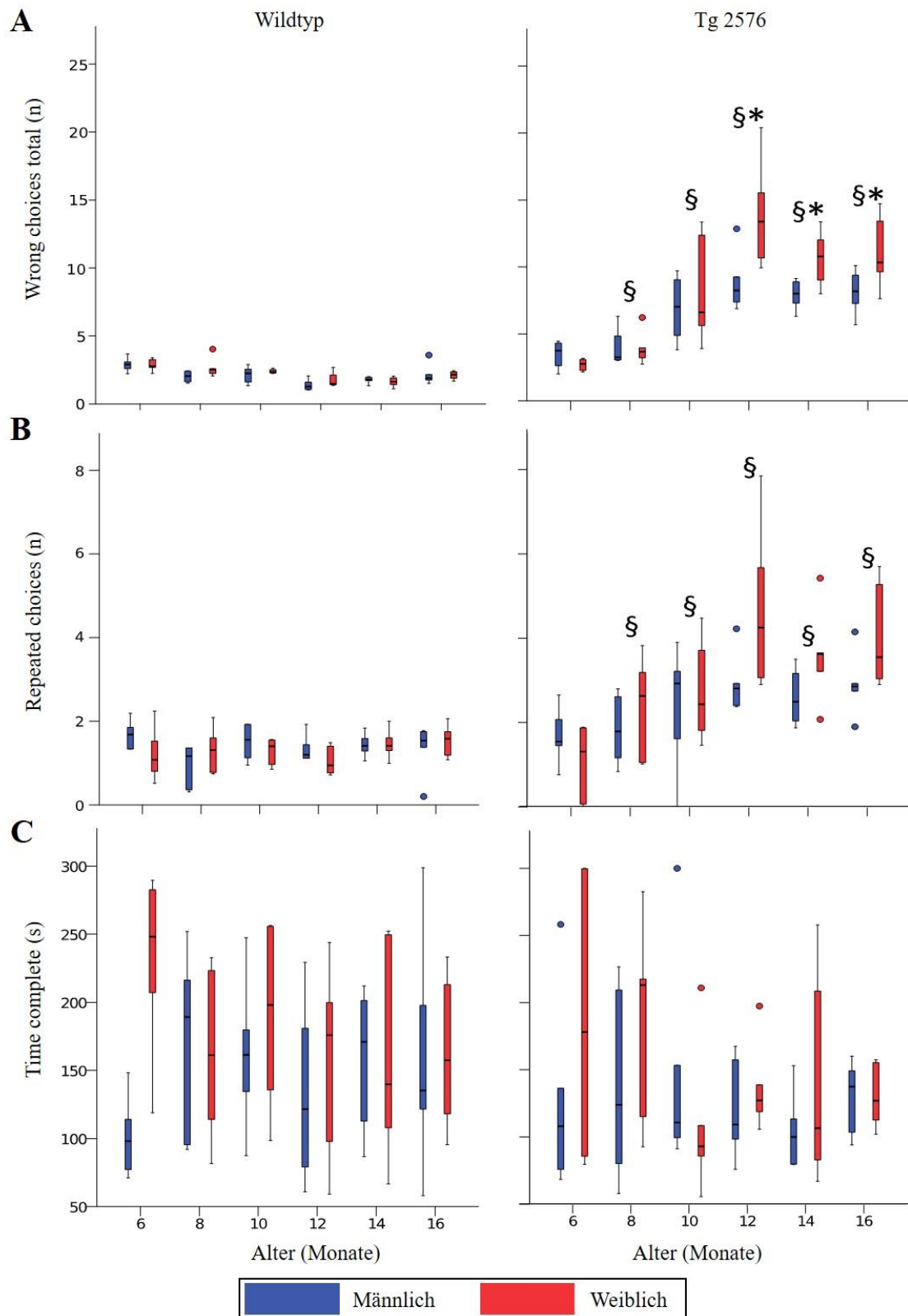


Abbildung 5: Neurokognitive Funktionen im modifizierten Hole-Board-Test von Wildtyp-Tieren und Tg2576-Carriern über die acht Testtage: Durchschnitt der Testtage (A) „Wrong choices gesamt“ (deklarative Gedächtnis), (B) „Repeated choices“ (Arbeitsgedächtnis), (C) „Time complete“ (gesamte kognitive Leistung); Boxplot: horizontale Linie, Median; Box: 25. und 75. Perzentile; Punkte: Ausreißer; 6 Mäuse pro Alter, Geschlecht und Genotyp (gesamt 144); § $p < 0,05$ Tg2576 vs. Wildtyp, * $p < 0,05$ weiblich vs. männlich; nach (Schmid et al. 2019).

4.2 A β

Bei transgenen Tg2576 Mäusen war ein höheres Alter mit einer höheren Proteinkonzentration an Amyloid- β_{1-42} im motorischen präfrontalen Kortex (MPFC, engl. medial prefrontal cortex) assoziiert ($p = 0,001$) (Abbildung 6). Ebenso war ein höheres Alter mit einer größeren Menge an Amyloidplaques im Hippocampus und Kortex assoziiert ($p < 0,001$) (Abbildung 7). Das Geschlecht hatte keinen signifikanten Einfluss auf diese Zusammenhänge.

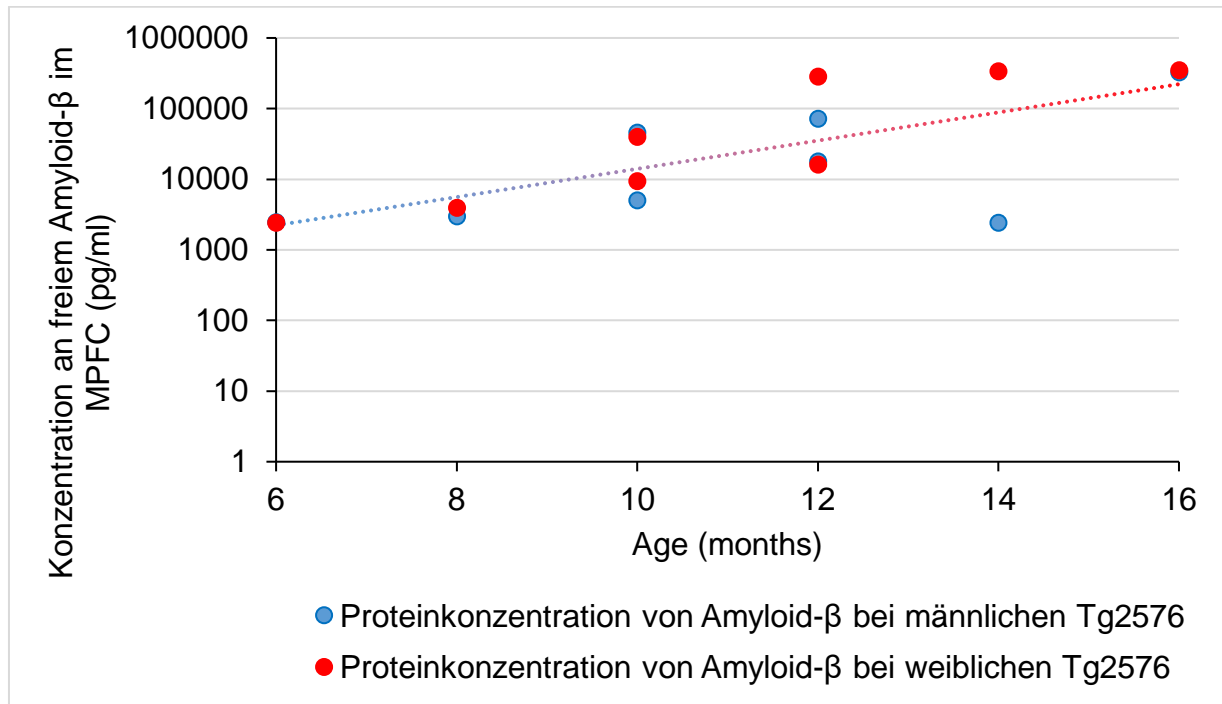


Abbildung 6: Regression zwischen der Konzentration an freiem Amyloid- β_{1-42} im MPFC und Alter der Tg2576-Carrier. Ein steigendes Alter war verbunden mit einer höheren Konzentration an Amyloid- β ($p = 0,001$); jeweils acht weibliche und männliche Tiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).

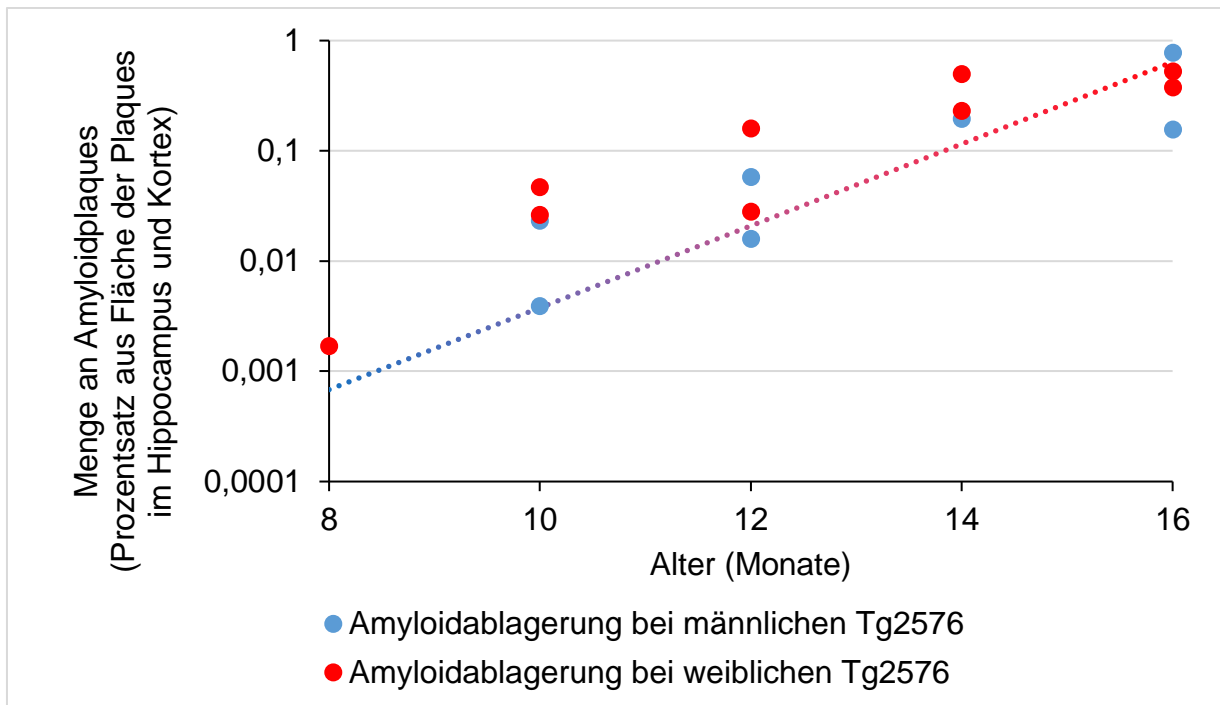


Abbildung 7: Regression zwischen Menge an Amyloidplaques im Hippocampus und Kortex und Alter der Tg2576-Carrier. Ein steigendes Alter war verbunden mit einer steigenden Menge an Amyloidplaques ($p = 0,001$); 10 weibliche und 9 männliche Tiere im Alter von 8 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).

Als signifikant erwiesen sich jedoch die Zusammenhänge zwischen Proteinkonzentration an Amyloid- β oder Menge an Amyloidplaques, Fehlern im mHBT („Wrong choices gesamt“) und dem Geschlecht der Tiere. Eine höhere Proteinkonzentration an Amyloid- β im MPFC war assoziiert mit mehr Fehlern im mHBT ($p < 0,001$), wobei weibliche Carrier insgesamt mehr Fehler machten ($p < 0,001$). Darüber hinaus beeinflusste das weibliche Geschlecht positiv den Effekt der Amyloid- β -Konzentration auf die Fehlergesamtzahl, so dass bei gleicher Amyloid- β -Konzentration weibliche Carrier mehr Fehler machten ($p < 0,001$) (Abbildung 8).

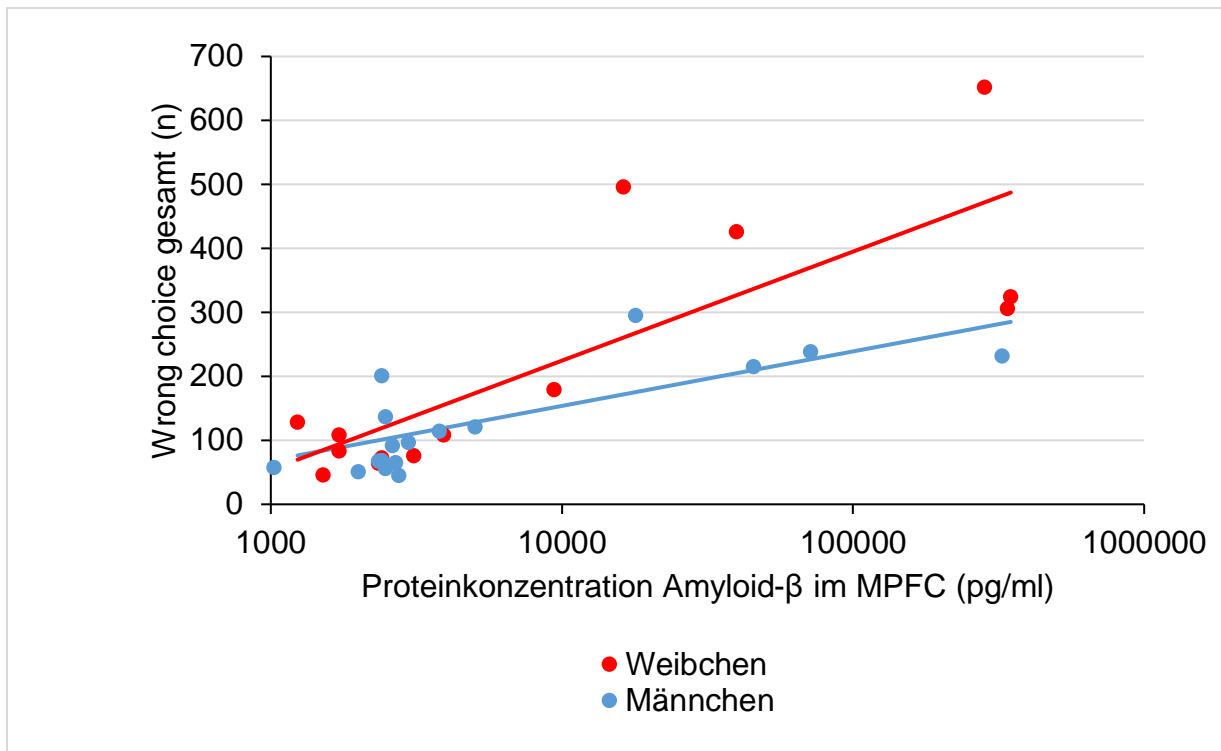


Abbildung 8: Regression zwischen der gesamten Fehlerzahl („Wrong choices gesamt“) über acht Testtage und der Proteinkonzentration an Amyloid- β_{1-42} im MPFC. Eine erhöhte Amyloid- β -Proteinkonzentration war mit einer erhöhten Gesamtfehlerzahl assoziiert ($p < 0,001$), wobei weibliche Tiere insgesamt mehr Fehler machten ($p < 0,001$). Darüber hinaus erhöhte das weibliche Geschlecht signifikant den Effekt der Amyloid- β -Gesamtkonzentration auf die gesamte Fehlerzahl ($p < 0,001$); 9 weibliche und 7 männliche Tg2576-Carrier und 6 weibliche und 11 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).

Diese Zusammenhänge zeigten sich ebenfalls bei der Menge an Amyloidplaques. Eine größere Menge an Amyloidplaques war assoziiert mit mehr Fehlern ($p < 0,001$). Ebenso wurden bei weiblichen Carriern insgesamt mehr Fehler gemessen ($p < 0,001$). Auch beeinflusste das weibliche Geschlecht positiv den Effekt der Amyloidplaques auf die Fehlergesamtzahl, so dass ebenfalls bei gleicher Menge an Amyloidplaques weibliche Carrier mehr Fehler im Test machten ($p < 0,001$) (Abbildung 9).

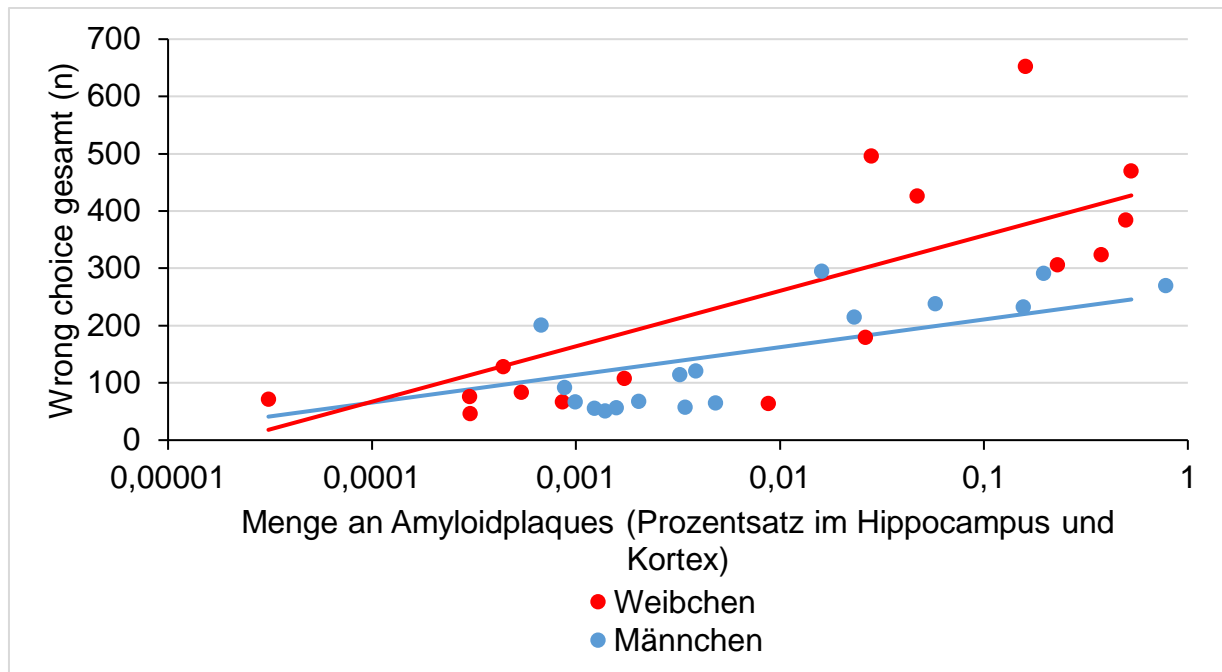


Abbildung 9: Regression zwischen der gesamten Fehlerzahl („Wrong choices gesamt“) über acht Testtage und der Menge an unlöslichen Amyloidplaques. Eine größere Menge an Amyloidplaques war mit einer erhöhten Gesamtfehlerzahl assoziiert ($p < 0,001$), wobei weibliche Tiere insgesamt mehr Fehler machten ($p < 0,001$). Darüber hinaus erhöhte das weibliche Geschlecht signifikant den Effekt der unlöslichen Amyloidplaques auf die gesamte Fehlerzahl ($p < 0,001$); jeweils 10 weibliche und männliche Tg2576-Carrier und 9 weibliche und 10 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).

4.3 NR2B

Für die NR2B-Untereinheit des NMDA-Rezeptors konnten die Ergebnisse nicht zeigen, dass mit einem höheren Alter die Proteinkonzentration im sensorischen Kortex der Tiere steigt ($p = 0,603$) (Abbildung 10). Der Genotyp und das Geschlecht der Tiere korrelierten ebenfalls nicht signifikant mit der Proteingesamtkonzentration.

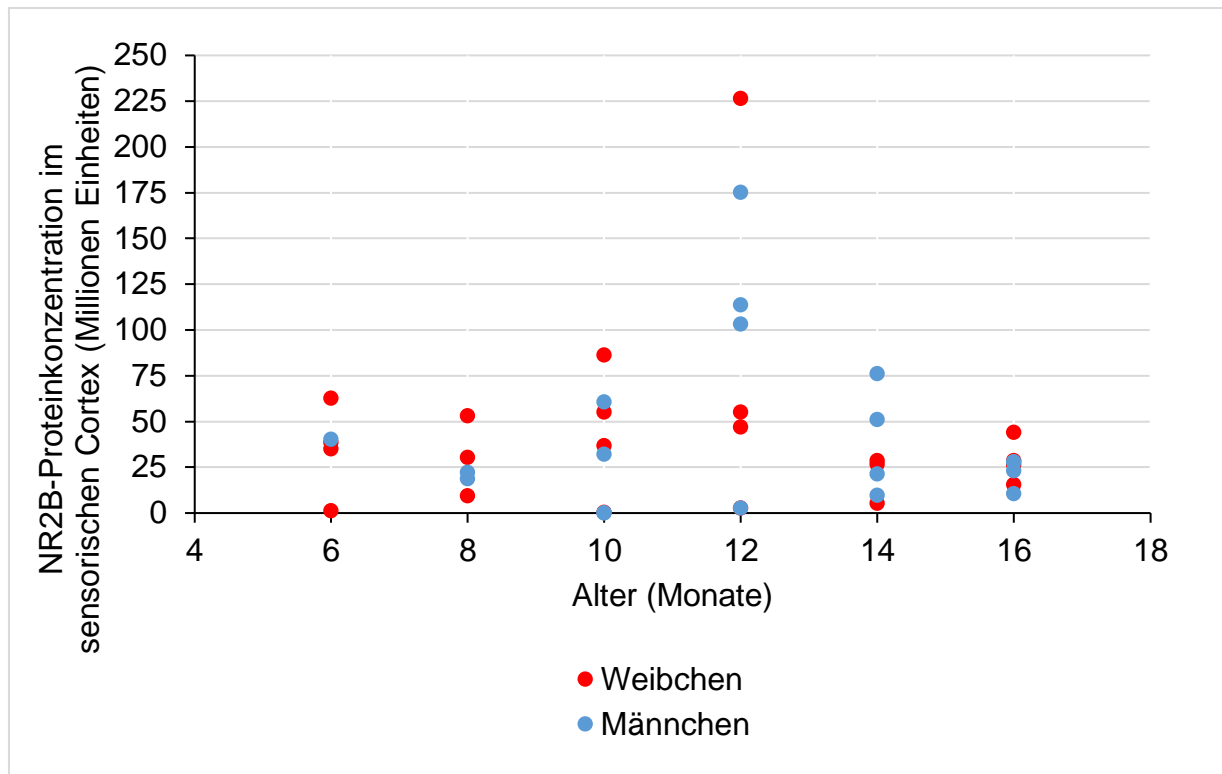


Abbildung 10: Abbildung von Alter und NR2B-Proteinkonzentration im sensorischen Kortex. Es zeigte sich keine Regression zwischen den Faktoren ($p = 0,603$); 11 weibliche und 10 männliche Tg2576-Carrier und 11 weibliche und 9 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).

Im Bereich des sensorischen Kortex war eine höhere Proteinkonzentration an NR2B mit mehr Fehlern im mHBT verbunden ($p = 0,021$). Des Weiteren ergab sich eine signifikante geschlechtsspezifische Regression zwischen Konzentration an NR2B und Gesamtfehlerzahl im mHBT ($p = 0,017$), wobei in weiblichen Carriern eine höhere Konzentration an NR2B mit mehr Fehlern vergesellschaftet waren als bei männlichen Carriern (Abbildung 11).

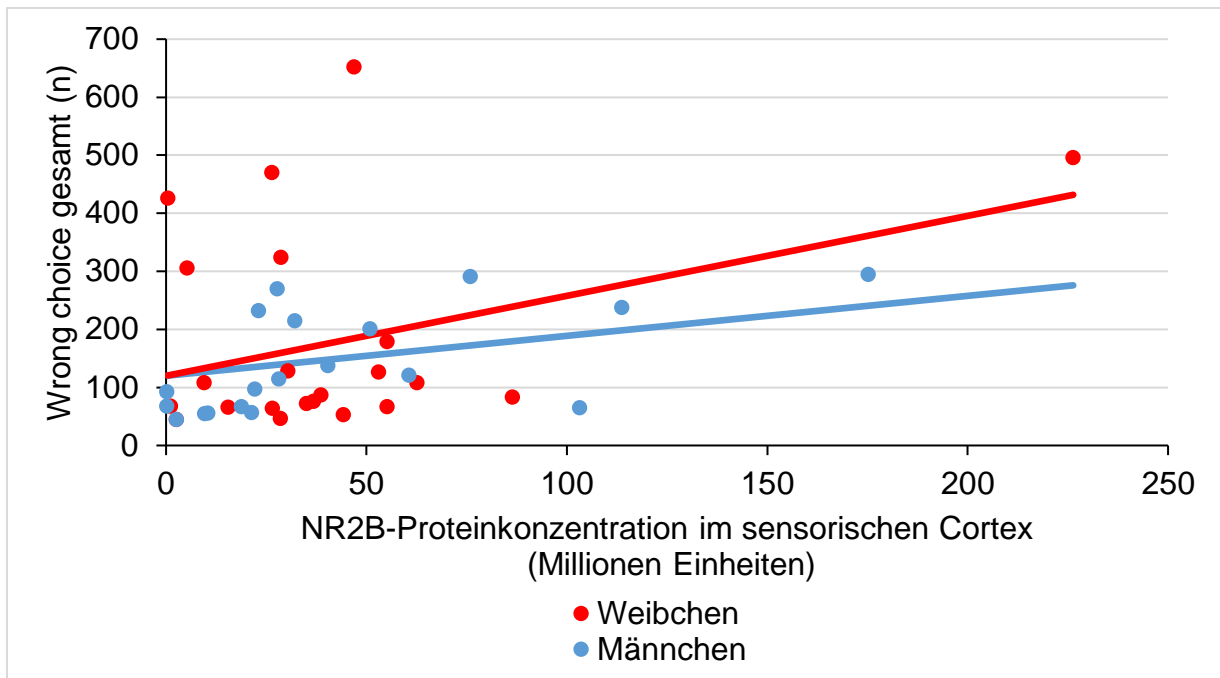


Abbildung 11: Regression zwischen der gesamten Fehlerzahl („Wrong choices gesamt“) über acht Testtage und der Proteinkonzentration an NR2B im sensorischen Kortex. Eine erhöhte NR2B-Konzentration war verbunden mit einer erhöhten Gesamtfehlerzahl ($p = 0,021$). Darüber hinaus erhöhte das weibliche Geschlecht signifikant den Effekt der NR2B-Gesamtkonzentration auf die gesamte Fehlerzahl ($p = 0,017$); jeweils 10 weibliche und männliche Tg2576-Carrier und 11 weibliche und 10 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).

Im Hippocampus konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen NR2B-Proteinkonzentration und dem Genotyp, einem zunehmenden Alter, dem Geschlecht oder der Anzahl an „Wrong choices“ festgestellt werden. Auch ergab sich keine signifikante geschlechtsspezifische Regression zwischen Konzentration an NR2B und Gesamtfehlerzahl im mHBT ($p = 0,326$).

Als statistisch signifikant erwies sich jedoch die geschlechtsspezifische Korrelation zwischen der Gesamtzeit der Putzphasen (sog. „Grooming“) und der Proteinkonzentration von NR2B im Hippocampus der Tiere. Dabei war eine erhöhte Proteinkonzentration in weiblichen Tg2576-Carriern mit einer längeren Putzphase verbunden als bei männlichen Tieren ($p = 0,02$). Der prozentuale Anteil an Putzphasen gilt im mHBT als Ausdruck der Erregung des Tieres (Ohl et al. 2001, Gordan et al. 2012).

4.4 Kaspase-3, TNF- α , mGluR5

Mittels Regressionsanalysen konnte eine Korrelation zwischen dem Protein Kaspase-3 und dem Genotyp der Tiere im sensorischen Kortex nachgewiesen werden ($p = 0,04$), wobei Tg2576-Carrier eine höhere Konzentration an Protein aufwies als Wildtypen.

In weiteren statistischen Analysen zeigten sich keine signifikanten Zusammenhänge in den einzelnen Hirnarealen (sensorischer Kortex oder Hippocampus) zwischen den Proteinen und dem Genotyp, einem zunehmendem Alter, dem Geschlecht, der Anzahl an „Wrong choices“ insgesamt oder einer Interaktion des Geschlechtes auf die Anzahl der „Wrong choices“ insgesamt (Signifikanzniveau jeweils $p > 0,05$).

Als statistisch signifikant erwiesen sich jedoch lineare Regressionsanalysen der Verhaltensparameter und der Proteinkonzentrationen, wobei sich eine geschlechtsspezifische Korrelation zwischen TNF- α -Konzentration im Hippocampus und der Anzahl an gesamt besuchten Löchern mit Futterbelohnung (sog. „Correct Hole Visits“) ergab. Eine erhöhte Proteinkonzentration in weiblichen Tg2576-Carriern war mit einer höheren Gesamtzahl besuchter Löcher mit Futterbelohnung verbunden als bei männlichen Tieren. Weibliche Tiere besuchten hingegen insgesamt weniger Löcher mit Futterbelohnung als männliche Tiere ($p = 0,04$). Die Anzahl an besuchten Löchern mit Futterbelohnung („Correct Hole Visits“) gilt als Maß für eine gerichtete Explorationstätigkeit und somit als Teil des Erkundungsverhaltens.

5. Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei gleicher Gesamtkonzentration an Amyloid- β_{1-42} und gleicher Menge an Amyloidplaques zeigten weibliche Carrier größere kognitive Einschränkungen als männliche Carrier mit dem gleichen Grad an Alzheimer-Pathologie und reagierten somit sensitiver auf Amyloid- β als männliche Carrier. Des Weiteren war eine höhere Gesamtkonzentration an Amyloid- β und eine größere Menge an Amyloidplaques geschlechtsunabhängig assoziiert mit mehr Fehlern im mHBT. Im sensorischen Kortex war eine höhere Proteinkonzentration an NR2B mit mehr Fehlern im mHBT verbunden, wobei auch hier bei weiblichen Carriern eine höhere Konzentration mit mehr Fehlern verbunden war als bei männlichen Tieren. Darüber hinaus war eine erhöhte NR2B-Konzentration im Hippocampus weiblicher Carrier mit einer längeren Putzphase verbunden. Im sensorischen Kortex zeigten Carrier eine höhere Gesamtkonzentration an Kaspase-3 als Wildtyptiere.

5.2 Diskussion der Methoden

5.2.1 Mausmodell Tg2576

Ausschlaggebend für die Auswahl des Mausmodells Tg2576 war der Fokus auf der Untersuchung von A β -Pathologien im Rahmen der Alzheimer-Erkrankung. In einem ersten Schritt erfolgte die tiefgreifende geschlechtsbezogene Phänotypisierung dieses Mausmodells, die auch von anderen Autoren gefordert wurde (Games et al. 2006, Stewart et al. 2011, Fendl 2013, Webster et al. 2014, Schmid et al. 2019). Zum Zeitpunkt des Studienbeginns gab es nur einzelne Studien, die sich mit geschlechtsspezifischen Unterschieden befassten, wie etwa ein vermehrtes kognitives Defizit (King et al. 1999) oder eine erhöhte A β -Konzentration bei weiblichen Tieren (Callahan et al. 2001), jedoch erfolgte keine umfassende Phänotypisierung in Bezug auf Geschlecht oder Alter. In anderen Untersuchungen konnten hingegen keine Unterschiede gefunden werden (Foley et al. 2015).

Die Auswahl des Mausmodells Tg2576 erhöhte zwar die Relevanz für die Grundlagenforschung der Alzheimer-Erkrankung, da es als eines der wichtigsten und weitverbreitetsten transgenen Mausmodelle gilt (Games et al. 2006), jedoch schränkte es auch die Übertragbarkeit auf

den Menschen ein, da es in diesem Modell nur zu einer Erhöhung der A β ₁₋₄₀- und A β ₁₋₄₂-Konzentration sowie einer Plaque-Entstehung kommt (Hsiao et al. 1996, Kawarabayashi et al. 2001). Eine Limitation besteht somit darin, nicht aktuellere Mausmodelle genutzt zu haben (Holcomb et al. 1999, Jankowsky et al. 2001, Flood et al. 2002, Oddo et al. 2003, Oakley et al. 2006). So weist etwa das Mausmodell 3xTg-AD von Oddo auch NFTs auf, womit es der Pathologie beim Menschen näherkommt als das Modell Tg2576 (Oddo et al. 2003).

5.2.2 Modifizierter Hole-Board-Test

Das Hauptaugenmerk bei der Auswahl des geeigneten Testparadigmas lag einerseits auf einer Vermeidung von Stress für die Tiere und andererseits auf einer Erfassung von Hippocampus-Schädigungen (Fendl 2013, Schmid et al. 2019), womit der Morris-Water-Maze-Test als Goldstandard und der modifizierte Hole-Board-Test zur Auswahl standen (Stewart et al. 2011, Tanila 2012). Bedeutende Vorteile des mHBT in Bezug auf das Versuchsmodell sind, dass dieser besser zur Physiologie und natürlichen Verhaltensweise der Maus passt und mit einem positiven Futteranreiz ohne Zwang arbeitet (Ohl und Keck 2003, Fendl 2013, Labots et al. 2015). Der mHBT bietet darüber hinaus die Möglichkeit einer sensitiven Erfassung typischer Defizite der Alzheimer-Erkrankung und der gleichzeitigen Messung mehrerer verschiedener Kognitions- und Verhaltensparameter und deren Wechselwirkungen (Ohl et al. 2001, Ohl und Keck 2003, Gordan et al. 2012, Fendl 2013). Hierdurch resultiert eine geringere Anzahl an Versuchstiere (Ohl et al. 2001). Ohl erläutert außerdem, dass mit dem mHBT sowohl das deklarative (abhängig vom Hippocampus) (Squire und Zola 1996) als auch das Arbeitsgedächtnis geprüft (abhängig vom präfrontalen Kortex) (Goldman-Rakic 1996) werden können (Ohl et al. 2003). Diesen Vorteilen des mHBT stehen die Nachteile des MWM gegenüber. So wurde dieser primär für Ratten entwickelt, welche im Gegensatz zu Mäusen „natürliche Schwimmer“ sind (Morris 1984). Überdies ist die Flucht aus dem Wasser eine negative Motivation und somit mit einem höheren Stressniveau der Tiere verbunden (Hodges 1996, Harrison et al. 2009, Kennard und Woodruff-Pak 2011), was zu einer Beeinflussung der Testergebnisse führen kann (Mabry et al. 1996, Lindner 1997, de Quervain et al. 2009). Die Auswertbarkeit des Tests wird weiter dadurch eingeschränkt, dass Mäuse im Vergleich zu Ratten ein anderes Suchverhalten nutzen (Tanila 2012). Ebenso kann die fehlende motorische Adaptation von Mäusen an das Schwimmen im Vergleich zu Ratten die Testauswertung beeinflussen (Kennard und Woodruff-Pak 2011).

Auf Grundlage dieser Betrachtung stellte der mHBT den idealen Test zur phänotypischen Charakterisierung des Mausmodells Tg2576 dar.

5.2.3 ELISA

Seit seiner Entwicklung ist der ELISA (engl. Enzyme-linked Immunosorbent Assay) eines der wichtigsten und meist genutzten Verfahren zur Proteinanalyse (Engvall und Perlmann 1971, Van Weemen und Schuurs 1971). Verschiedene Publikationen konnten mithilfe dieser Methode valide Ergebnisse bei der Untersuchung von A β -Konzentrationen erzielen (Hsiao et al. 1996, Callahan et al. 2001, Kawarabayashi et al. 2001, Westerman et al. 2002, Melnikova et al. 2016). Bei diesem Verfahren wird das gesuchte Protein durch zwei Antikörper markiert. Der erste Antikörper („coat-Antikörper“) ist dabei direkt an die Mikrotiterplatte gebunden. An diesen bindet das gesuchte Protein. Anschließend wird der Detektions-Antikörper zugegeben, der an einem anderen Epitop des Proteins bindet. An diesen Detektions-Antikörper bindet im nächsten Schritt ein weiterer mit einem Enzym markierter Antikörper („enzyme-linked-Antikörper“). Durch Zugabe eines passenden Substrates kommt es zu einer enzymatischen Farbreaktion (Shah und Maghsoudlou 2016). Durch die Verwendung von zwei Antikörpern gegen verschiedene Epitope des gesuchten Proteins können die Sensitivität und Spezifität dieser Methode gesteigert werden (Schmidt et al. 2012, Shah und Maghsoudlou 2016).

In dieser Arbeit wurde zur Proteinanalyse ein kommerzieller Sandwich-ELISA von Invitrogen® genutzt. Diese Entscheidung wurde getroffen, um mögliche Fehler bei der Herstellung eigener Kits auszuschließen (Schmidt et al. 2012). Ebenso wurde dadurch vermieden, dass die verwendeten Antikörper im Sandwich-Verfahren an gleiche Epitope binden und interferieren, was zu Kreuzreaktionen und falschen Proteinkonzentrationen hätte führen können (Shah und Maghsoudlou 2016). Ausschlaggebend für die Entscheidung zur Durchführung des ELISAs war weiterhin eine höhere Sensitivität der Methode für Amyloid- β (< 10pg/ml). Aufgrund valider Ergebnisse bei der Durchführung der Proteinaufbereitung in der eigenen Arbeitsgruppe, wurde diese nach einer Anleitung von Wako Pure Chemical Industries durchgeführt (Sesser 2018). Für die spätere Proteinanalyse wurden die Konzentrationen der einzelnen Proben per Bradford-Test bestimmt und mit einem im ELISA-Kit enthaltenen Standardverdünnungspuffer auf eine einheitliche Proteingesamtkonzentration gebracht (Bradford 1976, Kruger 1994). Für eine weitere Steigerung der Genauigkeit wurde die Konzentration jeder Probe doppelt bestimmt und daraus ein Mittelwert gebildet. Um Kreuzreaktion oder falsch positive Markierungen durch Antikörper zu vermeiden, wurde zwischen jedem Schritt ein Waschvorgang mit Waschpuffer durchgeführt (Shah und Maghsoudlou 2016).

Trotz der weiten Verbreitung des Sandwich-ELISAs für die Detektion von Amyloid- β , wurde von verschiedenen Autoren das Western-Blot-Verfahren bevorzugt (Lesne et al. 2006, Shankar et al. 2008), denn es bietet den Vorteil einer Auftrennung der einzelnen Proteine (Adlard et al.

2014). Andere Autoren bevorzugen modernere Multiplex-Assays zur Bestimmung der Amyloid- β -Konzentration, da diese eine effizientere Proteinmessung ermöglichen. Dies würde eine Unterscheidung zwischen den verschiedenen Gruppen an Amyloid- β leichter ermöglichen (Oh et al. 2010, Tighe et al. 2015).

Hierin liegt auch eine bedeutende Limitation dieser Arbeit, da bei den weiblichen und männlichen Tieren die Konzentrationen von $A\beta_{1-40}$, $A\beta_{1-42}$ und $A\beta$ -Oligomeren und deren Verhältnis zueinander nicht getrennt voneinander bestimmt wurden. Zusätzlich blieb eine Messung der APP-Expression aus. Ferner ist zu bemerken, dass die $A\beta$ -Konzentration nur im MPFC bestimmt wurde und nicht korrespondierend zu der Bestimmung an Amyloidplaques im sensorischen Kortex und Hippocampus. Dies lag an der Aufteilung des Probenmaterials, wobei ein Hippocampus für Western-Blot-Analysen und der korrespondierende Hippocampus für die Methoxy-X04-Färbung genutzt wurden.

5.2.4 Methoxy-X04-Färbung

Zur Markierung und Färbung der Amyloidplaques in den Gewebeschnitten der Maushirne wurde das von Klunk und Kollegen 2002 entwickelte Kongorot-Derivat Methoxy-X04 (1,4-bis(4'-hydroxystyryl)-2-methoxybenzene) genutzt (Klunk et al. 2002). Dieses wurde zum einen in verschiedenen Studien erfolgreich beim Mausmodell Tg2576 genutzt (Robbins et al. 2006, Meyer-Luehmann et al. 2008, Burgold et al. 2011) und wurde zum anderen in der eigenen Arbeitsgruppe erfolgreich verwendet (Sesser 2018). Methoxy-X04 bindet als fluoreszierender Farbstoff mit einer hohen Spezifität und Affinität an Amyloidplaques, zerebrovaskuläres Amyloid und NFTs (Klunk et al. 2002, Bertoncini und Celej 2011). Durch sein geringes molekulares Gewicht, seine Lipophilie und seine neutralen Ladung ist es in der Lage die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden (Bertoncini und Celej 2011) und kann somit *in vivo* und *in vitro* genutzt werden (Klunk et al. 2002, Meyer-Luehmann et al. 2008, Burgold et al. 2011, McCarter et al. 2013). Die Bindung an Amyloidplaques bleibt dabei für mindestens 90 Tage stabil (Condello et al. 2011).

Eine alternative Färbemethode stellt die Silberfärbung dar. Ein großer Nachteil dieser ist jedoch, dass abhängig vom genutzten Protokoll die Ergebnisse sehr unterschiedlich sind und somit die Spezifität der Methode stark variiert (Lamy et al. 1989, Mavrogiorgou et al. 2011). Überdies färben diese Methoden auch weitere Zellbestandteile an (Wisniewski et al. 1989, Cullen et al. 1996, Mavrogiorgou et al. 2011). Die einzelnen Protokolle sind außerdem technisch anspruchsvoll umzusetzen und somit anfällig für Artefakte (Lamy et al. 1989, Cullen et

al. 1996). Im direkten Vergleich von verschiedenen Protokollen zur Silberfärbungen und Färbungen mit Thioflavin-S zeigte sich ein weiterer Nachteil der beiden Färbungen. Je nach Autor ergaben sich keine Unterschiede (Cullen et al. 1996) oder es waren teilweise die Silberfärbungen (Vallet et al. 1992) und teilweise die Färbungen mit Thioflavin-S überlegen (Wisniewski et al. 1989). Dies zeigt wiederum, dass es je nach Anwender und Protokoll zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen kommen kann. Der direkte Vergleich von Thioflavin-S zu Methoxy-X04 zeigt hingegen, dass Methoxy-X04 die gleiche Spezifität wie Thioflavin-S aufweist (Klunk et al. 2002). Ein bedeutender Nachteil von Thioflavin-S besteht in dem Auftreten einer störenden Autofluoreszenz von Zellbestandteilen (Cullen et al. 1996). Zusätzlich nimmt die Fluoreszenzintensität von Thioflavin-S ab, was Problemen bei einer erneuten Analyse hervorruft (Wisniewski et al. 1989, Cullen et al. 1996). Eine weitere Methode zur Markierung von Plaques ist die Immunfärbung mithilfe von Antikörpern (Davies et al. 1988). Jedoch ist sie bei mangelnder Erfahrung technisch sehr anspruchsvoll (Wisniewski et al. 1989, Leong 2004, Alafuzoff et al. 2006), was sich unter anderem in der großen Abhängigkeit der Ergebnisse von der Probenvorbereitung zeigt (Kraszpulski et al. 1998, Cummings et al. 2002). Des Weiteren sind ihre Sensitivität und Spezifität abhängig vom verwendeten Antikörper und somit von dessen Verfügbarkeit und Qualität (Wisniewski et al. 1989). Ferner kam es bei gefrorenem Untersuchungsmaterial zu einer hohen Färbung des Hintergrundes (Cullen et al. 1996). Durch diese Umstände ist sie teilweise den anderen Färbemethoden über- (Cummings et al. 2002) oder unterlegen (Cullen et al. 1996) beim Markieren der Plaques. Aufgrund dieser Überlegungen und den eigenen Erfahrungen mit Methoxy-X04 wurde diese Methode zur Plaquetfärbung genutzt. Das Ziel der Analyse der Gewebeschnitte war ein optischer Schnitt der „Region of Interest“, wofür der Hippocampus und Isokortex ausgewählt wurden. Dabei erfolgte die Bestimmung der Amyloid- β -Plaquemenge in den Schnitten zum einen durch mosaikartige Aufnahmen von Einzelbildern in der X-Y-Achse und zum anderen durch mehrere Fokusebenen in der Z-Achse. Durch das entstandene dreidimensionale Gesamtbild ließ sich die Belastung an Amyloid- β genauer bestimmen.

5.2.5 Western-Blot

Seit seiner Entwicklung ist das Western-Blot-Verfahren zu einer der wichtigsten und weitverbreitetsten Technik zur Proteinanalyse geworden (Renart et al. 1979, Towbin et al. 1979, Burnette 1981). Die Entscheidung für das Western-Blot-Verfahren zur Immundetektion der untersuchten Proteine (NR2B, Kaspase-3, TNF- α und mGluR5) fiel einerseits aufgrund einer langjährigen und routinierten Durchführung des Verfahrens in der eigenen Arbeitsgruppe und

andererseits aufgrund valider Ergebnisse anderer Publikationen (Renner et al. 2010, D'Amelio et al. 2011, Li et al. 2011). Ebenso bietet es die Vorteile mehrere Proteine gleichzeitig auf einer Membran zu untersuchen, diese Membran wiederholt analysieren zu können (Kurien und Scofield 2006) und die einzelnen Proteine nach ihrem jeweiligen molekularem Gewicht aufzutrennen (Adlard et al. 2014). Ein Nachteil ist hingegen eine geringere Sensitivität der Methode im Vergleich zum ELISA abhängig davon, welche Antikörper verwendet wurden. Zugleich erfolgte aufgrund der Verwendung des Western-Blots keine Lokalisierung des NR2B-Rezeptors, was eine Limitation dieser Arbeit darstellt und nachfolgend diskutiert wird. Auch konnte durch die Verwendung des Western-Blots nur eine semiquantitative Analyse der Proteinmengen mit Bezug zu einem Standard erfolgen, was ein deutlicher Nachteil im Vergleich zum ELISA darstellt, da hier durch einen Bradford-Test und eine Verdünnungsreihe mit Standardverdünnungspuffer eine quantitative Analyse möglich ist.

Grundsätzlich beruht die Technik des Western-Blots auf „einer gleichen Konzentration der zu untersuchenden Proteinproben, der Auftrennung dieser nach molekularem Gewicht, einem elektrophoretischen Transfer auf eine passende Membran und die Markierung der gesuchten Proteine per Antikörper“ (Gavini und Parameshwaran 2019). Die gleiche Konzentration der Proben wurde in dieser Arbeit per Konzentrationsbestimmung durch einen Bradford-Test (Bradford 1976, Kruger 1994) und einer einheitlichen Konzentrationseinstellung per Laemmli-Puffer erreicht (Laemmli 1970). Die Auftrennung der Proben nach molekularem Gewicht erfolgte per Gelelektrophorese in Polyacrylamidgelen und einem anschließenden Transfer auf PVDF-Membranen per Nass-Blotting (engl. wet blotting) (Kurien und Scofield 2003, Gavini und Parameshwaran 2019). Auf diesen erfolgten anschließend die Proteinmarkierung mithilfe von primären und sekundären Antikörpern und die Immundetektion durch Chemolumineszenz. Für die elektrische Gelelektrophorese wurde die SDS-PAGE-Methode (engl. sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) nach Laemmli genutzt (Laemmli 1970). Für ein besseres Laufverhalten während der Gelelektrophorese wurde die Proteinstruktur per Wärme denaturiert und zum Aufheben der elektrischen Ladung Elektrophorese-Puffer hinzugegeben (Mahmood und Yang 2012, Bass et al. 2017). Durch die Verwendung des diskontinuierlichen Gelelektrophoreseverfahrens mit einem „Sammel-“ und einem „Trenngel“ konnte eine bessere Trennschärfe erreicht werden (Laemmli 1970). Der Proteintransfer vom Gel auf die PVDF-Membran per Nass-Blotting führte durch die ununterbrochene Kühlung zu einer besseren Proteinübertragung (Bass et al. 2017). Auch durch die Nutzung des Elektrobottings konnte die Proteinübertragung auf die Membran gesteigert werden (Kurien und Scofield 2003). Die

PVDF-Membran wurde aufgrund ihrer im Vergleich zur Nitrozellulosemembran höheren Proteinbindungskapazität, besseren Transfereigenschaften und höheren Widerstandsfähigkeit verwendet (Kurien und Scofield 2003, Gavini und Parameshwaran 2019). Für eine spezifischere Antikörperbindung und somit höherwertige Ergebnisse bei der Proteindetektion wurden die Proteinbindungsstellen der Membran per Roti®-Block gesättigt (Mahmood und Yang 2012). Zur Identifikation der gesuchten Proteine wurde eine Standardlösung (sog. „Ladder“) mit Proteinen von vorher bekannten spezifischen Längen ebenfalls in der Gelelektrophorese aufgetrennt (Mahmood und Yang 2012).

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 A β

Die mit steigendem Tieralter gefundene steigende Konzentration von Amyloid- β_{1-42} und Menge an Amyloidplaques im Gehirn der Tiere deckt sich mit grundlegenden Ergebnissen bezüglich des Mausmodells (Hsiao et al. 1996, Kawarabayashi et al. 2001). Die Ergebnisse legen jedoch dar, dass das Geschlecht keinen Einfluss auf die Konzentration an Amyloid- β oder Menge an Plaques hat. Diese Ergebnisse widersprechen direkt denen von Callahan oder Lee, die beide eine erhöhte A β -Konzentration bei weiblichen Tg2576-Carriern finden konnten (Callahan et al. 2001, Lee et al. 2002). Auch in verschiedenen anderen transgenen Mausmodellen, die APP überexprimieren, neigen weibliche Carrier dazu mehr Amyloid- β oder Plaques zu entwickeln (Wang et al. 2003, Hutter-Paier et al. 2004, Hirata-Fukae et al. 2008, Carroll et al. 2010, Perez et al. 2011, LaClair et al. 2013). Darüber hinaus zeigen Untersuchungen beim Menschen, dass Frauen generell mehr alzheimerassoziierte Pathologie (Barnes et al. 2005) und mehr A β -Plaques (Corder et al. 2004, Liesinger et al. 2018) aufweisen.

Die Kombination aus gefundenen Ergebnissen des mHBT und Analyse der Alzheimer-Pathologie zeigen, dass bei gleicher Gesamtkonzentration an Amyloid- β und Menge an Amyloidplaques weibliche Carrier größere kognitive Beeinträchtigungen erleiden als männliche Carrier mit dem gleichen Grad an Alzheimer-Pathologie. Weibliche Carrier reagieren somit bei gleicher Konzentration an Amyloid- β sensitiver auf dieses als männliche Carrier, was im Einklang mit Beobachtungen anderer Studien steht (Granger et al. 2016, Melnikova et al. 2016). Es spiegelt zugleich auch Untersuchungsergebnisse beim Menschen wider, wonach Frauen sensibler auf einen Anstieg an Alzheimer-Pathologie reagieren als Männer und sich dieser klinisch stärker auswirkt (Barnes et al. 2005).

Eine Untersuchung der zugrunde liegenden Mechanismen, die diese höhere Sensitivität bewirken, konnte in dieser Arbeit aufgrund der Vielzahl an Möglichkeiten nicht erfolgen. Ein möglicher Mechanismus könnte in hormonellen Differenzen der Geschlechter bestehen, die weibliche Tiere sensitiver für alzheimerassoziierte Pathologien macht (Carroll et al. 2010, Vest und Pike 2013, Li und Singh 2014). So konnten Untersuchungen eine östrogengesteuerte Überexpression von APP im Mausmodell aufzeigen (Sadleir et al. 2015).

In diesem Zusammenhang stellt es eine Limitation dar, dass die Sexualhormonspiegel der Tiere in diesem Versuch nicht gemessen wurden. Infolgedessen erfolgte keine Analyse der Östrogenpiegel oder eine Synchronisation der Tiere in Bezug auf den Testablauf. Diese Entscheidung, auf eine tägliche Blutentnahme zu verzichten, erfolgte vor dem Hintergrund, den dabei entstehenden Stress für die Tiere und einen daraus resultierenden Einfluss auf den mHBT zu minimieren.

5.3.2 NR2B

Bei der Analyse der gesammelten Daten fiel eine signifikante Regression zwischen den Proteinkonzentrationen der NR2B-Untereinheit und der Anzahl an Fehlern im mHBT auf. Dabei war eine höhere Proteinkonzentration mit mehr Fehlern und somit einer höheren kognitiven Einschränkung verbunden. Dies würde zur Funktion der Untereinheit als „Todes-Rezeptor“ passen, wobei extrasynaptische NMDA-Rezeptoren einen Zelluntergang bewirken und somit das molekularbiologische Korrelat der kognitiven Einschränkung wären (Hardingham et al. 2002, Liu et al. 2007, Leveille et al. 2008, Zhang und Luo 2013). Die unveränderte Proteinkonzentration im Mausmodell zu verschiedenen Alterszeitpunkten spiegelt jedoch nicht die Situation bei Alzheimer-Patienten wider, bei denen es zu einer Abnahme der NR2B-Proteinkonzentration und der mRNA-Synthese kommt (Sze et al. 2001, Hynd et al. 2004).

Die Analyse der Verhaltensdaten und Proteinkonzentrationen zeigt ebenfalls eine signifikante geschlechtsspezifische Regression zwischen NR2B-Proteinkonzentration im sensorischen Kortex und Gesamtfehlerzahl im mHBT. Weibliche Carrier machten bei einer höheren Proteinkonzentration mehr Fehler als männliche Carrier und zeigten hierdurch eine ausgeprägtere kognitive Einschränkung. Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich eine höhere Sensitivität weiblicher Carrier für die alzheimerassoziierten pathologischen Mechanismen vermuten, an denen die NR2B-Untereinheit beteiligt ist. Beispielsweise könnten diese Ergebnisse eine stärkere von A β ausgelöste Inhibition der LTP (Li et al. 2011) oder ein größerer von hyperphosphorylierten Tau initiiertes neuronales Zelluntergang zugrunde liegen (Amadoro et al. 2006). Bisher jedoch scheinen diese geschlechtsspezifische Interaktion und die zugrundeliegenden Mechanismen

noch nicht näher untersucht worden zu sein und empfehlen sich dadurch als Ziel weiterführender Studien.

Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen ergaben, dass ein statistischer Zusammenhang zwischen der NR2B-Proteinkonzentration im Hippocampus, der Gesamtzeit an Putzphasen und dem Geschlecht besteht. Eine erhöhte Proteinkonzentration in weiblichen Tg2576-Carriern war verbunden mit einer längeren Putzphase als bei männlichen Tieren. Dies deutet auf einen höheren Grad an Erregung der Tiere hin, da mithilfe des Parameters der Gesamtzeit an Putzphasen („Grooming“) im mHBT die Erregung der Tiere gemessen wird (Ohl et al. 2001, Gordan et al. 2012). Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen dabei Studien, in denen selektive NR2B-Antagonisten zu einer Abnahme an Erregung und Impulsivität bei der Entscheidungsfindung von Nagetieren führt (Higgins et al. 2016).

Durch die Proteinkonzentrationsanalyse per Western-Blot-Verfahren, war es nicht möglich zwischen synaptischen und extrasynaptischen NR2B-Rezeptoreinheiten zu unterscheiden. So können synaptische neuroprotektiv wirken und extrasynaptische NMDA-Rezeptoren einen neuronalen Untergang bewirken oder an einer Inhibition der LTP beteiligt sein (Hardingham et al. 2002, Leveille et al. 2008, Li et al. 2011). Die NR2B-Einheit wird vor allem extrasynaptisch exprimiert, wo sie neurodegenerativ wirken und zu einer Beeinträchtigung der kognitiven Funktion führen kann (Liu et al. 2007, Zhang und Luo 2013).

5.3.3 Kaspase-3, TNF- α , mGluR5

Die Kaspase-3-Konzentration im sensorischen Kortex war bei Tg2576-Mäusen erhöht. Jedoch konnte die bisherige Studienlage nicht bestätigt werden, wonach im Hippocampus des Mausmodells im Vergleich zu Wildtypieren ebenfalls eine höhere Kaspase-3-Konzentration gemessen werden konnte (Niu et al. 2010, D'Amelio et al. 2011). Somit konnte nur bestätigt werden, dass das Mausmodell generell eine höhere Proteinkonzentration im Gehirn aufweist (Niu et al. 2010, D'Amelio et al. 2011).

Durch vorangegangene Studien ist bekannt, dass es im Mausmodell Tg2576 zu einer Erhöhung der entzündungsfördernden Zytokine in der Umgebung von A β -Plaques kommt. TNF- α war dabei in Gliazellen um A β -Plaques lokalisiert (Benzing et al. 1999). Des Weiteren wurde eine Steigerung der mRNA-Konzentration für TNF- α gemessen (Sly et al. 2001). Diese Daten deuten auf eine Aktivierung der Entzündungsreaktion durch A β -Plaques im Mausmodell hin (Akiyama et al. 2000). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen stimmen hingegen nicht mit diesen Studien überein, so konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen

TNF- α und dem Genotyp, Geschlecht oder Alter gefunden werden. Die gefundene geschlechtsspezifische Korrelation zwischen TNF- α -Konzentration und der Anzahl an „Correct Hole Visits“ kann als Ausdruck einer höheren Resilienz weiblicher Tiere gegenüber erhöhten Zytokin-Konzentrationen gesehen werden (Hudson et al. 2014).

Die Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung des metabotropen Glutamatrezeptors 5 stimmen mit der bisherigen Literatur in Verbindung mit dem Mausmodell Tg2576 überein. So konnten bisherige Studien ebenfalls keine Interaktionen zwischen dem Genotyp und der Rezeptorexpression feststellen (Cha et al. 2001, Klingner et al. 2003). Inwieweit das Mausmodell in diesem Punkt von menschlichen Alzheimer-Patienten abweicht ist nicht zu ermitteln, da für die Proteinkonzentration von mGluR5 im Gehirn von Alzheimer-Patienten bisher Daten fehlen (Revett et al. 2013).

5.4 Ausblick

Die vorliegende Studie konnte geschlechtsspezifische Unterschiede wichtiger Alzheimer-Pathologien im Mausmodell Tg2576 aufzeigen und unterstreicht dadurch die Wichtigkeit einer geschlechtsabhängigen Untersuchung der Tiere in Versuchen.

Gerade die höhere Sensitivität der weiblichen Carrier auf Amyloid- β und Amyloidplaques sind wichtige Ergebnisse, da sie direkt die Situation beim Menschen widerspiegeln. Somit bietet sich die Untersuchung der zugrunde liegenden Mechanismen als Ziel für weitere Studien an. Dabei wären eine separate Bestimmung der Konzentration von A β ₁₋₄₀ und A β ₁₋₄₂, deren Verhältnis zueinander und die Bestimmung der APP-Konzentration wichtige Aspekte. Darüber hinaus bedarf es ebenfalls einer weiteren Evaluation der Rolle der NR2B-Untereinheit im Rahmen der Alzheimer-Erkrankung, da auch hier ein geschlechtsspezifischer Unterschied besteht und diese Interaktionen und deren zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht näher untersucht wurden. Trotz unserer Entscheidung gegen eine Zyklusbestimmung der weiblichen Tiere, wäre eine Durchführung der Verhaltenstests unter Bestimmung der Zyklusmarker und Sexualhormone sicherlich interessant.

Durch diese weiterführenden Untersuchungen wäre es möglich wichtige Einsichten in die Pathologie der Alzheimer-Erkrankung zu gewinnen und für die Geschlechter jeweils spezialisierte Therapien zu entwickeln.

6. Zusammenfassung

Die Alzheimer-Erkrankung ist weltweit die häufigste Demenzerkrankung und trotz intensiver Erforschung sind die zugrunde liegenden Pathomechanismen und Ursachen nicht abschließend geklärt. Dabei leiden an der Erkrankung deutlich mehr Frauen als Männer und zeigen gleichzeitig eine stärkere kognitive Beeinträchtigung.

In einem ersten Schritt konnte im Rahmen der Phänotypisierung des Mausmodells Tg2576 eine schlechtere kognitive Performance der transgenen Tiere nachgewiesen werden. Außerdem zeigte sich bei den weiblichen transgenen Tieren verglichen mit den männlichen Tieren ein ausgeprägteres kognitives Defizit (Fendl 2013, Schmid et al. 2019).

Ziel der vorliegenden Dissertation war es deshalb, durch eine weiterführende laborchemische Untersuchung der Tiere mögliche Ursachen für die geschlechtsspezifischen Unterschiede in den Verhaltens- und Kognitionstests zu ermitteln. Hierfür wurden Markerproteine für verschiedene Alzheimer-Pathologien ausgewählt und in den Gehirnen der phänotypisierten Mäuse bestimmt: Gesamtmenge an Amyloidplaques und Proteinkonzentrationen von Amyloid- β (A β), NR2B (Veränderung der Langzeitpotenzierung), TNF- α (Inflammation), mGluR5 (Veränderung Neurotransmission) und Kaspase-3 (oxidativer Stress). Es wurden jeweils zwei Gehirne pro Geschlecht und Genotyp im Alter von 6, 8, 10, 12, 14 und 16 Monaten untersucht (Summe: 48 Gehirne). Proteinkonzentrationen und Plaquemenge wurden nach logarithmischer Transformation mittels linearer Regression analysiert und mit den Ergebnissen der Verhaltens- und Kognitionsuntersuchungen korreliert.

Als signifikant erwiesen sich die Korrelation zwischen dem kognitiven Defizit und der Höhe der Proteinkonzentration an A β ₁₋₄₂ bzw. der Menge an Amyloidplaques ($p < 0,001$; $p < 0,001$), wobei weibliche Carrier bei gleicher Konzentration oder Menge stärker kognitiv beeinträchtigt waren als männliche Carrier ($p < 0,001$; $p < 0,001$). Des Weiteren war im sensorischen Kortex eine höhere Gesamtkonzentration an NR2B ebenfalls mit einem größeren kognitiven Defizit verbunden ($p = 0,021$), wobei auch hier weibliche Carrier bei gleicher Konzentration stärker beeinträchtigt waren ($p = 0,017$).

Die Ergebnisse des modifizierten Hole-Board-Tests und Analysen der Alzheimer-Pathologien deuten darauf hin, dass weibliche Carrier, als Ursache für die geschlechtsspezifischen Verhaltensunterschiede im Mausmodell, eine höhere Sensitivität bezüglich der schädigenden Einflüsse von A β und NR2B aufweisen. Dies steht im Einklang mit Beobachtungen anderer Studien und spiegelt die Untersuchungsergebnisse beim Menschen wider.

7. Abkürzungsverzeichnis

A β	Amyloid- β
AB	Antikörper, engl. antibody
ADDL	A β -derived diffusible ligands
AICD	Amyloid precursor protein intracellular domain
AK	Alzheimer-Krankheit
Amyloid- β -Peptide	A β -Peptide
Aph-1	Anterior Pharynx-defective 1
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid-Precursor-Protein
BACE	beta-site APP cleaving enzyme
BGB	Bundesgesetzblatt
CD36	Synonym: Thrombozytenglykoprotein 4
CDK 5	zyklin-abhängige Kinase, engl. cyclin-dependent kinase 5
dH ₂ O	Destilliertes Wasser
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure, engl. deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure, engl. ethylene diamine tetraacetic acid
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Engl.	Englisch
FAD	Familiäre Alzheimer-Erkrankung, engl. familial Alzheimer's diseases
FTDP-17	frontotemporale Demenz mit Parkinsonismus des Chromosoms 17
GSK-3	Glykogensynthase-Kinase 3, engl. glycogen synthase kinase-3
HC	Hippocampus
HET	Hormonersatztherapie
HRP	Meerrettichperoxidase, engl. horseradish
IgG	Immunglobulin G
IL-1 / -6	Interleukin-1 / -6
LTP	long-term potentiation
LTD	long-term depression
MAP	mikrotubuli-assoziiertes Protein, engl. microtubule associated Protein
mGluR5	metabotroper Glutamat-Rezeptor 5
mHBT	modifizierter Hole-Board-Test
MAP	Mikrotubuli-assoziiertes Protein, engl. microtubule associated Protein
MPFC	medialer präfrontaler Cortex, engl. medial prefrontal cortex
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure, engl. messenger ribonucleic acid
MWM	Morris-Water-Maze-Test
n. s.	nicht signifikant
NF- κ B	nukleärer Faktor kappa B
NFT	Neurofibrillenbündel
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NR2B	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptorsubtyp 2B
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese, engl. polyacrylamide gel electrophoresis

PBS	Phosphatgepufferte-Salzlösung, engl. phosphate buffered saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion, engl. polymerase chain reaction
Pen	Präsenilin-Verstärker
PP-2A	Protein-Phosphatase-2A, engl. protein phosphatase 2
PVDF	Polyvinylidenfluorid
RAGE	Rezeptoren für fortgeschrittene Glykosierungsprodukte, engl. receptor for advanced glycation endproducts
RC	Repeated choices
RNA	Ribonukleinsäure, engl. ribonucleic acid
RNS	reaktive Stickstoffspezies
ROI	Region von Interesse, engl. Region of Interest
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SC	sensorischer Kortex
SDS	Sodiumdodecylsulfat, engl. sodium dodecyl sulfate
TBS/T	Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit Tween20, engl. Tris-buffered saline with Tween20
TierSchG	Tierschutzgesetz
Tg2576	Mausmodell Tg(HuAPP695.K670N-M671L)2576
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TLR	Toll-like-Rezeptoren
WB	Western-Blot
WC	Wrong choices
WHIMS	Women's Health Initiative Memory Study
WT	Wildtyp

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der APP-Prozessierung und des amyloiden und nicht-amyloiden Weges; (Finder 2010, Querfurth und LaFerla 2010).	9
Abbildung 2: Amyloid-Kaskaden Hypothese; modifiziert nach (Hardy und Selkoe 2002, Haass und Selkoe 2007, Finder 2010, Herrup 2010, Fendl 2013).	11
Abbildung 3: Versuchsorganisation und Aufteilung der Gruppen.....	26
Abbildung 4: Auswahl der Objektträger (farblich hervorgehoben) für Fluoreszenzfärbung. Region von Interesse (ROI, engl. region of interest), rot. Restlicher Gewebeschnitt, gelb; in Anlehnung an Figure 43 in Paxinos & Franklin „The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates“; (Paxinos 2004).	31
Abbildung 5: Neurokognitive Funktionen im modifizierten Hole-Board-Test von Wildtyptieren und Tg2576-Carriern über die acht Testtage: Durchschnitt der Testtage (A) „Wrong choices gesamt“ (deklarative Gedächtnis), (B) „Repeated choices“ (Arbeitsgedächtnis), (C) „Time complete“ (gesamte kognitive Leistung); Boxplot: horizontale Linie, Median; Box: 25. und 75. Perzentile; Punkte: Ausreißer; 6 Mäuse pro Alter, Geschlecht und Genotyp (gesamt 144); § $p < 0,05$ Tg2576 vs. Wildtyp, * $p < 0,05$ weiblich vs. männlich; nach (Schmid et al. 2019).	40
Abbildung 6: Regression zwischen der Konzentration an freiem Amyloid- β 1-42 im MPFC und Alter der Tg2576-Carrier. Ein steigendes Alter war verbunden mit einer höheren Konzentration an Amyloid- β ($p = 0,001$); jeweils acht weibliche und männliche Tiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).	41
Abbildung 7: Regression zwischen Menge an Amyloidplaques im Hippocampus und Kortex und Alter der Tg2576-Carrier. Ein steigendes Alter war verbunden mit einer steigenden Menge an Amyloidplaques ($p = 0,001$); 10 weibliche und 9 männliche Tiere im Alter von 8 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).	42
Abbildung 8: Regression zwischen der gesamten Fehlerzahl („Wrong choices gesamt“) über acht Testtage und der Proteinkonzentration an Amyloid- β 1-42 im MPFC. Eine erhöhte Amyloid- β -Proteinkonzentration war mit einer erhöhten Gesamtfehlerzahl assoziiert ($p < 0,001$), wobei weibliche Tiere insgesamt mehr Fehler machten ($p < 0,001$). Darüber hinaus erhöhte das weibliche Geschlecht signifikant den Effekt der Amyloid- β -Gesamtkonzentration auf die gesamte Fehlerzahl ($p < 0,001$); 9 weibliche und 7 männliche Tg2576-Carrier und 6 weibliche und 11 männliche Wildtyptiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019).	43

- Abbildung 9: Regression zwischen der gesamten Fehlerzahl („Wrong choices gesamt“) über acht Testtage und der Menge an unlöslichen Amyloidplaques. Eine größere Menge an Amyloidplaques war mit einer erhöhten Gesamtfehlerzahl assoziiert ($p < 0,001$), wobei weibliche Tiere insgesamt mehr Fehler machten ($p < 0,001$). Darüber hinaus erhöhte das weibliche Geschlecht signifikant den Effekt der unlöslichen Amyloidplaques auf die gesamte Fehlerzahl ($p < 0,001$); jeweils 10 weibliche und männliche Tg2576-Carrier und 9 weibliche und 10 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019). 44
- Abbildung 10: Abbildung von Alter und NR2B-Proteinkonzentration im sensorischen Kortex. Es zeigte sich keine Regression zwischen den Faktoren ($p = 0,603$); 11 weibliche und 10 männliche Tg2576-Carrier und 11 weibliche und 9 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019). 45
- Abbildung 11: Regression zwischen der gesamten Fehlerzahl („Wrong choices gesamt“) über acht Testtage und der Proteinkonzentration an NR2B im sensorischen Kortex. Eine erhöhte NR2B-Konzentration war verbunden mit einer erhöhten Gesamtfehlerzahl ($p = 0,021$). Darüber hinaus erhöhte das weibliche Geschlecht signifikant den Effekt der NR2B-Gesamtkonzentration auf die gesamte Fehlerzahl ($p = 0,017$); jeweils 10 weibliche und männliche Tg2576-Carrier und 11 weibliche und 10 männliche Wildtypiere im Alter von 6 bis 16 Monaten; nach (Schmid et al. 2019). 46

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Guanidine-Puffer.....	28
Tabelle 2: Casein-Puffer.....	28
Tabelle 3: Phosphatgepufferter-Salzlösung.....	32
Tabelle 4: Methoxy-X04-Fertiglösung.....	32
Tabelle 5: Genutzte Geräte.....	33
Tabelle 6: Genutzte Programme.....	33
Tabelle 7: Extraktionslösung.....	34
Tabelle 8: Sample-Puffer/Laemmli-Puffer.....	35
Tabelle 9: Elektrophorese-Puffer	36
Tabelle 10: Blotting-Puffer	36
Tabelle 11: Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit Tween 20.....	37
Tabelle 12: Verwendete Chemikalien je untersuchtem Protein	37
Tabelle 13: Statistische Analyse der kognitiven und Verhaltensparameter der Tg2576-Carrier im Vergleich zu den Wildtyptieren im entsprechenden Alter; nach (Schmid et al. 2019).	39
Tabelle 14: Statistische Analyse der kognitiven und Verhaltensparameter der weiblichen Tg2576-Carrier im Vergleich zu männlichen Carriern im entsprechenden Alter; nach (Schmid et al. 2019).....	39

10. Literaturverzeichnis

- Adlard, P. A., Q. X. Li, C. McLean, C. L. Masters, A. I. Bush, M. Fodero-Tavoletti, V. Villemagne und K. J. Barnham (2014). "beta-amyloid in biological samples: not all Abeta detection methods are created equal." Front Aging Neurosci **6**: 203.
- Ahn, K., C. C. Shelton, Y. Tian, X. Zhang, M. L. Gilchrist, S. S. Sisodia und Y. M. Li (2010). "Activation and intrinsic gamma-secretase activity of presenilin 1." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(50): 21435-21440.
- Akiyama, H., S. Barger, S. Barnum, B. Bradt, J. Bauer, G. M. Cole, N. R. Cooper, P. Eikelenboom, M. Emmerling, B. L. Fiebich, C. E. Finch, S. Frautschy, W. S. Griffin, H. Hampel, M. Hull, G. Landreth, L. Lue, R. Mrazek, I. R. Mackenzie, P. L. McGeer, M. K. O'Banion, J. Pachter, G. Pasinetti, C. Plata-Salman, J. Rogers, R. Rydel, Y. Shen, W. Streit, R. Strohmeyer, I. Tooyoma, F. L. Van Muiswinkel, R. Veerhuis, D. Walker, S. Webster, B. Wegrzyniak, G. Wenk und T. Wyss-Coray (2000). "Inflammation and Alzheimer's disease." Neurobiol Aging **21**(3): 383-421.
- Alafuzoff, I., M. Pikkarainen, S. Al-Sarraj, T. Arzberger, J. Bell, I. Bodi, N. Bogdanovic, H. Budka, O. Bugiani, I. Ferrer, E. Gelpi, G. Giaccone, M. B. Graeber, J. J. Hauw, W. Kamphorst, A. King, N. Kopp, P. Korkolopoulou, G. G. Kovacs, D. Meyronet, P. Parchi, E. Patsouris, M. Preusser, R. Ravid, W. Roggendorf, D. Seilhean, N. Streichenberger, D. R. Thal und H. Kretschmar (2006). "Interlaboratory comparison of assessments of Alzheimer disease-related lesions: a study of the BrainNet Europe Consortium." J Neuropathol Exp Neurol **65**(8): 740-757.
- Allinson, T. M., E. T. Parkin, A. J. Turner und N. M. Hooper (2003). "ADAMs family members as amyloid precursor protein alpha-secretases." J Neurosci Res **74**(3): 342-352.
- Alonso, A. C., T. Zaidi, I. Grundke-Iqbal und K. Iqbal (1994). "Role of abnormally phosphorylated tau in the breakdown of microtubules in Alzheimer disease." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(12): 5562-5566.
- Alzheimer's Association (2016). "2016 Alzheimer's disease facts and figures." Alzheimers Dement **12**(4): 459-509.
- Alzheimer's Disease International (2015). "World Alzheimer Report 2015 - The Global Impact of Dementia."
- Alzheimer's Disease International (2018). "World Alzheimer Report 2018 - The state of art of dementia research: New frontiers."
- Alzheimer, A. (1907). "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde." Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychisch-gerichtliche Medizin **64**: 146-148.
- Amadoro, G., M. T. Ciotti, M. Costanzi, V. Cestari, P. Calissano und N. Canu (2006). "NMDA receptor mediates tau-induced neurotoxicity by calpain and ERK/MAPK activation." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(8): 2892-2897.
- Amtul, Z., L. Wang, D. Westaway und R. F. Rozmahel (2010). "Neuroprotective mechanism conferred by 17beta-estradiol on the biochemical basis of Alzheimer's disease." Neuroscience **169**(2): 781-786.
- Andersen, K., L. J. Launer, M. E. Dewey, L. Letenneur, A. Ott, J. R. Copeland, J. F. Dartigues, P. Kragh-Sorensen, M. Baldereschi, C. Brayne, A. Lobo, J. M. Martinez-Lage, T. Stijnen und A. Hofman (1999). "Gender differences in the incidence of AD and vascular dementia: The EURODEM Studies. EURODEM Incidence Research Group." Neurology **53**(9): 1992-1997.

- Anderson, G. L., M. Limacher, A. R. Assaf, T. Bassford, S. A. Beresford, H. Black, D. Bonds, R. Brunner, R. Brzyski, B. Caan, R. Chlebowski, D. Curb, M. Gass, J. Hays, G. Heiss, S. Hendrix, B. V. Howard, J. Hsia, A. Hubbell, R. Jackson, K. C. Johnson, H. Judd, J. M. Kotchen, L. Kuller, A. Z. LaCroix, D. Lane, R. D. Langer, N. Lasser, C. E. Lewis, J. Manson, K. Margolis, J. Ockene, M. J. O'Sullivan, L. Phillips, R. L. Prentice, C. Ritenbaugh, J. Robbins, J. E. Rossouw, G. Sarto, M. L. Stefanick, L. Van Horn, J. Wactawski-Wende, R. Wallace, S. Wassertheil-Smoller und C. Women's Health Initiative Steering (2004). "Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial." JAMA **291**(14): 1701-1712.
- Apelt, J., M. Bigl, P. Wunderlich und R. Schliebs (2004). "Aging-related increase in oxidative stress correlates with developmental pattern of beta-secretase activity and beta-amyloid plaque formation in transgenic Tg2576 mice with Alzheimer-like pathology." Int J Dev Neurosci **22**(7): 475-484.
- Apelt, J. und R. Schliebs (2001). "Beta-amyloid-induced glial expression of both pro- and anti-inflammatory cytokines in cerebral cortex of aged transgenic Tg2576 mice with Alzheimer plaque pathology." Brain Res **894**(1): 21-30.
- Arendt, T., C. Schindler, M. K. Bruckner, K. Eschrich, V. Bigl, D. Zedlick und L. Marcova (1997). "Plastic neuronal remodeling is impaired in patients with Alzheimer's disease carrying apolipoprotein epsilon 4 allele." J Neurosci **17**(2): 516-529.
- Armstrong, R. A. (2014). "A critical analysis of the 'amyloid cascade hypothesis'." Folia Neuropathol **52**(3): 211-225.
- Arriagada, P. V., J. H. Growdon, E. T. Hedley-Whyte und B. T. Hyman (1992). "Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease." Neurology **42**(3 Pt 1): 631-639.
- Ballatore, C., V. M. Lee und J. Q. Trojanowski (2007). "Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders." Nat Rev Neurosci **8**(9): 663-672.
- Barnes, L. L., R. S. Wilson, J. L. Bienias, J. A. Schneider, D. A. Evans und D. A. Bennett (2005). "Sex differences in the clinical manifestations of Alzheimer disease pathology." Arch Gen Psychiatry **62**(6): 685-691.
- Bass, J. J., D. J. Wilkinson, D. Rankin, B. E. Phillips, N. J. Szewczyk, K. Smith und P. J. Atherton (2017). "An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research." Scand J Med Sci Sports **27**(1): 4-25.
- Behl, C., J. B. Davis, R. Lesley und D. Schubert (1994). "Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity." Cell **77**(6): 817-827.
- Behl, C., T. Skutella, F. Lezoualc'h, A. Post, M. Widmann, C. J. Newton und F. Holsboer (1997). "Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure-activity relationship." Mol Pharmacol **51**(4): 535-541.
- Bekris, L. M., C. E. Yu, T. D. Bird und D. W. Tsuang (2010). "Genetics of Alzheimer disease." J Geriatr Psychiatry Neurol **23**(4): 213-227.
- Benzing, W. C., J. R. Wujek, E. K. Ward, D. Shaffer, K. H. Ashe, S. G. Younkin und K. R. Brunden (1999). "Evidence for glial-mediated inflammation in aged APP(SW) transgenic mice." Neurobiol Aging **20**(6): 581-589.
- Bertoncini, C. W. und M. S. Celej (2011). "Small molecule fluorescent probes for the detection of amyloid self-assembly in vitro and in vivo." Curr Protein Pept Sci **12**(3): 205-220.

- Birks, J. und J. Grimley Evans (2009). "Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia." Cochrane Database Syst Rev(1): CD003120.
- Bitan, G., M. D. Kirkitadze, A. Lomakin, S. S. Vollers, G. B. Benedek und D. B. Teplow (2003). "Amyloid beta -protein (Abeta) assembly: Abeta 40 and Abeta 42 oligomerize through distinct pathways." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(1): 330-335.
- Bolmont, T., F. Haiss, D. Eicke, R. Radde, C. A. Mathis, W. E. Klunk, S. Kohsaka, M. Jucker und M. E. Calhoun (2008). "Dynamics of the microglial/amyloid interaction indicate a role in plaque maintenance." J Neurosci **28**(16): 4283-4292.
- Bradford, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding." Anal Biochem **72**: 248-254.
- Brion, J. P., A. M. Couck, E. Passareiro und J. Flament-Durand (1985). "Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study." J Submicrosc Cytol **17**(1): 89-96.
- Burgold, S., T. Bittner, M. M. Dorostkar, D. Kieser, M. Fuhrmann, G. Mitteregger, H. Kretzschmar, B. Schmidt und J. Herms (2011). "In vivo multiphoton imaging reveals gradual growth of newborn amyloid plaques over weeks." Acta Neuropathol **121**(3): 327-335.
- Burnette, W. N. (1981). "'Western blotting': electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A." Anal Biochem **112**(2): 195-203.
- Buxbaum, J. D., M. Oishi, H. I. Chen, R. Pinkas-Kramarski, E. A. Jaffe, S. E. Gandy und P. Greengard (1992). "Cholinergic agonists and interleukin 1 regulate processing and secretion of the Alzheimer beta/A4 amyloid protein precursor." Proc Natl Acad Sci U S A **89**(21): 10075-10078.
- Cai, H., Y. Wang, D. McCarthy, H. Wen, D. R. Borchelt, D. L. Price und P. C. Wong (2001). "BACE1 is the major beta-secretase for generation of Abeta peptides by neurons." Nat Neurosci **4**(3): 233-234.
- Cai, X. D., T. E. Golde und S. G. Younkin (1993). "Release of excess amyloid beta protein from a mutant amyloid beta protein precursor." Science **259**(5094): 514-516.
- Cai, Z., B. Zhao und A. Ratka (2011). "Oxidative stress and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease." Neuromolecular Med **13**(4): 223-250.
- Callahan, M. J., W. J. Lipinski, F. Bian, R. A. Durham, A. Pack und L. C. Walker (2001). "Augmented senile plaque load in aged female beta-amyloid precursor protein-transgenic mice." Am J Pathol **158**(3): 1173-1177.
- Carroll, J. C., E. R. Rosario, S. Kreimer, A. Villamagna, E. Gentschein, F. Z. Stanczyk und C. J. Pike (2010). "Sex differences in beta-amyloid accumulation in 3xTg-AD mice: role of neonatal sex steroid hormone exposure." Brain Res **1366**: 233-245.
- Castellani, R. J., H. G. Lee, G. Perry und M. A. Smith (2006). "Antioxidant protection and neurodegenerative disease: the role of amyloid-beta and tau." Am J Alzheimers Dis Other Demen **21**(2): 126-130.
- Cha, J. H., L. A. Farrell, S. F. Ahmed, A. Frey, K. K. Hsiao-Ashe, A. B. Young, J. B. Penney, J. J. Locascio, B. T. Hyman und M. C. Irizarry (2001). "Glutamate receptor dysregulation in the hippocampus of transgenic mice carrying mutated human amyloid precursor protein." Neurobiol Dis **8**(1): 90-102.

- Chabrier, M. A., M. Blurton-Jones, A. A. Agazaryan, J. L. Nerhus, H. Martinez-Coria und F. M. LaFerla (2012). "Soluble abeta promotes wild-type tau pathology in vivo." J Neurosci **32**(48): 17345-17350.
- Chapman, P. F., G. L. White, M. W. Jones, D. Cooper-Blacketer, V. J. Marshall, M. Irizarry, L. Younkin, M. A. Good, T. V. Bliss, B. T. Hyman, S. G. Younkin und K. K. Hsiao (1999). "Impaired synaptic plasticity and learning in aged amyloid precursor protein transgenic mice." Nat Neurosci **2**(3): 271-276.
- Chen, C. H., W. Zhou, S. Liu, Y. Deng, F. Cai, M. Tone, Y. Tone, Y. Tong und W. Song (2012). "Increased NF-kappaB signalling up-regulates BACE1 expression and its therapeutic potential in Alzheimer's disease." Int J Neuropsychopharmacol **15**(1): 77-90.
- Chen, Q. S., W. Z. Wei, T. Shimahara und C. W. Xie (2002). "Alzheimer amyloid beta-peptide inhibits the late phase of long-term potentiation through calcineurin-dependent mechanisms in the hippocampal dentate gyrus." Neurobiol Learn Mem **77**(3): 354-371.
- Chene, G., A. Beiser, R. Au, S. R. Preis, P. A. Wolf, C. Dufouil und S. Seshadri (2015). "Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life." Alzheimers Dement **11**(3): 310-320.
- Citron, M., T. Oltersdorf, C. Haass, L. McConlogue, A. Y. Hung, P. Seubert, C. Vigo-Pelfrey, I. Lieberburg und D. J. Selkoe (1992). "Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production." Nature **360**(6405): 672-674.
- Citron, M., D. Westaway, W. Xia, G. Carlson, T. Diehl, G. Levesque, K. Johnson-Wood, M. Lee, P. Seubert, A. Davis, D. Kholodenko, R. Motter, R. Sherrington, B. Perry, H. Yao, R. Strome, I. Lieberburg, J. Rommens, S. Kim, D. Schenk, P. Fraser, P. St George Hyslop und D. J. Selkoe (1997). "Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice." Nat Med **3**(1): 67-72.
- Condello, C., A. Schain und J. Grutzendler (2011). "Multicolor time-stamp reveals the dynamics and toxicity of amyloid deposition." Sci Rep **1**: 19.
- Corder, E. H., E. Ghebremedhin, M. G. Taylor, D. R. Thal, T. G. Ohm und H. Braak (2004). "The biphasic relationship between regional brain senile plaque and neurofibrillary tangle distributions: modification by age, sex, and APOE polymorphism." Ann N Y Acad Sci **1019**: 24-28.
- Craig, M. C., P. M. Maki und D. G. Murphy (2005). "The Women's Health Initiative Memory Study: findings and implications for treatment." Lancet Neurol **4**(3): 190-194.
- Craig, M. C. und D. G. Murphy (2010). "Estrogen therapy and Alzheimer's dementia." Ann N Y Acad Sci **1205**: 245-253.
- Cullen, K. M., G. M. Halliday, H. Cartwright und J. J. Kril (1996). "Improved selectivity and sensitivity in the visualization of neurofibrillary tangles, plaques and neuropil threads." Neurodegeneration **5**(2): 177-187.
- Cummings, B. J., A. J. Mason, R. C. Kim, P. C. Sheu und A. J. Anderson (2002). "Optimization of techniques for the maximal detection and quantification of Alzheimer's-related neuropathology with digital imaging." Neurobiol Aging **23**(2): 161-170.
- D'Amelio, M., V. Cavallucci, S. Middei, C. Marchetti, S. Pacioni, A. Ferri, A. Diamantini, D. De Zio, P. Carrara, L. Battistini, S. Moreno, A. Bacci, M. Ammassari-Teule, H. Marie und F. Cecconi (2011). "Caspase-3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease." Nat Neurosci **14**(1): 69-76.

- Davies, L., B. Wolska, C. Hilbich, G. Multhaup, R. Martins, G. Simms, K. Beyreuther und C. L. Masters (1988). "A4 amyloid protein deposition and the diagnosis of Alzheimer's disease: prevalence in aged brains determined by immunocytochemistry compared with conventional neuropathologic techniques." Neurology **38**(11): 1688-1693.
- De Felice, F. G., D. Wu, M. P. Lambert, S. J. Fernandez, P. T. Velasco, P. N. Lacor, E. H. Bigio, J. Jerecic, P. J. Acton, P. J. Shughrue, E. Chen-Dodson, G. G. Kinney und W. L. Klein (2008). "Alzheimer's disease-type neuronal tau hyperphosphorylation induced by A beta oligomers." Neurobiol Aging **29**(9): 1334-1347.
- de Quervain, D. J., A. Aerni, G. Schelling und B. Roozendaal (2009). "Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease." Front Neuroendocrinol **30**(3): 358-370.
- De Strooper, B., W. Annaert, P. Cupers, P. Saftig, K. Craessaerts, J. S. Mumm, E. H. Schroeter, V. Schrijvers, M. S. Wolfe, W. J. Ray, A. Goate und R. Kopan (1999). "A presenilin-1-dependent gamma-secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain." Nature **398**(6727): 518-522.
- De Strooper, B., T. Iwatsubo und M. S. Wolfe (2012). "Presenilins and gamma-secretase: structure, function, and role in Alzheimer Disease." Cold Spring Harb Perspect Med **2**(1): a006304.
- DeKosky, S. T., S. W. Scheff und S. D. Styren (1996). "Structural correlates of cognition in dementia: quantification and assessment of synapse change." Neurodegeneration **5**(4): 417-421.
- Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V. und H. Bickel (2018). "Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen."
- Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, P. u. N. D., Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN) (2016) "S3-Leitlinie Demenz."
- Dickson, D. W., S. C. Lee, L. A. Mattiace, S. H. Yen und C. Brosnan (1993). "Microglia and cytokines in neurological disease, with special reference to AIDS and Alzheimer's disease." Glia **7**(1): 75-83.
- Dixit, R., J. L. Ross, Y. E. Goldman und E. L. Holzbaur (2008). "Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau." Science **319**(5866): 1086-1089.
- Eckman, E. A. und C. B. Eckman (2005). "Abeta-degrading enzymes: modulators of Alzheimer's disease pathogenesis and targets for therapeutic intervention." Biochem Soc Trans **33**(Pt 5): 1101-1105.
- Edbauer, D., E. Winkler, J. T. Regula, B. Pesold, H. Steiner und C. Haass (2003). "Reconstitution of gamma-secretase activity." Nat Cell Biol **5**(5): 486-488.
- Emre, M., P. Mecocci und K. Stender (2008). "Pooled analyses on cognitive effects of memantine in patients with moderate to severe Alzheimer's disease." J Alzheimers Dis **14**(2): 193-199.
- Engvall, E. und P. Perlmann (1971). "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G." Immunochemistry **8**(9): 871-874.
- European Collaboration on Dementia (2013). "Prevalence of dementia in Europe."
- Fedele, E., D. Rivera, B. Marengo, M. A. Pronzato und R. Ricciarelli (2015). "Amyloid beta: Walking on the dark side of the moon." Mech Ageing Dev **152**: 1-4.

- Fendl, D. (2013). Phänotypische Charakterisierung eines transgenen Mausmodells der Alzheimer-Krankheit unter Bezug auf Alter und Geschlecht, Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät
- Ferreira, S. T., M. V. Lourenco, M. M. Oliveira und F. G. De Felice (2015). "Soluble amyloid-beta oligomers as synaptotoxins leading to cognitive impairment in Alzheimer's disease." Front Cell Neurosci **9**: 191.
- Ferreira, S. T., M. N. Vieira und F. G. De Felice (2007). "Soluble protein oligomers as emerging toxins in Alzheimer's and other amyloid diseases." IUBMB Life **59**(4-5): 332-345.
- Filon, J. R., A. J. Intorcchia, L. I. Sue, E. Vazquez Arreola, J. Wilson, K. J. Davis, M. N. Sabbagh, C. M. Belden, R. J. Caselli, C. H. Adler, B. K. Woodruff, S. Z. Rapsack, G. L. Ahern, A. D. Burke, S. Jacobson, H. A. Shill, E. Driver-Dunckley, K. Chen, E. M. Reiman, T. G. Beach und G. E. Serrano (2016). "Gender Differences in Alzheimer Disease: Brain Atrophy, Histopathology Burden, and Cognition." J Neuropathol Exp Neurol.
- Finder, V. H. (2010). "Alzheimer's disease: a general introduction and pathomechanism." J Alzheimers Dis **22 Suppl 3**: 5-19.
- Flood, D. G., A. G. Reaume, K. S. Dorfman, Y. G. Lin, D. M. Lang, S. P. Trusko, M. J. Savage, W. G. Annaert, B. De Strooper, R. Siman und R. W. Scott (2002). "FAD mutant PS-1 gene-targeted mice: increased A beta 42 and A beta deposition without APP overproduction." Neurobiol Aging **23**(3): 335-348.
- Foley, A. M., Z. M. Ammar, R. H. Lee und C. S. Mitchell (2015). "Systematic review of the relationship between amyloid-beta levels and measures of transgenic mouse cognitive deficit in Alzheimer's disease." J Alzheimers Dis **44**(3): 787-795.
- Gamblin, T. C., F. Chen, A. Zambrano, A. Abraha, S. Lagalwar, A. L. Guillozet, M. Lu, Y. Fu, F. Garcia-Sierra, N. LaPointe, R. Miller, R. W. Berry, L. I. Binder und V. L. Cryns (2003). "Caspase cleavage of tau: linking amyloid and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(17): 10032-10037.
- Games, D., M. Buttini, D. Kobayashi, D. Schenk und P. Seubert (2006). "Mice as models: transgenic approaches and Alzheimer's disease." J Alzheimers Dis **9**(3 Suppl): 133-149.
- Gandy, S. (2003). "Estrogen and neurodegeneration." Neurochem Res **28**(7): 1003-1008.
- Garcia-Osta, A. und C. M. Alberini (2009). "Amyloid beta mediates memory formation." Learn Mem **16**(4): 267-272.
- Gavini, K. und K. Parameshwaran (2019). Western Blot (Protein Immunoblot). StatPearls. Treasure Island (FL).
- Gervais, F. G., D. Xu, G. S. Robertson, J. P. Vaillancourt, Y. Zhu, J. Huang, A. LeBlanc, D. Smith, M. Rigby, M. S. Shearman, E. E. Clarke, H. Zheng, L. H. Van Der Ploeg, S. C. Ruffolo, N. A. Thornberry, S. Xanthoudakis, R. J. Zamboni, S. Roy und D. W. Nicholson (1999). "Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation." Cell **97**(3): 395-406.
- Giannakopoulos, P., F. R. Herrmann, T. Bussiere, C. Bouras, E. Kovari, D. P. Perl, J. H. Morrison, G. Gold und P. R. Hof (2003). "Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease." Neurology **60**(9): 1495-1500.
- Giulian, D., J. Woodward, D. G. Young, J. F. Krebs und L. B. Lachman (1988). "Interleukin-1 injected into mammalian brain stimulates astrogliosis and neovascularization." J Neurosci **8**(7): 2485-2490.

- Glabe, C. C. (2005). "Amyloid accumulation and pathogenesis of Alzheimer's disease: significance of monomeric, oligomeric and fibrillar A β ." Subcell Biochem **38**: 167-177.
- Glabe, C. G. (2008). "Structural classification of toxic amyloid oligomers." J Biol Chem **283**(44): 29639-29643.
- Glass, C. K., K. Saijo, B. Winner, M. C. Marchetto und F. H. Gage (2010). "Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration." Cell **140**(6): 918-934.
- Glenner, G. G. und C. W. Wong (1984). "Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein." Biochem Biophys Res Commun **120**(3): 885-890.
- Goate, A., M. C. Chartier-Harlin, M. Mullan, J. Brown, F. Crawford, L. Fidani, L. Giuffra, A. Haynes, N. Irving, L. James und et al. (1991). "Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease." Nature **349**(6311): 704-706.
- Goedert, M. und R. Jakes (2005). "Mutations causing neurodegenerative tauopathies." Biochim Biophys Acta **1739**(2-3): 240-250.
- Goedert, M., M. G. Spillantini, R. Jakes, D. Rutherford und R. A. Crowther (1989). "Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease." Neuron **3**(4): 519-526.
- Goldgaber, D., H. W. Harris, T. Hla, T. Maciag, R. J. Donnelly, J. S. Jacobsen, M. P. Vitek und D. C. Gajdusek (1989). "Interleukin 1 regulates synthesis of amyloid beta-protein precursor mRNA in human endothelial cells." Proc Natl Acad Sci U S A **86**(19): 7606-7610.
- Goldman-Rakic, P. S. (1996). "Regional and cellular fractionation of working memory." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(24): 13473-13480.
- Gomez-Isla, T., R. Hollister, H. West, S. Mui, J. H. Growdon, R. C. Petersen, J. E. Parisi und B. T. Hyman (1997). "Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease." Ann Neurol **41**(1): 17-24.
- Gonzalez-Velasquez, F. J. und M. A. Moss (2008). "Soluble aggregates of the amyloid-beta protein activate endothelial monolayers for adhesion and subsequent transmigration of monocyte cells." J Neurochem **104**(2): 500-513.
- Good, P. F., P. Werner, A. Hsu, C. W. Olanow und D. P. Perl (1996). "Evidence of neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease." Am J Pathol **149**(1): 21-28.
- Gordan, M. L., B. Jungwirth, F. Ohl, K. Kellermann, E. F. Kochs und M. Blobner (2012). "Evaluation of neurobehavioral deficits following different severities of cerebral ischemia in rats: a comparison between the modified hole board test and the Morris water maze test." Behav Brain Res **235**(1): 7-20.
- Gosztyla, M. L., H. M. Brothers und S. R. Robinson (2018). "Alzheimer's Amyloid-beta is an Antimicrobial Peptide: A Review of the Evidence." J Alzheimers Dis **62**(4): 1495-1506.
- Gotz, J., F. Chen, J. van Dorpe und R. M. Nitsch (2001). "Formation of neurofibrillary tangles in P301 τ transgenic mice induced by A β 42 fibrils." Science **293**(5534): 1491-1495.
- Granger, M. W., B. Franko, M. W. Taylor, C. Messier, P. S. George-Hyslop und S. A. Bennett (2016). "A TgCRND8 Mouse Model of Alzheimer's Disease Exhibits Sexual Dimorphisms in Behavioral Indices of Cognitive Reserve." J Alzheimers Dis **51**(3): 757-773.
- Grimm, M. O., H. S. Grimm und T. Hartmann (2007). "Amyloid beta as a regulator of lipid homeostasis." Trends Mol Med **13**(8): 337-344.

- Grimm, M. O., H. S. Grimm, A. J. Patzold, E. G. Zinser, R. Halonen, M. Duering, J. A. Tschape, B. De Strooper, U. Muller, J. Shen und T. Hartmann (2005). "Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid-beta and presenilin." Nat Cell Biol **7**(11): 1118-1123.
- Grosgen, S., M. O. Grimm, P. Friess und T. Hartmann (2010). "Role of amyloid beta in lipid homeostasis." Biochim Biophys Acta **1801**(8): 966-974.
- Grundke-Iqbal, I., K. Iqbal, Y. C. Tung, M. Quinlan, H. M. Wisniewski und L. I. Binder (1986). "Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology." Proc Natl Acad Sci U S A **83**(13): 4913-4917.
- Guillozet, A. L., S. Weintraub, D. C. Mash und M. M. Mesulam (2003). "Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment." Arch Neurol **60**(5): 729-736.
- Haass, C. (2004). "Take five--BACE and the gamma-secretase quartet conduct Alzheimer's amyloid beta-peptide generation." EMBO J **23**(3): 483-488.
- Haass, C., C. A. Lemere, A. Capell, M. Citron, P. Seubert, D. Schenk, L. Lannfelt und D. J. Selkoe (1995). "The Swedish mutation causes early-onset Alzheimer's disease by beta-secretase cleavage within the secretory pathway." Nat Med **1**(12): 1291-1296.
- Haass, C. und E. Mandelkow (2010). "Fyn-tau-amyloid: a toxic triad." Cell **142**(3): 356-358.
- Haass, C. und D. J. Selkoe (1993). "Cellular processing of beta-amyloid precursor protein and the genesis of amyloid beta-peptide." Cell **75**(6): 1039-1042.
- Haass, C. und D. J. Selkoe (2007). "Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide." Nat Rev Mol Cell Biol **8**(2): 101-112.
- Hamilton, A., J. L. Esseltine, R. A. DeVries, S. P. Cregan und S. S. Ferguson (2014). "Metabotropic glutamate receptor 5 knockout reduces cognitive impairment and pathogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease." Mol Brain **7**: 40.
- Hardingham, G. E., Y. Fukunaga und H. Bading (2002). "Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways." Nat Neurosci **5**(5): 405-414.
- Hardy, J. (2006). "Has the amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease been proved?" Curr Alzheimer Res **3**(1): 71-73.
- Hardy, J. und D. J. Selkoe (2002). "The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics." Science **297**(5580): 353-356.
- Hardy, J. A. und G. A. Higgins (1992). "Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis." Science **256**(5054): 184-185.
- Harrison, F. E., A. H. Hosseini und M. P. McDonald (2009). "Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks." Behav Brain Res **198**(1): 247-251.
- Hartmann, T. (2006). "Role of amyloid precursor protein, amyloid-beta and gamma-secretase in cholesterol maintenance." Neurodegener Dis **3**(4-5): 305-311.
- Hashimoto, T., A. Serrano-Pozo, Y. Hori, K. W. Adams, S. Takeda, A. O. Banerji, A. Mitani, D. Joyner, D. H. Thyssen, B. J. Bacskai, M. P. Frosch, T. L. Spires-Jones, M. B. Finn, D. M. Holtzman und B. T. Hyman (2012). "Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid beta peptide." J Neurosci **32**(43): 15181-15192.

- Hebert, L. E., P. A. Scherr, J. J. McCann, L. A. Beckett und D. A. Evans (2001). "Is the risk of developing Alzheimer's disease greater for women than for men?" Am J Epidemiol **153**(2): 132-136.
- Henderson, V. W., A. Paganini-Hill, C. K. Emanuel, M. E. Dunn und J. G. Buckwalter (1994). "Estrogen replacement therapy in older women. Comparisons between Alzheimer's disease cases and nondemented control subjects." Arch Neurol **51**(9): 896-900.
- Heneka, M. T., M. J. Carson, J. El Khoury, G. E. Landreth, F. Brosseron, D. L. Feinstein, A. H. Jacobs, T. Wyss-Coray, J. Vitorica, R. M. Ransohoff, K. Herrup, S. A. Frautschy, B. Finsen, G. C. Brown, A. Verkhratsky, K. Yamanaka, J. Koistinaho, E. Latz, A. Halle, G. C. Petzold, T. Town, D. Morgan, M. L. Shinohara, V. H. Perry, C. Holmes, N. G. Bazan, D. J. Brooks, S. Hunot, B. Joseph, N. Deigendesch, O. Garaschuk, E. Boddeke, C. A. Dinarello, J. C. Breitner, G. M. Cole, D. T. Golenbock und M. P. Kummer (2015). "Neuroinflammation in Alzheimer's disease." Lancet Neurol **14**(4): 388-405.
- Hensley, K., J. M. Carney, M. P. Mattson, M. Aksenova, M. Harris, J. F. Wu, R. A. Floyd und D. A. Butterfield (1994). "A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(8): 3270-3274.
- Herrup, K. (2010). "Reimagining Alzheimer's disease--an age-based hypothesis." J Neurosci **30**(50): 16755-16762.
- Herrup, K. (2015). "The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis." Nat Neurosci **18**(6): 794-799.
- Higgins, G. A., L. B. Silenies, C. MacMillan, J. Sevo, F. D. Zeeb und S. Thevarkunnel (2016). "Enhanced attention and impulsive action following NMDA receptor GluN2B-selective antagonist pretreatment." Behav Brain Res **311**: 1-14.
- Hiltunen, M., T. van Groen und J. Jolkonen (2009). "Functional roles of amyloid-beta protein precursor and amyloid-beta peptides: evidence from experimental studies." J Alzheimers Dis **18**(2): 401-412.
- Hirata-Fukae, C., H. F. Li, H. S. Hoe, A. J. Gray, S. S. Minami, K. Hamada, T. Niikura, F. Hua, H. Tsukagoshi-Nagai, Y. Horikoshi-Sakuraba, M. Mughal, G. W. Rebeck, F. M. LaFerla, M. P. Mattson, N. Iwata, T. C. Saido, W. L. Klein, K. E. Duff, P. S. Aisen und Y. Matsuoka (2008). "Females exhibit more extensive amyloid, but not tau, pathology in an Alzheimer transgenic model." Brain Res **1216**: 92-103.
- Hodges, H. (1996). "Maze procedures: the radial-arm and water maze compared." Brain Res Cogn Brain Res **3**(3-4): 167-181.
- Holcomb, L. A., M. N. Gordon, P. Jantzen, K. Hsiao, K. Duff und D. Morgan (1999). "Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: lack of association with amyloid deposits." Behav Genet **29**(3): 177-185.
- Holmes, C., C. Cunningham, E. Zotova, J. Woolford, C. Dean, S. Kerr, D. Culliford und V. H. Perry (2009). "Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease." Neurology **73**(10): 768-774.
- Holtzman, D. M., K. R. Bales, T. Tenkova, A. M. Fagan, M. Parsadanian, L. J. Sartorius, B. Mackey, J. Olney, D. McKeel, D. Wozniak und S. M. Paul (2000). "Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(6): 2892-2897.

- Hsiao, K., P. Chapman, S. Nilsen, C. Eckman, Y. Harigaya, S. Younkin, F. Yang und G. Cole (1996). "Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice." Science **274**(5284): 99-102.
- Hu, N. W., A. J. Nicoll, D. Zhang, A. J. Mably, T. O'Malley, S. A. Purro, C. Terry, J. Collinge, D. M. Walsh und M. J. Rowan (2014). "mGlu5 receptors and cellular prion protein mediate amyloid-beta-facilitated synaptic long-term depression in vivo." Nat Commun **5**: 3374.
- Hudson, S. P., S. Jacobson-Pick und H. Anisman (2014). "Sex differences in behavior and pro-inflammatory cytokine mRNA expression following stressor exposure and re-exposure." Neuroscience **277**: 239-249.
- Hussain, I., D. Powell, D. R. Howlett, D. G. Tew, T. D. Meek, C. Chapman, I. S. Gloger, K. E. Murphy, C. D. Southan, D. M. Ryan, T. S. Smith, D. L. Simmons, F. S. Walsh, C. Dingwall und G. Christie (1999). "Identification of a novel aspartic protease (Asp 2) as beta-secretase." Mol Cell Neurosci **14**(6): 419-427.
- Hutter-Paier, B., H. J. Huttunen, L. Puglielli, C. B. Eckman, D. Y. Kim, A. Hofmeister, R. D. Moir, S. B. Domnitz, M. P. Frosch, M. Windisch und D. M. Kovacs (2004). "The ACAT inhibitor CP-113,818 markedly reduces amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease." Neuron **44**(2): 227-238.
- Hynd, M. R., H. L. Scott und P. R. Dodd (2004). "Differential expression of N-methyl-D-aspartate receptor NR2 isoforms in Alzheimer's disease." J Neurochem **90**(4): 913-919.
- Imfeld, P., Y. B. Brauchli Pernus, S. S. Jick und C. R. Meier (2013). "Epidemiology, comorbidities, and medication use of patients with Alzheimer's disease or vascular dementia in the UK." J Alzheimers Dis **35**(3): 565-573.
- Iqbal, K., C. Alonso Adel und I. Grundke-Iqbal (2008). "Cytosolic abnormally hyperphosphorylated tau but not paired helical filaments sequester normal MAPs and inhibit microtubule assembly." J Alzheimers Dis **14**(4): 365-370.
- Iqbal, K. und I. Grundke-Iqbal (2008). "Alzheimer neurofibrillary degeneration: significance, etiopathogenesis, therapeutics and prevention." J Cell Mol Med **12**(1): 38-55.
- Iqbal, K., F. Liu und C. X. Gong (2016). "Tau and neurodegenerative disease: the story so far." Nat Rev Neurol **12**(1): 15-27.
- Iqbal, K., F. Liu, C. X. Gong, C. Alonso Adel und I. Grundke-Iqbal (2009). "Mechanisms of tau-induced neurodegeneration." Acta Neuropathol **118**(1): 53-69.
- Iqbal, K., F. Liu, C. X. Gong und I. Grundke-Iqbal (2010). "Tau in Alzheimer disease and related tauopathies." Curr Alzheimer Res **7**(8): 656-664.
- Irie, K., K. Murakami, Y. Masuda, A. Morimoto, H. Ohigashi, R. Ohashi, K. Takegoshi, M. Nagao, T. Shimizu und T. Shirasawa (2005). "Structure of beta-amyloid fibrils and its relevance to their neurotoxicity: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease." J Biosci Bioeng **99**(5): 437-447.
- Irizarry, M. C., M. McNamara, K. Fedorchak, K. Hsiao und B. T. Hyman (1997). "APP^{Sw} transgenic mice develop age-related A beta deposits and neuropil abnormalities, but no neuronal loss in CA1." J Neuropathol Exp Neurol **56**(9): 965-973.
- Irvine, K., K. R. Laws, T. M. Gale und T. K. Kondel (2012). "Greater cognitive deterioration in women than men with Alzheimer's disease: a meta analysis." J Clin Exp Neuropsychol **34**(9): 989-998.

- Ittner, L. M., Y. D. Ke, F. Delerue, M. Bi, A. Gladbach, J. van Eersel, H. Wolfing, B. C. Chieng, M. J. Christie, I. A. Napier, A. Eckert, M. Staufenbiel, E. Hardeman und J. Gotz (2010). "Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models." Cell **142**(3): 387-397.
- Iwatsubo, T., A. Odaka, N. Suzuki, H. Mizusawa, N. Nukina und Y. Ihara (1994). "Visualization of A beta 42(43) and A beta 40 in senile plaques with end-specific A beta monoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta 42(43)." Neuron **13**(1): 45-53.
- Jacobsen, J. S., C. C. Wu, J. M. Redwine, T. A. Comery, R. Arias, M. Bowlby, R. Martone, J. H. Morrison, M. N. Pangalos, P. H. Reinhart und F. E. Bloom (2006). "Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(13): 5161-5166.
- Jankowsky, J. L., H. H. Slunt, T. Ratovitski, N. A. Jenkins, N. G. Copeland und D. R. Borchelt (2001). "Co-expression of multiple transgenes in mouse CNS: a comparison of strategies." Biomol Eng **17**(6): 157-165.
- Jarero-Basulto, J. J., J. Luna-Munoz, R. Mena, Z. Kristofikova, D. Ripova, G. Perry, L. I. Binder und F. Garcia-Sierra (2013). "Proteolytic cleavage of polymeric tau protein by caspase-3: implications for Alzheimer disease." J Neuropathol Exp Neurol **72**(12): 1145-1161.
- Jarrett, J. T., E. P. Berger und P. T. Lansbury, Jr. (1993). "The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease." Biochemistry **32**(18): 4693-4697.
- Jiang, T., Q. Sun und S. Chen (2016). "Oxidative stress: A major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease." Prog Neurobiol **147**: 1-19.
- Kang, J., H. G. Lemaire, A. Unterbeck, J. M. Salbaum, C. L. Masters, K. H. Grzeschik, G. Multhaup, K. Beyreuther und B. Muller-Hill (1987). "The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor." Nature **325**(6106): 733-736.
- Karran, E. und B. De Strooper (2016). "The amyloid cascade hypothesis: are we poised for success or failure?" J Neurochem **139 Suppl 2**: 237-252.
- Kawarabayashi, T., L. H. Younkin, T. C. Saido, M. Shoji, K. H. Ashe und S. G. Younkin (2001). "Age-dependent changes in brain, CSF, and plasma amyloid (beta) protein in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease." J Neurosci **21**(2): 372-381.
- Kayed, R., E. Head, J. L. Thompson, T. M. McIntire, S. C. Milton, C. W. Cotman und C. G. Glabe (2003). "Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis." Science **300**(5618): 486-489.
- Kennard, J. A. und D. S. Woodruff-Pak (2011). "Age sensitivity of behavioral tests and brain substrates of normal aging in mice." Front Aging Neurosci **3**: 9.
- Khatoun, S., I. Grundke-Iqbal und K. Iqbal (1992). "Brain levels of microtubule-associated protein tau are elevated in Alzheimer's disease: a radioimmuno-slot-blot assay for nanograms of the protein." J Neurochem **59**(2): 750-753.
- Kimberly, W. T., M. J. LaVoie, B. L. Ostaszewski, W. Ye, M. S. Wolfe und D. J. Selkoe (2003). "Gamma-secretase is a membrane protein complex comprised of presenilin, nicastrin, Aph-1, and Pen-2." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(11): 6382-6387.

- King, D. L., G. W. Arendash, F. Crawford, T. Sterk, J. Menendez und M. J. Mullan (1999). "Progressive and gender-dependent cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease." Behav Brain Res **103**(2): 145-162.
- Kinney, J. W., S. M. Bemiller, A. S. Murtishaw, A. M. Leisgang, A. M. Salazar und B. T. Lamb (2018). "Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease." Alzheimers Dement (N Y) **4**: 575-590.
- Klein, W. L., G. A. Krafft und C. E. Finch (2001). "Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum?" Trends Neurosci **24**(4): 219-224.
- Klingner, M., J. Apelt, A. Kumar, D. Sorger, O. Sabri, J. Steinbach, M. Scheunemann und R. Schliebs (2003). "Alterations in cholinergic and non-cholinergic neurotransmitter receptor densities in transgenic Tg2576 mouse brain with beta-amyloid plaque pathology." Int J Dev Neurosci **21**(7): 357-369.
- Klunk, W. E., B. J. Bacsikai, C. A. Mathis, S. T. Kajdasz, M. E. McLellan, M. P. Frosch, M. L. Debnath, D. P. Holt, Y. Wang und B. T. Hyman (2002). "Imaging Abeta plaques in living transgenic mice with multiphoton microscopy and methoxy-X04, a systemically administered Congo red derivative." J Neuropathol Exp Neurol **61**(9): 797-805.
- Koffie, R. M., M. Meyer-Luehmann, T. Hashimoto, K. W. Adams, M. L. Mielke, M. Garcia-Alloza, K. D. Micheva, S. J. Smith, M. L. Kim, V. M. Lee, B. T. Hyman und T. L. Spire-Jones (2009). "Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(10): 4012-4017.
- Kontush, A., C. Berndt, W. Weber, V. Akopyan, S. Arlt, S. Schippling und U. Beisiegel (2001). "Amyloid-beta is an antioxidant for lipoproteins in cerebrospinal fluid and plasma." Free Radic Biol Med **30**(1): 119-128.
- Koudinov, A. R. und T. T. Berezov (2004). "Alzheimer's amyloid-beta (A beta) is an essential synaptic protein, not neurotoxic junk." Acta Neurobiol Exp (Wars) **64**(1): 71-79.
- Kraszpulski, M., H. Soininen, P. Riekkinen, Sr. und I. Alafuzoff (1998). "Pitfalls in the quantitative estimation of beta-amyloid immunoreactivity in human brain tissue." Histochem Cell Biol **110**(4): 439-445.
- Kruger, N. J. (1994). "The Bradford method for protein quantitation." Methods Mol Biol **32**: 9-15.
- Kuida, K., T. S. Zheng, S. Na, C. Kuan, D. Yang, H. Karasuyama, P. Rakic und R. A. Flavell (1996). "Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice." Nature **384**(6607): 368-372.
- Kuperstein, I., K. Broersen, I. Benilova, J. Rozenski, W. Jonckheere, M. Debulpaep, A. Vandersteen, I. Segers-Nolten, K. Van Der Werf, V. Subramaniam, D. Braeken, G. Callewaert, C. Bartic, R. D'Hooge, I. C. Martins, F. Rousseau, J. Schymkowitz und B. De Strooper (2010). "Neurotoxicity of Alzheimer's disease Abeta peptides is induced by small changes in the Abeta42 to Abeta40 ratio." EMBO J **29**(19): 3408-3420.
- Kurien, B. T. und R. H. Scofield (2003). "Protein blotting: a review." J Immunol Methods **274**(1-2): 1-15.
- Kurien, B. T. und R. H. Scofield (2006). "Western blotting." Methods **38**(4): 283-293.
- Labots, M., H. A. Van Lith, F. Ohl und S. S. Arndt (2015). "The modified hole board--measuring behavior, cognition and social interaction in mice and rats." J Vis Exp(98).

- LaClair, K. D., K. F. Manaye, D. L. Lee, J. S. Allard, A. V. Savonenko, J. C. Troncoso und P. C. Wong (2013). "Treatment with bexarotene, a compound that increases apolipoprotein-E, provides no cognitive benefit in mutant APP/PS1 mice." Mol Neurodegener **8**: 18.
- Laemmli, U. K. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4." Nature **227**(5259): 680-685.
- Lambert, M. P., A. K. Barlow, B. A. Chromy, C. Edwards, R. Freed, M. Liosatos, T. E. Morgan, I. Rozovsky, B. Trommer, K. L. Viola, P. Wals, C. Zhang, C. E. Finch, G. A. Krafft und W. L. Klein (1998). "Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(11): 6448-6453.
- Lamy, C., C. Duyckaerts, P. Delaere, C. Payan, J. Fermanian, V. Poulain und J. J. Hauw (1989). "Comparison of seven staining methods for senile plaques and neurofibrillary tangles in a prospective series of 15 elderly patients." Neuropathol Appl Neurobiol **15**(6): 563-578.
- Lee, G., S. T. Newman, D. L. Gard, H. Band und G. Panchamoorthy (1998). "Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases." J Cell Sci **111** (Pt 21): 3167-3177.
- Lee, H. G., G. Casadesus, X. Zhu, J. A. Joseph, G. Perry und M. A. Smith (2004). "Perspectives on the amyloid-beta cascade hypothesis." J Alzheimers Dis **6**(2): 137-145.
- Lee, H. G., X. Zhu, R. J. Castellani, A. Nunomura, G. Perry und M. A. Smith (2007). "Amyloid-beta in Alzheimer disease: the null versus the alternate hypotheses." J Pharmacol Exp Ther **321**(3): 823-829.
- Lee, J. Y., T. B. Cole, R. D. Palmiter, S. W. Suh und J. Y. Koh (2002). "Contribution by synaptic zinc to the gender-disparate plaque formation in human Swedish mutant APP transgenic mice." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(11): 7705-7710.
- Lee, V. M., M. Goedert und J. Q. Trojanowski (2001). "Neurodegenerative tauopathies." Annu Rev Neurosci **24**: 1121-1159.
- Leissring, M. A., M. P. Murphy, T. R. Mead, Y. Akbari, M. C. Sugarman, M. Jannatipour, B. Anliker, U. Muller, P. Saftig, B. De Strooper, M. S. Wolfe, T. E. Golde und F. M. LaFerla (2002). "A physiologic signaling role for the gamma -secretase-derived intracellular fragment of APP." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(7): 4697-4702.
- Leong, A. S. (2004). "Pitfalls in diagnostic immunohistology." Adv Anat Pathol **11**(2): 86-93.
- Lesne, S., M. T. Koh, L. Kotilinek, R. Kaye, C. G. Glabe, A. Yang, M. Gallagher und K. H. Ashe (2006). "A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory." Nature **440**(7082): 352-357.
- Lesne, S., L. Kotilinek und K. H. Ashe (2008). "Plaque-bearing mice with reduced levels of oligomeric amyloid-beta assemblies have intact memory function." Neuroscience **151**(3): 745-749.
- Leveille, F., F. El Gaamouch, E. Gouix, M. Lecocq, D. Lobner, O. Nicole und A. Buisson (2008). "Neuronal viability is controlled by a functional relation between synaptic and extrasynaptic NMDA receptors." FASEB J **22**(12): 4258-4271.
- Levy-Lahad, E., W. Wasco, P. Poorkaj, D. M. Romano, J. Oshima, W. H. Pettingell, C. E. Yu, P. D. Jondro, S. D. Schmidt, K. Wang und et al. (1995). "Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus." Science **269**(5226): 973-977.
- Levy-Lahad, E., E. M. Wijsman, E. Nemens, L. Anderson, K. A. Goddard, J. L. Weber, T. D. Bird und G. D. Schellenberg (1995). "A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1." Science **269**(5226): 970-973.

- Lewis, J., D. W. Dickson, W. L. Lin, L. Chisholm, A. Corral, G. Jones, S. H. Yen, N. Sahara, L. Skipper, D. Yager, C. Eckman, J. Hardy, M. Hutton und E. McGowan (2001). "Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP." Science **293**(5534): 1487-1491.
- Li, B., M. O. Chohan, I. Grundke-Iqbal und K. Iqbal (2007). "Disruption of microtubule network by Alzheimer abnormally hyperphosphorylated tau." Acta Neuropathol **113**(5): 501-511.
- Li, R., Y. Shen, L. B. Yang, L. F. Lue, C. Finch und J. Rogers (2000). "Estrogen enhances uptake of amyloid beta-protein by microglia derived from the human cortex." J Neurochem **75**(4): 1447-1454.
- Li, R. und M. Singh (2014). "Sex differences in cognitive impairment and Alzheimer's disease." Front Neuroendocrinol **35**(3): 385-403.
- Li, S., M. Jin, T. Koeglsperger, N. E. Shepardson, G. M. Shankar und D. J. Selkoe (2011). "Soluble A β oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors." J Neurosci **31**(18): 6627-6638.
- Liang, K., L. Yang, C. Yin, Z. Xiao, J. Zhang, Y. Liu und J. Huang (2010). "Estrogen stimulates degradation of beta-amyloid peptide by up-regulating neprilysin." J Biol Chem **285**(2): 935-942.
- Liao, Y. F., B. J. Wang, H. T. Cheng, L. H. Kuo und M. S. Wolfe (2004). "Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interferon-gamma stimulate gamma-secretase-mediated cleavage of amyloid precursor protein through a JNK-dependent MAPK pathway." J Biol Chem **279**(47): 49523-49532.
- Liesinger, A. M., N. R. Graff-Radford, R. Duara, R. E. Carter, F. S. Hanna Al-Shaikh, S. Koga, K. M. Hinkle, S. K. DiLello, M. F. Johnson, A. Aziz, N. Ertekin-Taner, O. A. Ross, D. W. Dickson und M. E. Murray (2018). "Sex and age interact to determine clinicopathologic differences in Alzheimer's disease." Acta Neuropathol **136**(6): 873-885.
- Lin, X., G. Koelsch, S. Wu, D. Downs, A. Dashti und J. Tang (2000). "Human aspartic protease memapsin 2 cleaves the beta-secretase site of beta-amyloid precursor protein." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(4): 1456-1460.
- Lindner, M. D. (1997). "Reliability, distribution, and validity of age-related cognitive deficits in the Morris water maze." Neurobiol Learn Mem **68**(3): 203-220.
- Lindwall, G. und R. D. Cole (1984). "Phosphorylation affects the ability of tau protein to promote microtubule assembly." J Biol Chem **259**(8): 5301-5305.
- Liu, Y., T. P. Wong, M. Aarts, A. Rooyackers, L. Liu, T. W. Lai, D. C. Wu, J. Lu, M. Tymianski, A. M. Craig und Y. T. Wang (2007). "NMDA receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death both in vitro and in vivo." J Neurosci **27**(11): 2846-2857.
- Lue, L. F., Y. M. Kuo, A. E. Roher, L. Brachova, Y. Shen, L. Sue, T. Beach, J. H. Kurth, R. E. Rydel und J. Rogers (1999). "Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease." Am J Pathol **155**(3): 853-862.
- Lue, L. F., R. Rydel, E. F. Brigham, L. B. Yang, H. Hampel, G. M. Murphy, Jr., L. Brachova, S. D. Yan, D. G. Walker, Y. Shen und J. Rogers (2001). "Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro." Glia **35**(1): 72-79.

- Luo, Y., B. Bolon, M. A. Damore, D. Fitzpatrick, H. Liu, J. Zhang, Q. Yan, R. Vassar und M. Citron (2003). "BACE1 (beta-secretase) knockout mice do not acquire compensatory gene expression changes or develop neural lesions over time." Neurobiol Dis **14**(1): 81-88.
- Mabry, T. R., R. McCarty, P. E. Gold und T. C. Foster (1996). "Age and stress history effects on spatial performance in a swim task in Fischer-344 rats." Neurobiol Learn Mem **66**(1): 1-10.
- Maccioni, R. B., L. E. Rojo, J. A. Fernandez und R. O. Kuljis (2009). "The role of neuroimmunomodulation in Alzheimer's disease." Ann N Y Acad Sci **1153**: 240-246.
- Mahmood, T. und P. C. Yang (2012). "Western blot: technique, theory, and trouble shooting." N Am J Med Sci **4**(9): 429-434.
- Maki, P. M. (2006). "Hormone therapy and cognitive function: is there a critical period for benefit?" Neuroscience **138**(3): 1027-1030.
- Mandelkow, E. M. und E. Mandelkow (2012). "Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration." Cold Spring Harb Perspect Med **2**(7): a006247.
- Markesbery, W. R. (1997). "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease." Free Radic Biol Med **23**(1): 134-147.
- Masuhr, K. F. N., M. (2007). 1.2 Degenerative (atrophische) Prozesse des Gehirns und Rückenmark. Duale Reihe - Neurologie. K. F. N. Masuhr, M. Stuttgart, George Thieme Verlag KG. **6. Auflage**.
- Mavroggiorgou, P., H. J. Gertz, R. Ferszt, R. Wolf, K. J. Bar und G. Juckel (2011). "Are routine methods good enough to stain senile plaques and neurofibrillary tangles in different brain regions of demented patients?" Psychiatr Danub **23**(4): 334-339.
- McCarter, J. F., S. Liebscher, T. Bachhuber, C. Abou-Ajram, M. Hubener, B. T. Hyman, C. Haass und M. Meyer-Luehmann (2013). "Clustering of plaques contributes to plaque growth in a mouse model of Alzheimer's disease." Acta Neuropathol **126**(2): 179-188.
- McGeer, E. G. und P. L. McGeer (2010). "Neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a field in its infancy." J Alzheimers Dis **19**(1): 355-361.
- McGeer, P. L. und E. G. McGeer (1995). "The inflammatory response system of brain: implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases." Brain Res Brain Res Rev **21**(2): 195-218.
- McGeer, P. L., M. Schulzer und E. G. McGeer (1996). "Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies." Neurology **47**(2): 425-432.
- McLean, C. A., R. A. Cherny, F. W. Fraser, S. J. Fuller, M. J. Smith, K. Beyreuther, A. I. Bush und C. L. Masters (1999). "Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease." Ann Neurol **46**(6): 860-866.
- Means, J. C., B. C. Gerdes, S. Kaja, N. Sumien, A. J. Payne, D. A. Stark, P. K. Borden, J. L. Price und P. Koulen (2016). "Caspase-3-Dependent Proteolytic Cleavage of Tau Causes Neurofibrillary Tangles and Results in Cognitive Impairment During Normal Aging." Neurochem Res **41**(9): 2278-2288.
- Melnikova, T., D. Park, L. Becker, D. Lee, E. Cho, N. Sayyida, J. Tian, K. Bandeen-Roche, D. R. Borchelt und A. V. Savonenko (2016). "Sex-related dimorphism in dentate gyrus atrophy and behavioral phenotypes in an inducible tTa:APPsi transgenic model of Alzheimer's disease." Neurobiol Dis **96**: 171-185.

- Meyer-Luehmann, M., T. L. Spires-Jones, C. Prada, M. Garcia-Alloza, A. de Calignon, A. Rozkalne, J. Koenigsknecht-Talboo, D. M. Holtzman, B. J. Bacskai und B. T. Hyman (2008). "Rapid appearance and local toxicity of amyloid-beta plaques in a mouse model of Alzheimer's disease." Nature **451**(7179): 720-724.
- Mhatre, M., R. A. Floyd und K. Hensley (2004). "Oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis: common links and potential therapeutic targets." J Alzheimers Dis **6**(2): 147-157.
- Michaelson, D. M. (2014). "APOE epsilon4: the most prevalent yet understudied risk factor for Alzheimer's disease." Alzheimers Dement **10**(6): 861-868.
- Mielke, M. M., P. Vemuri und W. A. Rocca (2014). "Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences." Clin Epidemiol **6**: 37-48.
- Miguel-Alvarez, M., A. Santos-Lozano, F. Sanchis-Gomar, C. Fiuza-Luces, H. Pareja-Galeano, N. Garatachea und A. Lucia (2015). "Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a treatment for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of treatment effect." Drugs Aging **32**(2): 139-147.
- Morinaga, A., M. Hirohata, K. Ono und M. Yamada (2007). "Estrogen has anti-amyloidogenic effects on Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro." Biochem Biophys Res Commun **359**(3): 697-702.
- Morinaga, A., K. Ono, J. Takasaki, T. Ikeda, M. Hirohata und M. Yamada (2011). "Effects of sex hormones on Alzheimer's disease-associated beta-amyloid oligomer formation in vitro." Exp Neurol **228**(2): 298-302.
- Morley, J. E., S. A. Farr, W. A. Banks, S. N. Johnson, K. A. Yamada und L. Xu (2010). "A physiological role for amyloid-beta protein: enhancement of learning and memory." J Alzheimers Dis **19**(2): 441-449.
- Morris, R. (1984). "Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat." J Neurosci Methods **11**(1): 47-60.
- Mucke, L. und D. J. Selkoe (2012). "Neurotoxicity of amyloid beta-protein: synaptic and network dysfunction." Cold Spring Harb Perspect Med **2**(7): a006338.
- Mullan, M., F. Crawford, K. Axelman, H. Houlden, L. Lilius, B. Winblad und L. Lannfelt (1992). "A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of beta-amyloid." Nat Genet **1**(5): 345-347.
- Nelson, P. T., I. Alafuzoff, E. H. Bigio, C. Bouras, H. Braak, N. J. Cairns, R. J. Castellani, B. J. Crain, P. Davies, K. Del Tredici, C. Duyckaerts, M. P. Frosch, V. Haroutunian, P. R. Hof, C. M. Hulette, B. T. Hyman, T. Iwatsubo, K. A. Jellinger, G. A. Jicha, E. Kovari, W. A. Kukull, J. B. Leverenz, S. Love, I. R. Mackenzie, D. M. Mann, E. Masliah, A. C. McKee, T. J. Montine, J. C. Morris, J. A. Schneider, J. A. Sonnen, D. R. Thal, J. Q. Trojanowski, J. C. Troncoso, T. Wisniewski, R. L. Woltjer und T. G. Beach (2012). "Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature." J Neuropathol Exp Neurol **71**(5): 362-381.
- Neve, R. L., P. Harris, K. S. Kosik, D. M. Kurnit und T. A. Donlon (1986). "Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2." Brain Res **387**(3): 271-280.
- Nicholson, D. W., A. Ali, N. A. Thornberry, J. P. Vaillancourt, C. K. Ding, M. Gallant, Y. Gareau, P. R. Griffin, M. Labelle, Y. A. Lazebnik und et al. (1995). "Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis." Nature **376**(6535): 37-43.

- Nicholson, D. W. und N. A. Thornberry (1997). "Caspases: killer proteases." Trends Biochem Sci **22**(8): 299-306.
- Niu, Y. L., W. J. Zhang, P. Wu, B. Liu, G. T. Sun, D. M. Yu und J. B. Deng (2010). "Expression of the apoptosis-related proteins caspase-3 and NF-kappaB in the hippocampus of Tg2576 mice." Neurosci Bull **26**(1): 37-46.
- Nunomura, A., R. J. Castellani, X. Zhu, P. I. Moreira, G. Perry und M. A. Smith (2006). "Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease." J Neuropathol Exp Neurol **65**(7): 631-641.
- Nunomura, A., G. Perry, G. Aliev, K. Hirai, A. Takeda, E. K. Balraj, P. K. Jones, H. Ghanbari, T. Wataya, S. Shimohama, S. Chiba, C. S. Atwood, R. B. Petersen und M. A. Smith (2001). "Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease." J Neuropathol Exp Neurol **60**(8): 759-767.
- Oakley, H., S. L. Cole, S. Logan, E. Maus, P. Shao, J. Craft, A. Guillozet-Bongaarts, M. Ohno, J. Disterhoft, L. Van Eldik, R. Berry und R. Vassar (2006). "Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation." J Neurosci **26**(40): 10129-10140.
- Oddo, S., A. Caccamo, J. D. Shepherd, M. P. Murphy, T. E. Golde, R. Kaye, R. Metherate, M. P. Mattson, Y. Akbari und F. M. LaFerla (2003). "Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction." Neuron **39**(3): 409-421.
- Oh, E. S., M. M. Mielke, P. B. Rosenberg, A. Jain, N. S. Fedarko, C. G. Lyketsos und P. D. Mehta (2010). "Comparison of conventional ELISA with electrochemiluminescence technology for detection of amyloid-beta in plasma." J Alzheimers Dis **21**(3): 769-773.
- Ohl, F., F. Holsboer und R. Landgraf (2001). "The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents." Behav Res Methods Instrum Comput **33**(3): 392-397.
- Ohl, F. und M. E. Keck (2003). "Behavioural screening in mutagenised mice--in search for novel animal models of psychiatric disorders." Eur J Pharmacol **480**(1-3): 219-228.
- Ohl, F., A. Roedel, E. Binder und F. Holsboer (2003). "Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice." Eur J Neurosci **17**(1): 128-136.
- Ohl, F., I. Sillaber, E. Binder, M. E. Keck und F. Holsboer (2001). "Differential analysis of behavior and diazepam-induced alterations in C57BL/6N and BALB/c mice using the modified hole board test." J Psychiatr Res **35**(3): 147-154.
- Oveisgharan, S., Z. Arvanitakis, L. Yu, J. Farfel, J. A. Schneider und D. A. Bennett (2018). "Sex differences in Alzheimer's disease and common neuropathologies of aging." Acta Neuropathol **136**(6): 887-900.
- Palmeri, A., R. Ricciarelli, W. Gulisano, D. Rivera, C. Rebosio, E. Calcagno, M. R. Tropea, S. Conti, U. Das, S. Roy, M. A. Pronzato, O. Arancio, E. Fedele und D. Puzzo (2017). "Amyloid-beta Peptide Is Needed for cGMP-Induced Long-Term Potentiation and Memory." J Neurosci **37**(29): 6926-6937.
- Pappolla, M. A., Y. J. Chyan, R. A. Omar, K. Hsiao, G. Perry, M. A. Smith und P. Bozner (1998). "Evidence of oxidative stress and in vivo neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies in vivo." Am J Pathol **152**(4): 871-877.

- Paresce, D. M., H. Chung und F. R. Maxfield (1997). "Slow degradation of aggregates of the Alzheimer's disease amyloid beta-protein by microglial cells." J Biol Chem **272**(46): 29390-29397.
- Parihar, M. S. und G. J. Brewer (2010). "Amyloid-beta as a modulator of synaptic plasticity." J Alzheimers Dis **22**(3): 741-763.
- Perez, S. E., B. He, N. Muhammad, K. J. Oh, M. Fahnstock, M. D. Ikonovic und E. J. Mufson (2011). "Cholinergic basal forebrain system alterations in 3xTg-AD transgenic mice." Neurobiol Dis **41**(2): 338-352.
- Pike, C. J., J. C. Carroll, E. R. Rosario und A. M. Barron (2009). "Protective actions of sex steroid hormones in Alzheimer's disease." Front Neuroendocrinol **30**(2): 239-258.
- Pimplikar, S. W. (2009). "Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease." Int J Biochem Cell Biol **41**(6): 1261-1268.
- Pimplikar, S. W., R. A. Nixon, N. K. Robakis, J. Shen und L. H. Tsai (2010). "Amyloid-independent mechanisms in Alzheimer's disease pathogenesis." J Neurosci **30**(45): 14946-14954.
- Plant, L. D., J. P. Boyle, I. F. Smith, C. Peers und H. A. Pearson (2003). "The production of amyloid beta peptide is a critical requirement for the viability of central neurons." J Neurosci **23**(13): 5531-5535.
- Pratico, D. (2008). "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal." Trends Pharmacol Sci **29**(12): 609-615.
- Puzzo, D. und O. Arancio (2013). "Amyloid-beta peptide: Dr. Jekyll or Mr. Hyde?" J Alzheimers Dis **33** Suppl 1: S111-120.
- Puzzo, D., L. Privitera, M. Fa, A. Staniszewski, G. Hashimoto, F. Aziz, M. Sakurai, E. M. Ribe, C. M. Troy, M. Mercken, S. S. Jung, A. Palmeri und O. Arancio (2011). "Endogenous amyloid-beta is necessary for hippocampal synaptic plasticity and memory." Ann Neurol **69**(5): 819-830.
- Querfurth, H. W. und F. M. LaFerla (2010). "Alzheimer's disease." N Engl J Med **362**(4): 329-344.
- Rapp, S. R., M. A. Espeland, S. A. Shumaker, V. W. Henderson, R. L. Brunner, J. E. Manson, M. L. Gass, M. L. Stefanick, D. S. Lane, J. Hays, K. C. Johnson, L. H. Coker, M. Dailey, D. Bowen und W. Investigators (2003). "Effect of estrogen plus progestin on global cognitive function in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial." JAMA **289**(20): 2663-2672.
- Ray, W. J., M. Yao, J. Mumm, E. H. Schroeter, P. Saftig, M. Wolfe, D. J. Selkoe, R. Kopan und A. M. Goate (1999). "Cell surface presenilin-1 participates in the gamma-secretase-like proteolysis of Notch." J Biol Chem **274**(51): 36801-36807.
- Ray, W. J., M. Yao, P. Nowotny, J. Mumm, W. Zhang, J. Y. Wu, R. Kopan und A. M. Goate (1999). "Evidence for a physical interaction between presenilin and Notch." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(6): 3263-3268.
- Reddy, P. H. (2006). "Amyloid precursor protein-mediated free radicals and oxidative damage: implications for the development and progression of Alzheimer's disease." J Neurochem **96**(1): 1-13.
- Reddy, P. H. und M. F. Beal (2008). "Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease." Trends Mol Med **14**(2): 45-53.

- Reiman, E. M., K. Chen, X. Liu, D. Bandy, M. Yu, W. Lee, N. Ayutyanont, J. Keppler, S. A. Reeder, J. B. Langbaum, G. E. Alexander, W. E. Klunk, C. A. Mathis, J. C. Price, H. J. Aizenstein, S. T. DeKosky und R. J. Caselli (2009). "Fibrillar amyloid-beta burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer's disease." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(16): 6820-6825.
- Reisberg, B., R. Doody, A. Stoffler, F. Schmitt, S. Ferris, H. J. Mobius und G. Memantine Study (2003). "Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease." N Engl J Med **348**(14): 1333-1341.
- Reitz, C. und R. Mayeux (2014). "Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers." Biochem Pharmacol **88**(4): 640-651.
- Renart, J., J. Reiser und G. R. Stark (1979). "Transfer of proteins from gels to diazobenzoyloxymethyl-paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and antigen structure." Proc Natl Acad Sci U S A **76**(7): 3116-3120.
- Renner, M., P. N. Lacor, P. T. Velasco, J. Xu, A. Contractor, W. L. Klein und A. Triller (2010). "Deleterious effects of amyloid beta oligomers acting as an extracellular scaffold for mGluR5." Neuron **66**(5): 739-754.
- Revtett, T. J., G. B. Baker, J. Jhamandas und S. Kar (2013). "Glutamate system, amyloid ss peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology." J Psychiatry Neurosci **38**(1): 6-23.
- Rissman, R. A., W. W. Poon, M. Blurton-Jones, S. Oddo, R. Torp, M. P. Vitek, F. M. LaFerla, T. T. Rohn und C. W. Cotman (2004). "Caspase-cleavage of tau is an early event in Alzheimer disease tangle pathology." J Clin Invest **114**(1): 121-130.
- Robbins, E. M., R. A. Betensky, S. B. Domnitz, S. M. Purcell, M. Garcia-Alloza, C. Greenberg, G. W. Rebeck, B. T. Hyman, S. M. Greenberg, M. P. Frosch und B. J. Bacskai (2006). "Kinetics of cerebral amyloid angiopathy progression in a transgenic mouse model of Alzheimer disease." J Neurosci **26**(2): 365-371.
- Roberds, S. L., J. Anderson, G. Basi, M. J. Bienkowski, D. G. Branstetter, K. S. Chen, S. B. Freedman, N. L. Frigon, D. Games, K. Hu, K. Johnson-Wood, K. E. Kappenman, T. T. Kawabe, I. Kola, R. Kuehn, M. Lee, W. Liu, R. Motter, N. F. Nichols, M. Power, D. W. Robertson, D. Schenk, M. Schoor, G. M. Shopp, M. E. Shuck, S. Sinha, K. A. Svensson, G. Tatsuno, H. Tintrup, J. Wijsman, S. Wright und L. McConlogue (2001). "BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary beta-secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics." Hum Mol Genet **10**(12): 1317-1324.
- Roberson, E. D., B. Halabisky, J. W. Yoo, J. Yao, J. Chin, F. Yan, T. Wu, P. Hamto, N. Devidze, G. Q. Yu, J. J. Palop, J. L. Noebels und L. Mucke (2011). "Amyloid-beta/Fyn-induced synaptic, network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease." J Neurosci **31**(2): 700-711.
- Roberson, E. D., K. Scarce-Levie, J. J. Palop, F. Yan, I. H. Cheng, T. Wu, H. Gerstein, G. Q. Yu und L. Mucke (2007). "Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model." Science **316**(5825): 750-754.
- Ronicke, R., M. Mikhaylova, S. Ronicke, J. Meinhardt, U. H. Schroder, M. Fandrich, G. Reiser, M. R. Kreutz und K. G. Reymann (2011). "Early neuronal dysfunction by amyloid beta oligomers depends on activation of NR2B-containing NMDA receptors." Neurobiol Aging **32**(12): 2219-2228.
- Rossouw, J. E., G. L. Anderson, R. L. Prentice, A. Z. LaCroix, C. Kooperberg, M. L. Stefanick, R. D. Jackson, S. A. Beresford, B. V. Howard, K. C. Johnson, J. M. Kotchen, J.

- Ockene und I. Writing Group for the Women's Health Initiative (2002). "Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial." *JAMA* **288**(3): 321-333.
- Sadleir, K. R., W. A. Eimer, S. L. Cole und R. Vassar (2015). "A β reduction in BACE1 heterozygous null 5XFAD mice is associated with transgenic APP level." *Molecular Neurodegeneration* **10**(1): 1.
- Saijo, K., B. Winner, C. T. Carson, J. G. Collier, L. Boyer, M. G. Rosenfeld, F. H. Gage und C. K. Glass (2009). "A Nurr1/CoREST pathway in microglia and astrocytes protects dopaminergic neurons from inflammation-induced death." *Cell* **137**(1): 47-59.
- Sambamurti, K., R. Kinsey, B. Maloney, Y. W. Ge und D. K. Lahiri (2004). "Gene structure and organization of the human beta-secretase (BACE) promoter." *FASEB J* **18**(9): 1034-1036.
- Santacruz, K., J. Lewis, T. Spires, J. Paulson, L. Kotilinek, M. Ingelsson, A. Guimaraes, M. DeTure, M. Ramsden, E. McGowan, C. Forster, M. Yue, J. Orne, C. Janus, A. Mariash, M. Kuskowski, B. Hyman, M. Hutton und K. H. Ashe (2005). "Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function." *Science* **309**(5733): 476-481.
- Sastre, M., J. Walter und S. M. Gentleman (2008). "Interactions between APP secretases and inflammatory mediators." *J Neuroinflammation* **5**: 25.
- Sato, T., T. S. Diehl, S. Narayanan, S. Funamoto, Y. Ihara, B. De Strooper, H. Steiner, C. Haass und M. S. Wolfe (2007). "Active gamma-secretase complexes contain only one of each component." *J Biol Chem* **282**(47): 33985-33993.
- Schaeffer, E. L., M. Figueiro und W. F. Gattaz (2011). "Insights into Alzheimer disease pathogenesis from studies in transgenic animal models." *Clinics (Sao Paulo)* **66 Suppl 1**: 45-54.
- Scheuner, D., C. Eckman, M. Jensen, X. Song, M. Citron, N. Suzuki, T. D. Bird, J. Hardy, M. Hutton, W. Kukull, E. Larson, E. Levy-Lahad, M. Viitanen, E. Peskind, P. Poorkaj, G. Schellenberg, R. Tanzi, W. Wasco, L. Lannfelt, D. Selkoe und S. Younkin (1996). "Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease." *Nat Med* **2**(8): 864-870.
- Schmid, S., G. Rammes, M. Blobner, K. Kellermann, S. Bratke, D. Fendl, Z. Kaichuan, G. Schneider und B. Jungwirth (2019). "Cognitive decline in Tg2576 mice shows sex-specific differences and correlates with cerebral amyloid-beta." *Behav Brain Res* **359**: 408-417.
- Schmidt, S. D., M. J. Mazzella, R. A. Nixon und P. M. Mathews (2012). "A β measurement by enzyme-linked immunosorbent assay." *Methods Mol Biol* **849**: 507-527.
- Schmidtke, K. (2017). Degenerative Erkrankungen mit Leitsymptom Demenz. *Neurologie compact*. A. L. Hufschmidt, C. H.; Rauer, S.; Glocker, F. X. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag. **7., überarbeitete Auflage**.
- Schulz, J. B. H., K.; Ludolph, A.C. (2016). Kognitive Einschränkungen und Demenzen. *Neurologie*. W. Hacke. Heidelberg, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. **14., überarbeitete Auflage**.
- Science, A. I. f. B. (2019) "Allen Mouse Brain Atlas - Mouse, P56, Sagittal."
- Scott, E., Q. G. Zhang, R. Wang, R. Vadlamudi und D. Brann (2012). "Estrogen neuroprotection and the critical period hypothesis." *Front Neuroendocrinol* **33**(1): 85-104.
- Selkoe, D. J. (1991). "The molecular pathology of Alzheimer's disease." *Neuron* **6**(4): 487-498.

- Selkoe, D. J. (2001). "Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy." *Physiol Rev* **81**(2): 741-766.
- Selkoe, D. J. (2002). "Deciphering the genesis and fate of amyloid beta-protein yields novel therapies for Alzheimer disease." *J Clin Invest* **110**(10): 1375-1381.
- Sesser, F. K. (2018). Die Bedeutung der NMDA-Rezeptoruntereinheit NR2B in der Vermittlung synaptotoxischer Effekte verschiedener Amyloid β -Arten, Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät
- Seubert, P., C. Vigo-Pelfrey, F. Esch, M. Lee, H. Dovey, D. Davis, S. Sinha, M. Schlossmacher, J. Whaley, C. Swindlehurst und et al. (1992). "Isolation and quantification of soluble Alzheimer's beta-peptide from biological fluids." *Nature* **359**(6393): 325-327.
- Shaffer, L. M., M. D. Dority, R. Gupta-Bansal, R. C. Frederickson, S. G. Younkin und K. R. Brunden (1995). "Amyloid beta protein (A beta) removal by neuroglial cells in culture." *Neurobiol Aging* **16**(5): 737-745.
- Shah, K. und P. Maghsoudlou (2016). "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics." *Br J Hosp Med (Lond)* **77**(7): C98-101.
- Shankar, G. M., B. L. Bloodgood, M. Townsend, D. M. Walsh, D. J. Selkoe und B. L. Sabatini (2007). "Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway." *J Neurosci* **27**(11): 2866-2875.
- Shankar, G. M., S. Li, T. H. Mehta, A. Garcia-Munoz, N. E. Shepardson, I. Smith, F. M. Brett, M. A. Farrell, M. J. Rowan, C. A. Lemere, C. M. Regan, D. M. Walsh, B. L. Sabatini und D. J. Selkoe (2008). "Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory." *Nat Med* **14**(8): 837-842.
- Shankar, G. M. und D. M. Walsh (2009). "Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and A β ." *Mol Neurodegener* **4**: 48.
- Sherrington, R., E. I. Rogaeve, Y. Liang, E. A. Rogaeve, G. Levesque, M. Ikeda, H. Chi, C. Lin, G. Li, K. Holman, T. Tsuda, L. Mar, J. F. Foncin, A. C. Bruni, M. P. Montesi, S. Sorbi, I. Rainero, L. Pinessi, L. Nee, I. Chumakov, D. Pollen, A. Brookes, P. Sanseau, R. J. Polinsky, W. Wasco, H. A. Da Silva, J. L. Haines, M. A. Pericak-Vance, R. E. Tanzi, A. D. Roses, P. E. Fraser, J. M. Rommens und P. H. St George-Hyslop (1995). "Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease." *Nature* **375**(6534): 754-760.
- Sherwin, B. B. (2007). "The critical period hypothesis: can it explain discrepancies in the oestrogen-cognition literature?" *J Neuroendocrinol* **19**(2): 77-81.
- Shumaker, S. A., C. Legault, S. R. Rapp, L. Thal, R. B. Wallace, J. K. Ockene, S. L. Hendrix, B. N. Jones, 3rd, A. R. Assaf, R. D. Jackson, J. M. Kotchen, S. Wassertheil-Smoller, J. Wactawski-Wende und W. Investigators (2003). "Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial." *JAMA* **289**(20): 2651-2662.
- Sisodia, S. S. (1992). "Beta-amyloid precursor protein cleavage by a membrane-bound protease." *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**(13): 6075-6079.
- Sly, L. M., R. F. Krzesicki, J. R. Brashler, A. E. Buhl, D. D. McKinley, D. B. Carter und J. E. Chin (2001). "Endogenous brain cytokine mRNA and inflammatory responses to lipopolysaccharide are elevated in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease." *Brain Res Bull* **56**(6): 581-588.

- Smith, M. A., K. Hirai, K. Hsiao, M. A. Pappolla, P. L. Harris, S. L. Siedlak, M. Tabaton und G. Perry (1998). "Amyloid-beta deposition in Alzheimer transgenic mice is associated with oxidative stress." J Neurochem **70**(5): 2212-2215.
- Smith, M. A., G. Perry, P. L. Richey, L. M. Sayre, V. E. Anderson, M. F. Beal und N. Kowall (1996). "Oxidative damage in Alzheimer's." Nature **382**(6587): 120-121.
- Smith, M. A., C. A. Rottkamp, A. Nunomura, A. K. Raina und G. Perry (2000). "Oxidative stress in Alzheimer's disease." Biochim Biophys Acta **1502**(1): 139-144.
- Snyder, E. M., Y. Nong, C. G. Almeida, S. Paul, T. Moran, E. Y. Choi, A. C. Nairn, M. W. Salter, P. J. Lombroso, G. K. Gouras und P. Greengard (2005). "Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta." Nat Neurosci **8**(8): 1051-1058.
- Solans, A., X. Estivill und S. de La Luna (2000). "A new aspartyl protease on 21q22.3, BACE2, is highly similar to Alzheimer's amyloid precursor protein beta-secretase." Cytogenet Cell Genet **89**(3-4): 177-184.
- Soscia, S. J., J. E. Kirby, K. J. Washicosky, S. M. Tucker, M. Ingelsson, B. Hyman, M. A. Burton, L. E. Goldstein, S. Duong, R. E. Tanzi und R. D. Moir (2010). "The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide." PLoS One **5**(3): e9505.
- Squire, L. R. und S. M. Zola (1996). "Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(24): 13515-13522.
- Steiner, H., R. Fluhrer und C. Haass (2008). "Intramembrane proteolysis by gamma-secretase." J Biol Chem **283**(44): 29627-29631.
- Stern, Y. (2006). "Cognitive reserve and Alzheimer disease." Alzheimer Dis Assoc Disord **20**(2): 112-117.
- Stern, Y. (2012). "Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease." Lancet Neurol **11**(11): 1006-1012.
- Stewart, C. R., L. M. Stuart, K. Wilkinson, J. M. van Gils, J. Deng, A. Halle, K. J. Rayner, L. Boyer, R. Zhong, W. A. Frazier, A. Lacy-Hulbert, J. El Khoury, D. T. Golenbock und K. J. Moore (2010). "CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer." Nat Immunol **11**(2): 155-161.
- Stewart, S., F. Cacucci und C. Lever (2011). "Which memory task for my mouse? A systematic review of spatial memory performance in the Tg2576 Alzheimer's mouse model." J Alzheimers Dis **26**(1): 105-126.
- Stewart, W. F., C. Kawas, M. Corrada und E. J. Metter (1997). "Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use." Neurology **48**(3): 626-632.
- Suzuki, N., T. T. Cheung, X. D. Cai, A. Odaka, L. Otvos, Jr., C. Eckman, T. E. Golde und S. G. Younkin (1994). "An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants." Science **264**(5163): 1336-1340.
- Sydow, A., A. Van der Jeugd, F. Zheng, T. Ahmed, D. Balschun, O. Petrova, D. Drexler, L. Zhou, G. Rune, E. Mandelkow, R. D'Hooge, C. Alzheimer und E. M. Mandelkow (2011). "Tau-induced defects in synaptic plasticity, learning, and memory are reversible in transgenic mice after switching off the toxic Tau mutant." J Neurosci **31**(7): 2511-2525.
- Sze, C., H. Bi, B. K. Kleinschmidt-DeMasters, C. M. Filley und L. J. Martin (2001). "N-Methyl-D-aspartate receptor subunit proteins and their phosphorylation status are altered selectively in Alzheimer's disease." J Neurol Sci **182**(2): 151-159.

- Takagi, N., S. Besshoh, T. Marunouchi, S. Takeo und K. Tanonaka (2012). "Metabotropic glutamate receptor 5 activation enhances tyrosine phosphorylation of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor and NMDA-induced cell death in hippocampal cultured neurons." Biol Pharm Bull **35**(12): 2224-2229.
- Takuma, H., T. Tomiyama, K. Kuida und H. Mori (2004). "Amyloid beta peptide-induced cerebral neuronal loss is mediated by caspase-3 in vivo." J Neuropathol Exp Neurol **63**(3): 255-261.
- Tamagno, E., M. Guglielmotto, M. Aragno, R. Borghi, R. Autelli, L. Giliberto, G. Muraca, O. Danni, X. Zhu, M. A. Smith, G. Perry, D. G. Jo, M. P. Mattson und M. Tabaton (2008). "Oxidative stress activates a positive feedback between the gamma- and beta-secretase cleavages of the beta-amyloid precursor protein." J Neurochem **104**(3): 683-695.
- Tanila, H. (2012). "Wading pools, fading memories-place navigation in transgenic mouse models of Alzheimer's disease." Front Aging Neurosci **4**: 11.
- Tariot, P. N., M. R. Farlow, G. T. Grossberg, S. M. Graham, S. McDonald, I. Gergel und G. Memantine Study (2004). "Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial." JAMA **291**(3): 317-324.
- Terry, R. D., E. Masliah, D. P. Salmon, N. Butters, R. DeTeresa, R. Hill, L. A. Hansen und R. Katzman (1991). "Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment." Ann Neurol **30**(4): 572-580.
- Tighe, P. J., R. R. Ryder, I. Todd und L. C. Fairclough (2015). "ELISA in the multiplex era: potentials and pitfalls." Proteomics Clin Appl **9**(3-4): 406-422.
- Tomic, J. L., A. Pensalfini, E. Head und C. G. Glabe (2009). "Soluble fibrillar oligomer levels are elevated in Alzheimer's disease brain and correlate with cognitive dysfunction." Neurobiol Dis **35**(3): 352-358.
- Towbin, H., T. Staehelin und J. Gordon (1979). "Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications." Proc Natl Acad Sci U S A **76**(9): 4350-4354.
- Um, J. W., A. C. Kaufman, M. Kostylev, J. K. Heiss, M. Stagi, H. Takahashi, M. E. Kerrisk, A. Vortmeyer, T. Wisniewski, A. J. Koleske, E. C. Gunther, H. B. Nygaard und S. M. Strittmatter (2013). "Metabotropic glutamate receptor 5 is a coreceptor for Alzheimer abeta oligomer bound to cellular prion protein." Neuron **79**(5): 887-902.
- Vallet, P. G., R. Guntern, P. R. Hof, J. Golaz, A. Delacourte, N. K. Robakis und C. Bouras (1992). "A comparative study of histological and immunohistochemical methods for neurofibrillary tangles and senile plaques in Alzheimer's disease." Acta Neuropathol **83**(2): 170-178.
- Van Weemen, B. K. und A. H. Schuurs (1971). "Immunoassay using antigen-enzyme conjugates." FEBS Lett **15**(3): 232-236.
- Vassar, R. (2004). "BACE1: the beta-secretase enzyme in Alzheimer's disease." J Mol Neurosci **23**(1-2): 105-114.
- Vassar, R., B. D. Bennett, S. Babu-Khan, S. Kahn, E. A. Mendiaz, P. Denis, D. B. Teplow, S. Ross, P. Amarante, R. Loeloff, Y. Luo, S. Fisher, J. Fuller, S. Edenson, J. Lile, M. A. Jarosinski, A. L. Biere, E. Curran, T. Burgess, J. C. Louis, F. Collins, J. Treanor, G. Rogers und M. Citron (1999). "Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE." Science **286**(5440): 735-741.

- Velez-Pardo, C., G. G. Ospina und M. Jimenez del Rio (2002). "Abeta[25-35] peptide and iron promote apoptosis in lymphocytes by an oxidative stress mechanism: involvement of H₂O₂, caspase-3, NF-kappaB, p53 and c-Jun." Neurotoxicology **23**(3): 351-365.
- Vest, R. S. und C. J. Pike (2013). "Gender, sex steroid hormones, and Alzheimer's disease." Horm Behav **63**(2): 301-307.
- Vlad, S. C., D. R. Miller, N. W. Kowall und D. T. Felson (2008). "Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease." Neurology **70**(19): 1672-1677.
- Walker, L. C. und M. Jucker (2015). "Neurodegenerative diseases: expanding the prion concept." Annu Rev Neurosci **38**: 87-103.
- Walsh, D. M., I. Klyubin, G. M. Shankar, M. Townsend, J. V. Fadeeva, V. Betts, M. B. Podlisny, J. P. Cleary, K. H. Ashe, M. J. Rowan und D. J. Selkoe (2005). "The role of cell-derived oligomers of Abeta in Alzheimer's disease and avenues for therapeutic intervention." Biochem Soc Trans **33**(Pt 5): 1087-1090.
- Walsh, D. M. und D. J. Selkoe (2004). "Oligomers on the brain: the emerging role of soluble protein aggregates in neurodegeneration." Protein Pept Lett **11**(3): 213-228.
- Walsh, D. M. und D. J. Selkoe (2007). "A beta oligomers - a decade of discovery." J Neurochem **101**(5): 1172-1184.
- Wang, H. W., J. F. Pasternak, H. Kuo, H. Ristic, M. P. Lambert, B. Chromy, K. L. Viola, W. L. Klein, W. B. Stine, G. A. Krafft und B. L. Trommer (2002). "Soluble oligomers of beta amyloid (1-42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus." Brain Res **924**(2): 133-140.
- Wang, J., H. Tanila, J. Puolivali, I. Kadish und T. van Groen (2003). "Gender differences in the amount and deposition of amyloidbeta in APPswe and PS1 double transgenic mice." Neurobiol Dis **14**(3): 318-327.
- Wang, J. Z., I. Grundke-Iqbal und K. Iqbal (2007). "Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration." Eur J Neurosci **25**(1): 59-68.
- Wang, Q., D. M. Walsh, M. J. Rowan, D. J. Selkoe und R. Anwyl (2004). "Block of long-term potentiation by naturally secreted and synthetic amyloid beta-peptide in hippocampal slices is mediated via activation of the kinases c-Jun N-terminal kinase, cyclin-dependent kinase 5, and p38 mitogen-activated protein kinase as well as metabotropic glutamate receptor type 5." J Neurosci **24**(13): 3370-3378.
- Weaver, C. E., Jr., M. Park-Chung, T. T. Gibbs und D. H. Farb (1997). "17beta-Estradiol protects against NMDA-induced excitotoxicity by direct inhibition of NMDA receptors." Brain Res **761**(2): 338-341.
- Webster, S. J., A. D. Bachstetter, P. T. Nelson, F. A. Schmitt und L. J. Van Eldik (2014). "Using mice to model Alzheimer's dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models." Front Genet **5**: 88.
- Weingarten, M. D., A. H. Lockwood, S. Y. Hwo und M. W. Kirschner (1975). "A protein factor essential for microtubule assembly." Proc Natl Acad Sci U S A **72**(5): 1858-1862.
- Westerman, M. A., D. Cooper-Blacketer, A. Mariash, L. Kotilinek, T. Kawarabayashi, L. H. Younkin, G. A. Carlson, S. G. Younkin und K. H. Ashe (2002). "The relationship between Abeta and memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease." J Neurosci **22**(5): 1858-1867.
- Whitmer, R. A., C. P. Quesenberry, J. Zhou und K. Yaffe (2011). "Timing of hormone therapy and dementia: the critical window theory revisited." Ann Neurol **69**(1): 163-169.

- Wisniewski, H. M., G. Y. Wen und K. S. Kim (1989). "Comparison of four staining methods on the detection of neuritic plaques." Acta Neuropathol **78**(1): 22-27.
- Wyss-Coray, T. und L. Mucke (2002). "Inflammation in neurodegenerative disease--a double-edged sword." Neuron **35**(3): 419-432.
- Xu, H., G. K. Gouras, J. P. Greenfield, B. Vincent, J. Naslund, L. Mazzarelli, G. Fried, J. N. Jovanovic, M. Seeger, N. R. Relkin, F. Liao, F. Checler, J. D. Buxbaum, B. T. Chait, G. Thinakaran, S. S. Sisodia, R. Wang, P. Greengard und S. Gandy (1998). "Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer beta-amyloid peptides." Nat Med **4**(4): 447-451.
- Xu, W., J. T. Yu, M. S. Tan und L. Tan (2015). "Cognitive reserve and Alzheimer's disease." Mol Neurobiol **51**(1): 187-208.
- Yamamoto, M., T. Kiyota, M. Horiba, J. L. Buescher, S. M. Walsh, H. E. Gendelman und T. Ikezu (2007). "Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha regulate amyloid-beta plaque deposition and beta-secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice." Am J Pathol **170**(2): 680-692.
- Yan, R., M. J. Bienkowski, M. E. Shuck, H. Miao, M. C. Tory, A. M. Pauley, J. R. Brashier, N. C. Stratman, W. R. Mathews, A. E. Buhl, D. B. Carter, A. G. Tomasselli, L. A. Parodi, R. L. Heinrikson und M. E. Gurney (1999). "Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease beta-secretase activity." Nature **402**(6761): 533-537.
- Yan, S. D., X. Chen, J. Fu, M. Chen, H. Zhu, A. Roher, T. Slattery, L. Zhao, M. Nagashima, J. Morser, A. Migheli, P. Nawroth, D. Stern und A. M. Schmidt (1996). "RAGE and amyloid-beta peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease." Nature **382**(6593): 685-691.
- Yan, S. D., S. F. Yan, X. Chen, J. Fu, M. Chen, P. Kuppusamy, M. A. Smith, G. Perry, G. C. Godman, P. Nawroth und et al. (1995). "Non-enzymatically glycosylated tau in Alzheimer's disease induces neuronal oxidant stress resulting in cytokine gene expression and release of amyloid beta-peptide." Nat Med **1**(7): 693-699.
- Yu, G., M. Nishimura, S. Arawaka, D. Levitan, L. Zhang, A. Tandon, Y. Q. Song, E. Rogava, F. Chen, T. Kawarai, A. Supala, L. Levesque, H. Yu, D. S. Yang, E. Holmes, P. Milman, Y. Liang, D. M. Zhang, D. H. Xu, C. Sato, E. Rogava, M. Smith, C. Janus, Y. Zhang, R. Aebersold, L. S. Farrer, S. Sorbi, A. Bruni, P. Fraser und P. St George-Hyslop (2000). "Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and betaAPP processing." Nature **407**(6800): 48-54.
- Zandi, P. P., M. C. Carlson, B. L. Plassman, K. A. Welsh-Bohmer, L. S. Mayer, D. C. Steffens, J. C. Breitner und I. Cache County Memory Study (2002). "Hormone replacement therapy and incidence of Alzheimer disease in older women: the Cache County Study." JAMA **288**(17): 2123-2129.
- Zhang, X. M. und J. H. Luo (2013). "GluN2A versus GluN2B: twins, but quite different." Neurosci Bull **29**(6): 761-772.

11. Danksagung

An erster Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. Bettina Jungwirth, Herrn Professor Dr. Eberhard Kochs und Herrn Professor Dr. Gerhard Schneider für das Überlassen des Themas und die Möglichkeit, diese Studie durchzuführen, danken.

Mein besonderer Dank geht an meinen Betreuer Dr. med. Sebastian Schmid, für seine langjährige, ausgezeichnete wissenschaftliche und persönliche Betreuung, währenddessen er mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Großer Dank geht ebenfalls an Dr. med. Diana Fendl für die Vorarbeit in ihrer eigenen Dissertation, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Herzlich danken möchte ich Dr. med. vet. Kristine Kellermann, Dr. med. vet. Claudia Kopp, Dr. med. vet. Franziska Seeser, Nina Bayer, Tanja Neumüller, Stefan Schwerin und vor allem Andreas Blaschke. Ohne ihre lehrreiche Einarbeitung in die verschiedenen Methoden und Techniken und die erfahrene Unterstützung bei der Durchführung der Versuche, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Herrn Kaichuan Zhu und Maximilian Musiol möchte ich für die großartige Zusammenarbeit und Mitwirkung bei den Plaque-load-Versuchen danken.

Ebenfalls möchte ich meinen zahlreichen Korrekturlesern für ihre Mühen danken.

An dieser Stelle möchte ich darüber hinaus den Mäusen gedenken, die für die Ergebnisse ihr Leben gelassen haben.

Mein tiefster Dank gilt meinen Eltern, Großeltern und meinem Bruder Christian, die mich auf jedem Schritt meines Weges unterstützt und mir die Möglichkeit und den Rückhalt für mein Studium gegeben haben. Ohne sie wäre mein Werdegang nicht realisierbar gewesen. Zuletzt möchte ich Nele danken, für ihre liebevolle Unterstützung und geduldige Nachsicht mit mir im zurückliegenden Jahr.