

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
(Prof. Dr. med. J. Wiltfang)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Der Einfluss von $A\beta_{4-42}$ auf die Kognition
und die Anwendung von Suchstrategien
im Morris Water Maze im Tg4-42-
Mausmodell**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Nadine Curdt

aus

Mollenfelde

Göttingen 2023

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuer/in: Prof. Dr. rer. nat. T. A. Bayer

Ko-Betreuer/in: Prof. Dr. med. C. von Arnim

Prüfungskommission

Referent/in: Prof. Dr. T. A. Bayer

Korreferent/in: Prof. Dr. C. von Arnim

Drittreferent/in: Prof. Dr. T. Meyer

Datum der mündlichen Prüfung: 04.04.2024

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Der Einfluss von $A\beta_{4-42}$ auf die Kognition und die Anwendung von Suchstrategien im Morris Water Maze im Tg4-42-Mausmodell" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den
(Unterschrift)

Die Daten, auf denen die vorliegende Arbeit basiert, wurden teilweise publiziert:

Curdt N, Schmitt FW, Bouter C, Iseni T, Weile HC, Altunok B, Beindorff N, Bayer TA, Cooke MB, Bouter Y (2022): Search strategy analysis of Tg4-42 Alzheimer Mice in the Morris Water Maze reveals early spatial navigation deficits. *Sci Rep* 12, 5451

Sánchez CQ, Schmitt FW, **Curdt N**, Westhoff AC, Bänfer IWH, Bayer TA, Bouter Y (2023): Search Strategy Analysis of 5xFAD Alzheimer Mice in the Morris Water Maze Reveals Sex- and Age-Specific Spatial Navigation Deficits. *Biomedicines* 11, 599

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis.....	6
1 Einleitung	1
1.1 Epidemiologie.....	1
1.2 Was ist die Alzheimer-Demenz?.....	1
1.2.1 Symptomatik	1
1.2.2 Neuropathologie.....	3
1.3 Diagnostik.....	5
1.3.1 Klinische Diagnostik.....	5
1.3.2 Bildgebende Verfahren.....	6
1.3.3 Liquor- und Blut- Diagnostik.....	7
1.4 Therapie	7
1.5 Genetik und Risikofaktoren.....	8
1.5.1 Allgemeine Risikofaktoren.....	8
1.5.2 Genetik.....	8
1.6 Der Weg vom APP zu A β	10
1.6.1 Nicht-amyloidogener Weg.....	10
1.6.2 Amyloidogener Weg	11
1.6.3 Amyloid-Kaskaden-Hypothese	12
1.6.4 A β -Spezies und Oligomere	13
1.6.5 Aggregationsverhalten	15
1.6.6 Amyloid β 4-42	16
1.7 Mausmodelle	16
1.7.1 Tg4-42 Mausmodell	16
1.7.2 Vorzüge des Tg4-42 Mausmodells	18
1.8 Die Ziele dieser Arbeit	18
2 Materialien und Methoden	19
2.1 Materialien	19
2.1.1 Chemikalien, Reagenzien und Kits.....	19
2.1.2 Antikörper	21
2.1.3 Elektronische Geräte und Programme	21
2.1.4 Weitere verwendete Materialien.....	23
2.2 Tiere.....	24
2.2.1 Haltungsbedingungen	24
2.2.2 Genetischer Hintergrund des Tg4-42-Mausmodells	24
2.3 Verhaltensexperimente	24
2.3.1 Elevated Plus Maze (erhöhtes Pluslabyrinth) (EPM)	25

2.3.2	Open Field.....	25
2.3.3	Cross Maze (kreuzförmiges Labyrinth).....	26
2.3.4	Balance Beam (Balance Balken) (BB).....	27
2.3.5	Morris Water Maze	27
2.4	Analyse der Suchstrategien im Morris Water Maze	29
2.4.1	Analyse-Parameter für Pathfinder	30
2.4.2	Durchführung der Analyse mit Pathfinder	30
2.4.3	Definitionen der Suchstrategien.....	32
2.4.4	Erstellung eines Punktesystems für die Suchstrategien.....	34
2.5	Tötung der Mäuse und Entnahme des Gewebes	34
2.5.1	Perfusion.....	34
2.5.2	Zervikale Dislokation	34
2.5.3	Entnahme des Gehirns.....	35
2.6	Nachweis des Transgens	35
2.6.1	DNA-Isolierung aus Schwanzbiopsien.....	35
2.6.2	Messen der DNA Konzentrationen	36
2.6.3	Amplifizierung durch Polymerase-Kettenreaktion	36
2.6.4	Gel-Elektrophorese.....	36
2.7	Anfertigung und Färbung der Hirnschnitte	37
2.7.1	Anfertigung der Hirnschnitte mit dem Mikrotom	37
2.7.2	Anfertigung der Hirnschnitte mit dem Kryostat.....	37
2.7.3	DAB-Färbung von Paraffinschnitten.....	38
2.7.4	Färbung mit Kresylviolett.....	40
2.8	Quantifizierung der Nervenzellen in CA1.....	40
2.9	Statistik.....	42
3	Ergebnisse.....	43
3.1	Nachweis des Transgens	43
3.2	Hippokampale A β ₄₋₄₂ -Expression in Tg4-42-Mäusen.....	43
3.3	Hippokampaler Nervenzellverlust bildet ein Plateau ab sieben Monaten	44
3.4	Die Auswirkung des A β ₄₋₄₂ auf Angst und Motorik.....	45
3.4.1	Trotz eines reduzierten Angstempfindens im Elevated Plus Maze zeigten sich keine testübergreifenden Veränderungen im Angstverhalten der Tg4-42-Mauslinie	45
3.4.2	Motorische Defizite bei 12-monatigen Tg4-42-Mäusen im Balance Beam	47
3.4.3	Intaktes Arbeitsgedächtnis der Tg4-42-Mäuse auch mit 12 Monaten	48
3.5	Der Einfluss der A β ₄₋₄₂ -Expression auf das räumliche Bezugsgedächtnis im Tg4-42-Mausmodell.....	49
3.5.1	Keine allgemeinen Einschränkungen in Motorik oder Sehvermögen während des <i>cued trainings</i>	49
3.5.2	Verlängerte Fluchtzeiten und eine reduzierte Zielquadrantenpräferenz bei sieben- und 12-monatigen Tg4-42-Mäusen	51
3.5.3	Tg4-42-Mäuse zeigten schon mit drei Monaten vermehrt Hippokampus-unabhängige Suchstrategien	54
4	Diskussion.....	61

4.1	A β_{4-42} -Expression führt zu altersabhängigem Nervenzellverlust in CA1 im Tg4-42-Mausmodell	61
4.2	Tg4-42-Mäuse zeigen keine testübergreifenden Veränderungen im Angstverhalten.....	63
4.3	A β_{4-42} -Expression in Tg4-42-Mäusen führt zu altersabhängigen motorischen Defiziten	67
4.4	Bereits dreimonatige Tg4-42-Mäuse zeigen Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis während des Morris Water Maze Tests	69
4.5	Tg4-42-Mäuse weisen keine Defizite im Hippokampus-abhängigen räumlichen Arbeitsgedächtnis auf.....	75
4.6	Ausblick	78
5	Zusammenfassung.....	80
6	Literaturverzeichnis	82

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Egozentrisches und allozentrisches Bezugssystem.....	3
Abbildung 2: Die Entstehung von A β	12
Abbildung 3: N-Trunkierungen von A β	14
Abbildung 4: Oligomerisation von A β	15
Abbildung 5: Expression des A β_{4-42} im Tg4-42-Mausmodell.....	17
Abbildung 6: Elevated Plus Maze und Open Field (offenes Feldlabyrinth) (OF).....	25
Abbildung 7: Cross Maze.....	26
Abbildung 8: Balance Beam.....	27
Abbildung 9: Morris Water Maze.....	29
Abbildung 10: Definition der Analyse-Parameter.....	30
Abbildung 11: Die Analyseschritte mit Pathfinder.....	31
Abbildung 12: Hippokampus-abhängige und -unabhängige Suchstrategien.....	33
Abbildung 13: Präparation des Hirngewebes.....	38
Abbildung 14: Zählrahmen und Koronarschnitte für die Design-basierte Stereologie.....	42
Abbildung 15: Nachweis des Transgens der Tg4-42-Mauslinie.....	43
Abbildung 16: Hippokampale A β -Expression in Tg4-42-Mäusen.....	44
Abbildung 17: Nervenzellverlust in CA1.....	45
Abbildung 18: Tg4-42-Mäuse zeigten ein reduziertes Angstempfinden im EPM.....	46
Abbildung 19: Im OF fielen keine Veränderungen im Angstverhalten der Tg4-42-Mäuse auf.....	47
Abbildung 20: Erste motorische Defizite mit 12 Monaten im BB.....	48
Abbildung 21: Keine Defizite des Arbeitsgedächtnisses im Cross Maze.....	49
Abbildung 22: Alle Gruppen erreichten eine Abnahme der mittleren Fluchtzeit im <i>cued training</i>	51
Abbildung 23: Verlängerte Fluchtzeiten mit sieben und 12 Monaten im AT.....	53
Abbildung 24: Abnahme der Zielquadrantenpräferenz ab sieben Monaten im PT.....	54
Abbildung 25: Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis anhand der Suchstrategien schon bei dreimonatigen Tg4-42-Mäusen erkennbar.....	58
Abbildung 26: Tg4-42-Mäuse erreichten in jedem getesteten Alter eine signifikant niedrigere Punktzahl als die WT.....	59
Abbildung 27: Alle Tg4-42-Mäuse zeigten signifikant häufiger räumlich unspezifische Suchstrategien.....	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Chemikalien, Reagenzien und Kits	19
Tabelle 2: Primäre Antikörper	21
Tabelle 3: Sekundäre Antikörper.....	21
Tabelle 4: Elektronische Geräte	21
Tabelle 5: Programme.....	22
Tabelle 6: Weitere verwendete Materialien.....	23
Tabelle 7: Start- und Plattformpositionen beim MWM.....	29
Tabelle 8: Parameter zur Definition der Suchstrategien.....	33
Tabelle 9: PCR-Protokoll zur Nukleinsäuren-Amplifizierung.....	36
Tabelle 10: Formeln zu Berechnung der Zellzahl.....	41
Tabelle 11: Prozentangaben der Suchstrategien im <i>acquisition training</i>	57

Abkürzungsverzeichnis

[¹⁸F]FDG-PET	Fluordesoxyglucose-Positronen-Emissions-Tomographie
Aβ	Amyloid β
Aβ₄₋₄₂	Amyloid β , welches an vierter Stelle des N-Terminus trunkiert wurde
AchE	Acetylcholin-Esterase
ADAM	<i>a disintegrin and metalloproteinase</i>
AICD	<i>APP- intracellular-domain</i> (intrazelluläre APP-Domäne)
ApoE	Apolipoprotein E
APP	<i>amyloid-precursor-protein</i> (Amyloid-Vorläuferprotein)
AT	<i>acquisition training</i> (Erwerbstraining)
BACE	<i>β-site APP-cleaving enzymes</i>
BB	Balance Beam (Balance Balken)
bp	Basenpaare
CA1	<i>cornu ammonis-1</i> (Sektor 1 des Ammonshorns)
CT	Computertomographie
CTF	C-terminales Fragment
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
DGPPN	Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde
dH₂O	destilliertes Wasser
DNA	<i>desoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EPM	Elevated Plus Maze (erhöhtes Pluslabyrinth)
FAD	familiäre Alzheimer-Demenz
FCS	<i>fetal calf serum</i> (fetales Kälberserum)
FDA	Food and Drug Administration
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Associations
GFAP	<i>glial fibrillary acidic protein</i> (saures Gliafaserprotein)
GQ	gegenüberliegender Quadrant
GV-SOLAS	Gesellschaft für Versuchstierkunde-Society of Laboratory Animal Science
ICD	International Statistical Classification of Diseases
IPF	idealer Pfadfehler
LQ	linker Quadrant
MCI	<i>mild cognitive impairment</i> (milde kognitive Beeinträchtigung)
MMST	Mini-Mental-Status-Test
MRT	Magnetresonanztomographie
MWM	Morris Water Maze (Morris-Wasserlabyrinth)
NEP	Neprelysin
Nfl	<i>neurofilament light chains</i> (Neurofilament-Leichtketten)
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
OF	Open Field (offenes Feldlabyrinth)
P	phosphoryliert
PBS	<i>phosphate-buffered saline</i> (Phosphat-gepufferte Salzlösung)
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerase Kettenreaktion)
PFA	Paraformaldehyd
PS	Präsenilin
PSEN	<i>presenilin enhancer</i>

PT	<i>probe trial</i> (Prüfungsdurchlauf)
RF	Richtungsfehler
RQ	rechter Quadrant
SAD	sporadische Alzheimer-Demenz
SDS	<i>sodium dodecyl sulfate</i> (Natriumdodecylsulfat)
TBE	Tris-Borat-EDTA
Thy	Thyrotropin
TRH	<i>thyrotropin releasing hormone</i> (Thyreoliberin)
UMG	Universitätsmedizin Göttingen
WHO	World Health Organization
WK	Winkelkorridor
WT	Wildtyp
ZNS	zentrales Nervensystem
ZQ	Zielquadrant
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung

1 Einleitung

1907 beschrieb der Psychiater und Neuropathologe Alois Alzheimer am Fall der Auguste Deter eine „eigenartige Erkrankung der Hirnrinde“ (Alzheimer 1907). Er berichtete über eine desorientierte Patientin mit zunehmender Gedächtnisschwäche und anderen psychiatrischen Auffälligkeiten. *Post mortem* (nach dem Tod) stellte er bei ihr eine Atrophie des Hirngewebes und neurofibrilläre Veränderungen fest. Einige Jahre später wurde diese Erkrankung dann nach ihm benannt. Dies war der Beginn der Alzheimer-Demenz-Forschung.

1.1 Epidemiologie

Das Durchschnittsalter unserer Gesellschaft nimmt stetig zu (Statistisches Bundesamt 2019). Wegen des demographischen Wandels und des medizinischen Fortschrittes steigt nicht nur die Lebenserwartung, sondern damit einhergehend auch die Prävalenz demenzieller Erkrankungen. Während 2010 laut World Health Organization (WHO) noch 35,6 Millionen Menschen weltweit an Demenz erkrankt waren (Duthey 2004), sind derzeit mehr als 55 Millionen Patient*innen betroffen (Gauthier et al. 2022). Prognostisch wird weltweit von fortlaufend steigenden Zahlen bis zu 139 Millionen Fällen im Jahr 2050 ausgegangen (Gauthier et al. 2022). Die Alzheimer-Krankheit bildet davon mit 60-80% den größten Anteil (Alzheimer's Assoziation Report 2021).

1.2 Was ist die Alzheimer-Demenz?

Die Alzheimer-Krankheit ist nach Definition der International Statistical Classification of Diseases (ICD)-10 eine neurodegenerative Erkrankung, die mit irreversiblen und progredienten kognitiven Störungen einhergeht. Histopathologisch zeichnet sich diese Form der Demenz typischerweise durch extrazelluläre Amyloid β ($A\beta$)-Plaques und intrazelluläre Tau-Fibrillen aus. Klinisch können zwei Formen unterschieden werden. Die präsenile Form ist durch einen Erkrankungsbeginn vor dem 65. Lebensjahr definiert. Treten die Symptome erst in einem späteren Alter auf, handelt es sich um die senile Form. Außerdem kann eine Einteilung in die familiäre Alzheimer-Demenz (FAD) und die sporadische Alzheimer-Demenz (SAD) vorgenommen werden (Campion et al. 1999; Armstrong 2019).

1.2.1 Symptomatik

Zu Beginn der Alzheimer-Erkrankung ist der Verlauf oft schleichend, gefolgt von zunehmendem Krankheitsprogress in den späteren Phasen. Anfangs besteht ein *mild*

cognitive impairment (milde kognitive Beeinträchtigung) (MCI). Dabei sind vor allem Gedächtnis- und Exekutivfunktionen, Aufmerksamkeit, Sprache und die visuell räumliche Wahrnehmung betroffen (Albert et al. 2011). Neben den kognitiven Veränderungen kommt es häufig auch zu Störungen des Affektes und vegetativer Funktionen, wie dem olfaktorischen System (Alves et al. 2014; Ma 2020).

Da sich regelmäßig bereits in frühen Erkrankungsstadien Beeinträchtigungen des Hippokampus-abhängigen räumlichen Bezugsgedächtnisses zeigen, liegt ein besonderer Fokus der derzeitigen Forschung außerdem auf der räumlichen Orientierungsfähigkeit von MCI-Patient*innen (Hort et al. 2007; Hashimoto et al. 2020). Dabei kommt es häufig zuerst zu Defiziten in allozentrischen Referenzsystemen, also der kartenähnlichen Navigation, während die Ich-zentrierte egozentrische Orientierungsfähigkeit noch intakt bleibt (Abbildung 1) (Coughlan et al. 2018; Hashimoto et al. 2020).

Zumeist schleichend gehen etwa 10% der MCI-Fälle in eine manifeste Alzheimer-Demenz über (Grundman et al. 2004; Mitchell und Shiri-Feshki 2009). Dann kommt es zu einer Zunahme der Gedächtnisstörungen, die im Verlauf auch das Alltagsgedächtnis und bereits erlernte Fähigkeiten betreffen. Dies führt zu Apraxie, Akalkulie und Alexie. Ebenso kommt es zu Defiziten in der Kommunikation, was sich in Wortfindungsstörungen mit semantischen Paraphrasien äußern kann. Häufig werden außerdem Persönlichkeitsveränderungen bei Alzheimer-Patient*innen beobachtet. Die Desorientierung betrifft in diesem Stadium neben dem Ort und der Zeit ebenfalls die Situation und auch die eigene Person. Darüber hinaus kann es zu Halluzinationen und Wahnvorstellungen kommen. Zu den neurovegetativen Symptomen gehören insbesondere die Harn- und Stuhlinkontinenz und Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus (Holtzman et al. 2011; Lyketsos et al. 2011; McKhann et al. 2011). Die Symptomatik führt zu Schwierigkeiten bei der Bewältigung von Routineaufgaben, sodass die Patient*innen im Alltag auf Hilfe angewiesen sind (Alzheimer's Assoziation Report 2021).

Im späten Krankheitsverlauf der Alzheimer-Demenz kommt es zur finalen schweren Erkrankungsphase. In diesem Stadium sind die Patient*innen bettlägerig und leiden unter Schluckstörungen, weswegen eine eigenständige Nahrungsaufnahme nicht mehr möglich ist. Auf Grund der hohen Morbidität wird in der Regel eine 24-Stunden-Betreuung benötigt (Holtzman et al. 2011; Alzheimer's Assoziation Report 2021).

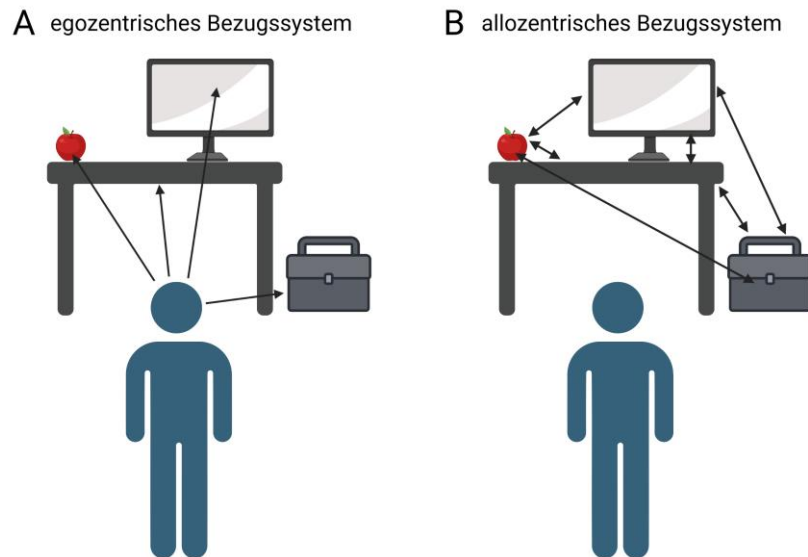


Abbildung 1: Egozentrisches und allozentrisches Bezugssystem. Das Ich-zentrierte egozentrische Referenzsystem dient der Erfassung, wo sich bspw. Gegenstände im Bezug zur betreffenden Person befinden (A). Das kartenähnliche allozentrische Referenzsystem umfasst den räumlichen Bezug verschiedener Gegenstände zueinander (B). Erstellt nach Coughlan *et al.* 2018.

1.2.2 Neuropathologie

Die Alzheimer-Demenz zeichnet sich durch eine charakteristische Trias aus sogenannten senilen Plaques, intrazellulären Neurofibrillenbündeln und Nervenzellverlust aus. Darüber hinaus spielen aber auch ein begleitender Entzündungsprozess und lösliches Amyloid β eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese (Kayed *et al.* 2003; Alzheimer's Association Report 2021).

1.2.2.1 Amyloid β

Bei der Alzheimer-Erkrankung kommt es nicht nur zur Bildung von unlöslichen Amyloid β -Ablagerungen, sondern auch zur Entstehung von löslichem oligomeren A β (Gouras *et al.* 2015). Die unlöslichen Ablagerungen können in diffuse und neuritische Plaques unterschieden werden (Holtzman *et al.* 2011; Walker 2020). Diffuse Plaques bestehen aus nicht-fibrillärem A β , das nur mit einer geringen Immunreaktion in dessen Umgebung einhergeht und ebenfalls bei älteren Menschen ohne klinisch pathologischen Befund vorkommen kann (D'Andrea *et al.* 2001; Serrano-Pozo *et al.* 2011a).

Darüber hinaus gibt es auch fibrilläres A β , welches aufgrund der β -Faltblatt-Konfiguration, eine erhöhte Aggregationsneigung ausweist. Neuritische oder auch senile Plaques, die typischerweise bei der Alzheimer-Demenz vorkommen, zeichnen sich durch einen Kern, bestehend aus diesem fibrillärem A β aus, in dessen Umgebung degenerierte Neurone und Entzündungszellen, wie Astrozyten und Mikroglia zu finden sind (D'Andrea *et al.* 2001; Holtzman *et al.* 2011; Walker 2020). Die Plaque-Pathologie breitet sich vom Isokortex, über das limbische System bis in die subkortikalen Strukturen, wie die Basalganglien aus

(Thal et al. 2002). Somit korreliert die Entstehung solcher A β -Plaques nicht mit dem Schweregrad der Alzheimer-Symptomatik (Arriagada et al. 1992). Vielmehr gibt es Zusammenhänge zwischen dem Schweregrad der Erkrankung und der Konzentration löslicher intrazellulärer A β -Oligomere, von denen bereits eine Vielzahl an Varianten bekannt ist (Kayed et al. 2003; Holtzman et al. 2011; Shcherbinin et al. 2022) (Absatz 1.6.4).

Darüber hinaus kann sich A β auch in den Wänden von Blutgefäßen ablagern und so zu einer Amyloidangiopathie führen (Schneider und Bennett 2010). Solche Gefäßveränderungen führen in manchen Fällen zu Vaskulitiden, Schlaganfällen oder Parenchym-Einblutungen (Soontornniyomkij et al. 2009; Wu et al. 2021).

1.2.2.2 Neurofibrillenbündel

Ebenfalls charakteristisch für die Alzheimer-Demenz sind intrazelluläre Bündel aus Neurofibrillen, die auch neurofibrilläre *tangles* (Verwicklungen) oder Alzheimer-Fibrillen genannt werden. Sie bestehen größtenteils aus hyperphosphoryliertem Tau (Grundke-Iqbal et al. 1986). Tau bindet physiologischerweise an die Tubuline der Mikrotubuli und dient somit deren Stabilisierung (Avila et al. 2004). Durch die Hyperphosphorylierung verändert sich jedoch sein Bindungsverhalten. In diesem Zustand erhöht sich das Aggregationsbestreben, was eine Zusammenlagerung von gepaarten helikalen Fragmenten zur Folge hat (Kidd 1963; Alonso et al. 1996). Diese intrazellulären Veränderungen stören wichtige Zellfunktionen und führen so zum neuronalen Zelltod (Gómez-Isla et al. 1997; Iqbal et al. 2009).

Anhand der Ausbreitung der hyperphosphorylierten Neurofibrillenbündel, beginnend im transentorhinalen Kortex, über weitere Teile des limbischen Systems bis hin zum Neokortex, kann eine neuropathologische Stadieneinteilung nach Braak vorgenommen werden (Braak und Braak 1991). Die Verteilung von Tau korreliert somit zwar besser mit der klinischen Symptomatik der Patient*innen und dem Nervenzellverlust als die A β -Plaques, dennoch ist unklar, welchen Anteil die hyperphosphorylierten Neurofibrillenbündel zu der Krankheitsgenese beitragen (Arriagada et al. 1992; Gómez-Isla et al. 1997; Shcherbinin et al. 2022).

1.2.2.3 Nervenzelluntergang

Bei der Alzheimer-Demenz kommt es außerdem zum Verlust von Nervenzellen und damit verbunden zur Atrophie des Hirngewebes. Dabei zeigt sich eine Braak-Stadien-typische Atrophie, beginnend im entorhinalen Cortex, über den Hippokampus und den medialen Gyrus temporalis (Braak und Braak 1991; Li et al. 2011; Marino et al. 2019). Dabei kommt es hauptsächlich zur Abnahme der grauen, aber auch der weißen Substanz (Double et al. 1996; Marino et al. 2019).

Die Hirnatrophie wird unter anderem durch den Untergang von Neuronen bedingt. In frühen Phasen lässt sich vor allem ein Nervenzellverlust im entorhinalen Kortex, insbesondere in Layer II und im *cornu ammonis*-1 (Sektor 1 des Ammonshorns) (CA1) des Hippokampus feststellen (Gómez-Isla et al. 1996a; Price et al. 2001; West 2002). Des Weiteren konnte unter anderem auch der Verlust von Nervenzellen in der Amygdala (Vereecken et al. 1994), dem Nukleus basalis Meynert (Vogels et al. 1990), im Nukleus ceruleus (Busch et al. 1997) und im olfaktorischen Bulbus (ter Laak et al. 1994) nachgewiesen werden.

Ebenfalls für die Hirnatrophie verantwortlich ist der Verlust von Synapsen. Dieser geht dem Untergang der Neurone voraus (Serrano-Pozo et al. 2011a). Darüber hinaus korreliert die Reduktion der Synapsen im Neokortex und im limbischen System sogar besser mit den kognitiven Symptomen als der Nervenzellverlust an sich (DeKosky und Scheff 1990).

Trotz der Zellreduktion entlang der Braak-Stadien, kann die Menge der untergegangenen Nervenzellen nicht allein durch das hyperphosphorylierte Tau erklärt werden (Gómez-Isla et al. 1997). Einige Studien legen nahe, dass lösliches oligomeres A β ebenfalls eine bedeutende Rolle dabei spielt (Bayer und Wirths 2011; Viola und Klein 2015).

1.2.2.4 Entzündung

Die neuropathologischen Veränderungen bei der Alzheimer-Erkrankung sind mit einem Entzündungsprozess vergesellschaftet. Insbesondere neuritische A β -Plaques stellen einen Auslöser dar und sind regelhaft von Astrozyten und Gliazellen umgeben (Itagaki et al. 1989; Vehmas et al. 2003). Aber auch für Neurofibrillenbündel konnte ein Zusammenhang mit immunreaktiven Zellen festgestellt werden (Serrano-Pozo et al. 2011b).

Die Aktivierung von Mikroglia und Astrozyten führt zur Ausschüttung von Zytokinen und Chemokinen (Tuppo und Arias 2005). Neuritische Plaques, Neurofibrillenbündel und Zelldetritus aktivieren das Komplementsystem, welches ebenfalls eine wichtige Rolle beim Entzündungsprozess spielt (Rogers et al. 1992; Shen et al. 2001; Veerhuis et al. 2011).

1.3 Diagnostik

Die Alzheimer-Demenz ist laut ICD-10 ein Syndrom und wird insbesondere durch neuropsychologische Diagnostik festgestellt. Ergänzend können bildgebende Verfahren, Blut- und Liquoruntersuchungen durchgeführt werden. Eine Diagnosesicherung erfolgt derzeit jedoch nur *post mortem* anhand der spezifischen Pathologie (Absatz 1.2.2).

1.3.1 Klinische Diagnostik

Laut der S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) und der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde (DGPPN) wird zur Diagnosestellung eine mindestens seit einem halben

Jahr bestehende Alzheimer-typische Symptomatik herangezogen, gefolgt von aufwendiger Ausschlussdiagnostik (Hacke 2016, DGN et al. 2016).

Die Diagnostik basiert somit besonders auf einer genauen Anamnese, die insbesondere die Erstsymptome, den Verlauf, Verhaltensauffälligkeiten und eine Medikamentenanamnese umfasst (DGN 2016). Beim klinischen Verdacht einer Alzheimer-Demenz wird die Prüfung der Geschwindigkeit und Seitendifferenzen des visuellen Systems, der semantischen Wortflüssigkeit, der Arbeitsgedächtnisleistung und der Exekutivfunktionsparameter empfohlen (Graham 2004, DGN et al. 2016). Ein Mittel zur Objektivierung solcher Symptome sind kognitive Tests. Diese Fragebögen dienen zum Beispiel der Früherkennung, Schweregradeinstufung und Verlaufsbeurteilung.

Einer der populärsten Fragebögen ist der Mini-Mental-Status-Test (MMST) (Folstein et al. 1975). Er wird standardmäßig zur Erfassung des Schweregrades herangezogen und beinhaltet unter anderem Aufgaben zur zeitlichen und räumlichen Orientierung, Gedächtnisfunktionen, Aufmerksamkeit und der Rechenleistung (DGN et al. 2016). Da der MMST jedoch eine vergleichsweise geringe Sensitivität bei der MCI-Diagnostik aufweist, wird er häufig mit anderen Tests kombiniert (Arevalo-Rodriguez et al. 2021).

Fragebögen, die ein MCI besser erfassen, sind der Demenz-Detektions-Test (DemTect) und das Montreal-Cognitive-Assessment (MoCA) (Kalbe et al. 2004; Troyer 2004; Nasreddine et al. 2005; Ciesielska et al. 2016). Neben der Testung von Gedächtnisfunktionen spielen dabei bspw. auch Aufgaben zum visuell-räumlichen Vorstellungsvermögen eine Rolle (Kalbe et al. 2004; Nasreddine et al. 2005).

1.3.2 Bildgebende Verfahren

Bildgebende Verfahren können die klinische Diagnostik zur Differenzierung verschiedener Demenzen bzw. potentiell behandelbarer Ursachen ergänzen. Aus diesem Grund besteht die Empfehlung zur Durchführung einer kranialen Computertomographie (CT) oder einer Magnetresonanztomographie (MRT) (DGN et al. 2016). Bei der Alzheimer-Demenz kann dabei ggf. eine hippocampale Atrophie erkannt werden (Absatz 1.2.2.3) (Marino et al. 2019).

Die Fluordesoxyglucose-Positronen-Emissions-Tomographie (^{18}F FDG-PET) stellt den Glukosemetabolismus dar, welcher bei dieser Erkrankung typischerweise im temporoparietalen und frontalen Kortex, im posterioren Cingulum und im Precuneus erniedrigt ist (Friedland et al. 1983; Herholz et al. 2007). In der Hirnperfusionsszintigrafie können außerdem Anomalien der Hirndurchblutung gezeigt werden. Dabei ist eine Minderperfusion des temporoparietalen Kortex typisch (Holman et al. 1992). Eine weitere bildgebende Methode ist die Amyloid-PET, mit dessen Hilfe A β sichtbar gemacht werden kann (Clark et al. 2012). Diese Verfahren werden jedoch nur ergänzend und keinesfalls regelhaft durchgeführt (DGN et al. 2016).

1.3.3 Liquor- und Blut- Diagnostik

Die Untersuchung des *liquor cerebrospinalis* (Zerebrospinalflüssigkeit) gehört zur Basisdiagnostik der Alzheimer-Demenz. (DGN et al. 2016). Im Liquor sind typischerweise ein erniedrigtes $A\beta_{42}$, eine reduzierte $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ -Ratio, sowie erhöhte Werte für phosphoryliertes Tau messbar (Sjögren et al. 2001; Mulder et al. 2010; Bjerke und Engelborghs 2018).

Weniger invasiv als eine Lumbalpunktion und kostengünstiger als bildgebende Verfahren ist jedoch die Detektion von Biomarkern im Blut (Henriksen et al. 2014; Palmqvist et al. 2019). Dabei sind aktuell insbesondere die $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ -Ratio im Plasma unter Berücksichtigung der Anzahl der ApoE ϵ 4 Kopien, phosphoryliertes (P)-tau181 und P-tau217 von Bedeutung (Palmqvist et al. 2020; Karikari et al. 2021; Kirmess et al. 2021; Schindler und Karikari 2022). Weniger spezifische Biomarker sind außerdem ein erhöhtes *glial fibrillary acidic protein* (saures Gliafaserprotein) (GFAP), als Zeichen eines Entzündungsprozesses mit Beteiligung der Astrozyten und erhöhte *neurofilament light chains* (Neurofilament-Leichtketten) (NfL), einem Marker für neurodegenerative Prozesse (Benedet et al. 2020; Ashton et al. 2021; Asken et al. 2021). Die Messung von Blut-Biomarkern wird derzeit jedoch ebenfalls noch nicht in den Leitlinien berücksichtigt.

1.4 Therapie

Derzeit gibt es in Deutschland noch keine zugelassene kausale Alzheimer-Therapie. Dennoch besteht Hoffnung, da bereits einige vielversprechende Medikamente in Aussicht sind (Cummings et al. 2022). Die Therapie mit Aducanumab, einem Antikörper gegen die Aminosäuren 3-7 im $A\beta$, wurde in den USA bereits für klinische Studien zugelassen (Sevigny et al. 2016; Söderberg et al. 2022). Ebenso genehmigte die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) kürzlich einen Antikörper gegen lösliche $A\beta$ -Oligomere und -Fibrillen namens Lecanemab (Swanson et al. 2021; Reardon 2023).

Bis solche Medikamente auch in Deutschland zugelassen sind, beschränken sich die S3-Leitlinien der DGN und DGPPN noch auf rein symptomatische Therapieansätze. Dazu zählen psychosoziale Behandlungsmöglichkeiten, aber auch medikamentöse Therapien. Die in Deutschland zugelassene medikamentöse Therapie umfasst in erster Linie Acetylcholin-Esterase (AChE)-Hemmer im leichten bis mittelschweren Stadium und den nicht-kompetitiven N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptorantagonisten Memantin bei moderaten bis schweren Fällen (DGN et al. 2016).

Bei der Alzheimer-Demenz kommt es zur Degeneration cholinergischer Neurone (Ferreira-Vieira et al. 2016). Die AChE-Hemmer bewirken durch die Inhibition des Acetylcholin (ACh)-Abbaus eine erhöhte Neurotransmitter-Konzentration im synaptischen Spalt und somit eine Teilkompensation des Verlustes (Muramatsu et al. 2019). Der erste für diese Erkrankung zugelassene AChE-Hemmer war Tacrin (de Belleruche und Gardiner 1988).

Auf Grund der Nebenwirkungen findet Tacrin heute jedoch keine Verwendung mehr (Balson et al. 1995). Ersetzt wurde es durch Donepezil, Rivastigmin und Galantamin (Rogers et al. 1998; Bentham et al. 1999; Wilcock et al. 2000).

Auch eine Überstimulation durch Glutamat steht unter Verdacht zur Alzheimer-Pathogenese beizutragen, indem es den Nervenzelluntergang induziert (Danysz et al. 2000). Memantin hemmt die NMDA-Rezeptoren nicht-kompetitiv, sodass Glutamat von diesen verdrängt wird (Reisberg et al. 2003). Es bewirkt nachweislich eine Verbesserung der Symptome bei moderater bis schwerer Alzheimer-Demenz (McShane et al. 2006).

1.5 Genetik und Risikofaktoren

Die genaue Ätiologie der Alzheimer-Erkrankung ist bisher unklar. Während für die früh einsetzende familiäre Alzheimer-Demenz vor allem autosomal dominante Mutationen verantwortlich sind, handelt es sich bei der sporadischen Form vielmehr um ein multifaktorielles Geschehen.

1.5.1 Allgemeine Risikofaktoren

Der wichtigste allgemeine Risikofaktor für die SAD ist das Alter. Sobald das 65. Lebensjahr erreicht ist, lässt sich etwa alle fünf weitere Jahre eine Risikoverdopplung verzeichnen (Hebert et al. 1995; Armstrong 2019). Des Weiteren spielen kardiovaskuläre Erkrankungen und die damit verbundenen vaskulären Risikofaktoren, wie bspw. Hypertonie, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie und Nikotinabusus eine wichtige Rolle bei der Krankheitsentstehung (Kivipelto et al. 2001; Luchsinger et al. 2004; Alonso et al. 2009; Durazzo et al. 2014). Auch ein erlittenes Schädel-Hirn-Trauma und oxidativer Stress prädisponieren dazu, später eine Alzheimer-Demenz zu entwickeln (Chen und Zhong 2014; Li et al. 2017). Darüber hinaus gibt es einen Zusammenhang zwischen einem niedrigen sozioökonomischen Status bzw. niedrigen kognitiven Fähigkeiten während der Kindheit und dieser Erkrankung (Evans et al. 1997; Whalley et al. 2000). Andersherum können sportliche bzw. kognitive Aktivität und ein sozial integrierter Lebensstil aber auch protektiv wirken (Wilson et al. 2002; Fratiglioni et al. 2004; Andel et al. 2008; Hamer und Chida 2009).

1.5.2 Genetik

Für das Auftreten der familiären Alzheimer-Erkrankung spielt die Genetik eine tragende Rolle, aber auch für die sporadische Form gibt es genetische Risikofaktoren. Der FAD liegen in der Regel autosomal dominante Mutationen im *amyloid-precursor-protein* (Amyloid-Vorläuferprotein) (*APP*)-, im *Präsenilin 1* (*PS1*)- oder *Präsenilin 2* (*PS2*)-Gen zu Grunde (Absatz 1.6.1 und 1.6.2).

APP ist ein integrales Membranprotein, welches durch Sekretase-Aktivität zu A β gespalten werden kann (Absatz 1.6). Das Gen, welches für das APP kodiert, befindet sich auf dem Chromosom 21. Aus diesem Grund kann eine Trisomie in Form eines Down Syndroms schon in frühem Alter zu intraneuronalen A β -Ablagerungen führen und stellt somit einen wichtigen Risikofaktor für die Alzheimer-Krankheit dar (Mori et al. 2002; Gomez et al. 2020). Derzeit sind etwa 25 pathogene Mutationen des *APP*-Gens bekannt, wobei im Jahr 1991 die *London-Mutation*, also eine Missense-Mutation in der Nähe der γ -Sekretase Schnittstelle, als erste publiziert wurde (Goate et al. 1991; Li et al. 2019). Dies führt zu einer Erhöhung der A β_{42} /A β_{40} -Ratio, insbesondere durch den Anstieg der A β_{42} -Konzentration (Eckman et al. 1997; Herl et al. 2009). Des Weiteren kann auch die Schnittstelle der β -Sekretase von Mutationen betroffen sein. Ein Beispiel dafür ist die *Schwedische Mutation*, bei der es durch den Austausch zweier Aminosäuren zu einer erhöhten A β -Konzentration kommt, während die A β_{42} /A β_{40} -Ratio unverändert bleibt (Mullan et al. 1992; Johnston et al. 1994).

Die *Präsenilin*-Gene kodieren für einen Teil des γ -Sekretase-Komplexes (Absatz 1.6) (Haass und De Strooper 1999). Die verschiedenen Mutationen in *PS1* oder *PS2* können sehr unterschiedliche Auswirkungen haben. Es konnte, je nach Mutation, eine erhöhte A β -Konzentration oder eine erhöhte A β_{42} /A β_{40} -Ratio gefunden werden (Kumar-Singh et al. 2006; Pimenova und Goate 2020). Das *PS1*-Gen befindet sich auf Chromosom 14 und das *PS2*-Gen auf Chromosom 1 (Levy-Lahad et al. 1995; Sherrington et al. 1995). *PS1*-Mutationen treten innerhalb der FAD am häufigsten auf und zeigen eine starke Penetranz. Das Erkrankungsalter liegt zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr. *PS2*-Mutationen zeigen hingegen eine geringere Penetranz und das mittlere Erkrankungsalter ist mit 45 bis 60 Jahren etwas höher (Ryan und Rossor 2010; Pilotto et al. 2013; Cacace et al. 2016).

Wesentlich häufiger als die FAD ist die sporadische Form (Atri 2019). Dabei ist vor allem Apolipoprotein E (ApoE)-Polymorphismus von Bedeutung. Es werden drei ApoE-Allele unterschieden $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$. ApoE $\epsilon 4$ ist ein Risikofaktor für die Entstehung und einen frühen Beginn der SAD, während ApoE $\epsilon 2$ eher protektive Eigenschaften zukommen (Corder et al. 1993; Corder et al. 1994; Gómez-Isla et al. 1996b; Reiman et al. 2020).

ApoE wird unter anderem im zentralen Nervensystemen (ZNS), insbesondere in den Astrozyten produziert und dient dem Lipid- und Cholesteroltransport (Mahley 1988; Huang und Mahley 2014). Außerdem hat ApoE einen Einfluss auf die Migration und Phagozytose von Immunzellen und spielt somit eine wichtige Rolle beim Abbau von A β (Baitsch et al. 2011; Castellano et al. 2011; Cudaback et al. 2011). Je nach ApoE-Allel können diese Prozesse unterschiedlich effizient ablaufen. Es konnte gezeigt werden, dass das $\epsilon 4$ -Allel mit einer schlechteren und das $\epsilon 2$ -Allel mit einer besseren A β -Beseitigung assoziiert ist als das $\epsilon 3$ -Allel (Holtzman et al. 2000; Najm et al. 2019; Reiman et al. 2020).

Eine Heterozygotie für das ApoE $\epsilon 4$ -Allel erhöht das Risiko einer sporadischen Alzheimer Demenz auf das drei- bis sechsfache. Bei homozygoten Trägern ist das Risiko sogar 15- bis

30-fach erhöht (Farrer et al. 1997; Reiman et al. 2020). Während die Häufigkeit dieser Erkrankung bei nicht- $\epsilon 4$ -Träger*innen etwa 20% beträgt, tritt sie bei etwa 91% der homozygoten und 47% der heterozygoten Anlagenträger*innen auf (Corder et al. 1993; Rebeck et al. 1993). Des Weiteren gibt es ethnische Einflüsse auf die Pathogenität des $\epsilon 4$ -Allels bei der Alzheimer-Entstehung. So scheinen ApoE $\epsilon 4$ -Allelträger*innen afroamerikanischer und hispanischer Herkunft ein geringeres Risiko für die Erkrankung aufzuweisen als europäisch- oder asiatischstämmige (Evans et al. 1997; Rajabli et al. 2018; Serrano-Pozo et al. 2021).

1.6 Der Weg vom APP zu A β

A β entsteht durch Sekretase-Aktivität aus dem Amyloid-Vorläuferprotein. Beim APP handelt es sich um ein integrales glycosyliertes Typ-1-Transmembranprotein. Das heißt, dass es in der Zellmembran mit dem langen Amino (N)-Terminus nach außen und dem kurzen Carboxy (C)-Terminus ins Innere der Zelle zeigend positioniert ist (Dyrks et al. 1988; Selkoe et al. 1988). Es wird vorrangig im zentralen Nervensystem (ZNS), aber auch in anderen Gewebetypen produziert. Dabei entstehen durch alternatives Spleißen verschiedene Isoformen, wobei das APP695 mit einer Länge von 695 Aminosäuren die in Neuronen am häufigsten vorkommende ist (Selkoe et al. 1988; Sandbrink et al. 1996; Matsui et al. 2007).

Die physiologische Funktion von APP ist noch nicht genau bekannt. Es gibt Hinweise darauf, dass der extrazelluläre Terminus eine Rolle bei der Zelladhäsion spielen könnte oder als Rezeptor fungiert (Yamazaki et al. 1997; Zheng und Koo 2006). Die intrazelluläre Domäne könnte für Apoptosevorgänge, Genexpression und den axonalen Transport von Bedeutung sein (Zheng und Koo 2006; Müller et al. 2008).

Das physiologische APP kann auf unterschiedliche Weisen weiter prozessiert werden. Durch die Beteiligung von α - und γ -Sekretasen entsteht lösliches APP- α , welches eher protektive Eigenschaften haben könnte (Absatz 1.6.1) (Furukawa et al. 1996; Cimdins et al. 2019). Bei der Prozessierung durch die β -Sekretase, anstelle der α -Sekretase, bildet sich jedoch das für die Alzheimer-Demenz charakteristische A β (Absatz 1.6.2).

1.6.1 Nicht-amyloidogener Weg

Der erste Schritt beim nicht-amyloidogenen Weg ist die Spaltung vom APP zwischen den Aminosäuren Lysin-16 und Leucin-17 durch die α -Sekretase (Esch et al. 1990). Dabei entstehen das N-terminale lösliche APP- α und das C-terminale, 83 Aminosäuren lange Fragment (CTF83), welches noch in der Membran verankert bleibt (Haass et al. 2012). Von dem in der Membran verbliebenen CTF83 wird im nächsten Schritt durch die γ -Sekretase das nicht-toxische p3-Fragment (A $\beta_{17-40/42}$) abgespalten. Das p3-Fragment gelangt dann in den Extrazellulärraum, wo es aber, im Gegensatz zu A β , nicht aggregieren kann. Als

weiteres Spaltprodukt entsteht bei diesem Prozess die *APP-intracellular-domain* (intrazelluläre APP-Domäne) (AICD50) (Abbildung 2) (Haass et al. 2012; Carrillo-Mora et al. 2014). Es wird vermutet, dass AICD eine Rolle bei der Transkription spielen könnte (Cao und Südhof 2001; von Rotz et al. 2004).

Die α -Sekretase ist eine membrangebundene Zink-Metalloproteinase, die sich aus verschiedenen Typen der *a disintegrin and metalloproteinase* (ADAM)-Familie zusammensetzt. Insbesondere für ADAM9, ADAM10 und ADAM17 konnte eine Verbindung zur APP-Prozessierung nachgewiesen werden (Sisodia 1992; Lichtenthaler 2011). Vorherrschend in den Neuronen ist davon die ADAM10 (Jorissen et al. 2010; Kuhn et al. 2010).

Die γ -Sekretase ist eine Aspartyl-Protease, die unter anderem aus den Präsenilinen PS1 und PS2 aufgebaut ist. Die Präseniline bilden dabei das katalytische Zentrum. Darüber hinaus gehören das *anterior pharynx defective-1* (APH-1) als Stabilisator, der *presenilin enhancer* (PSEN2) als Aktivitätsregulator und Nicastrin als Substrat-Rezeptor zum γ -Sekretase-Komplex (Dries und Yu 2008).

1.6.2 Amyloidogener Weg

Beim amyloidogenen Weg wird das APP anstatt von der α -Sekretase zuerst von der β -Sekretase gespalten. Da die β -Sekretase jedoch an einer anderen Stelle ansetzt, entstehen das etwas kürzere lösliche APP- β und ein 99 Aminosäuren langes, C-terminales Fragment (CTF99), welches noch mit der Membran assoziiert bleibt. Die gleiche γ -Sekretase, die auch am nicht-amyloidogenen Weg beteiligt ist, spaltet im nächsten Schritt auch das CTF99. Dabei entstehen die intrazelluläre AICD und das extrazelluläre A β (Abbildung 2) (Haass et al. 2012). Die γ -Sekretase kann in ihrem katalytischen Zentrum an verschiedenen Stellen des CTF99 ansetzen, wobei A β in einer Länge von ~ 34 bis 50 Aminosäuren entsteht (Kummer und Heneka 2014; Selkoe und Hardy 2016). Auf physiologischem Weg entsteht größtenteils A β_{40} und nur wenig A β_{42} . Bspw. durch Mutationen bei der FAD kommt es allerdings zu einer Verhältnisverschiebung oder auch zu einer gesteigerten Produktion beider Typen (Mullan et al. 1992; Eckman et al. 1997). Die somit erhöhte A β_{42} -Konzentration spielt eine wichtige Rolle bei der Alzheimer-Erkrankung, da diese A β -Variante eine höhere Fibrillisationsneigung aufweist und den Hauptbestandteil der neuritischen A β -Plaques ausmacht (Sisodia und St George-Hyslop 2002).

Die hauptsächliche β -Sekretase der Neurone ist eine transmembrane Aspartyl-Protease namens *β -site APP-cleaving enzyme 1* (β -Sekretase 1) (BACE1) (Vassar et al. 1999; Cai et al. 2001). Dass explizit die BACE1 an der Entstehung von A β beteiligt ist, legen einige Mausmodelle nahe, bei denen durch die Inaktivierung der BACE1 kein A β generiert wurde (Cai et al. 2001; Luo et al. 2003). Weitere Funktionen der BACE1 sind noch unbekannt. Dennoch gibt es Anhaltspunkte für eine Beteiligung an der postnatalen Myelinisierung und bei der Regulation spannungsabhängiger Natrium-Kanäle (Willem et al. 2006; Kim et al. 2007).

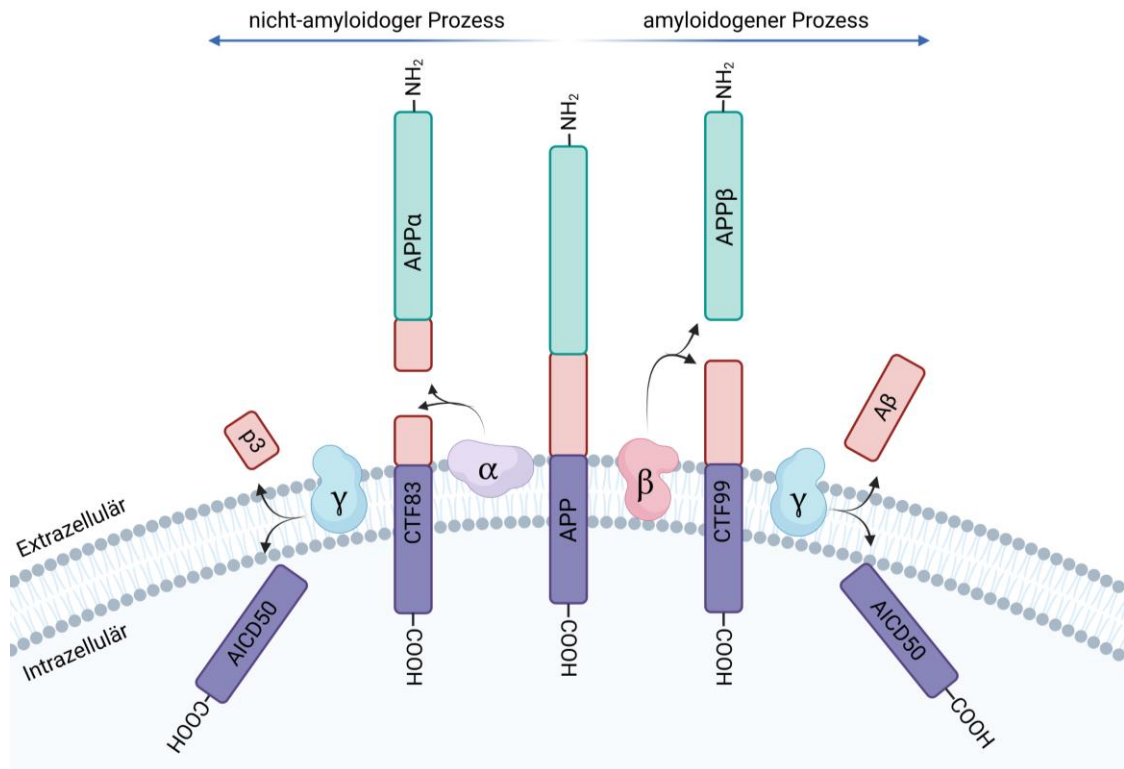


Abbildung 2: Die Entstehung von A β . Auf dem nicht-amyloiden Weg (links) wird das Transmembranprotein APP zunächst durch die α -Sekretase innerhalb der A β -Aminosäuresequenz gespalten. Dadurch entsteht APP α und das membranständige CTF83, welches im nächsten Schritt durch die γ -Sekretase in p3 und AICD50 abgebaut wird. Beim amyloiden Weg (rechts) wird β -Sekretase-vermittelt APP β abgespalten, wodurch die γ -Sekretase an einer anderen Stelle des Proteins ansetzt. So entsteht neben AICD50 auch das pathogene A β . Erstellt nach Haass *et al.* 2012.

1.6.3 Amyloid-Kaskaden-Hypothese

1991 stellten John Hardy und David Allsop erstmals die Amyloid-Kaskaden-Hypothese für die Entstehung der Alzheimer-Demenz auf. Diese besagt, dass eine vermehrte Produktion oder ein verminderter Abbau von A β_{40} und A β_{42} zur Bildung von Amyloid-Ablagerungen führt, die der Entstehung von Neurofibrillenbündeln, Nervenzellverlust, Hirnatrophie und kognitiven Defiziten vorausgeht. Diese A β -Ablagerungen oder auch Plaques könnten demnach für die Alzheimer-Pathologie verantwortlich sein (Hardy und Allsop 1991).

Für diese Hypothese spricht, dass eine Trisomie des *APP*-Gens, wie es beim Down Syndrom der Fall ist oder *APP*-Mutationen im Sinne der FAD mit vermehrter Bildung der A β -Plaques, aber auch der Neurofibrillenbündeln einhergeht (Masters *et al.* 1985; Goate *et al.* 1991; Cacace *et al.* 2016; Gomez *et al.* 2020). Darüber hinaus führen Mutationen im *Tau*-Gen, anders als die Mutationen im *APP*-, *PS1*- oder *PS2*-Gen, nicht automatisch auch zur Bildung von A β -Plaques, sondern zur Entstehung von Tauopathien, während eine Abnahme von A β auch zur Reduktion vom hyperphosphorylierten Tau führt (Bang *et al.* 2015; Olszewska *et al.* 2016; Shcherbinin *et al.* 2022). Die Theorie wird außerdem dadurch

gestützt, dass das ApoE ϵ 4-Allel als wichtigster Risikofaktor für die sporadische Erkrankungsform insbesondere durch einen reduzierten A β -Abbau zur Krankheitsentstehung beiträgt (Castellano et al. 2011).

Gegen die Amyloid-Kaskaden-Hypothese von Hardy und Allsop spricht allerdings, dass die Entstehung der A β -Plaques nicht mit den kognitiven Defiziten korreliert (Arriagada et al. 1992; Thal et al. 2002). Hinzukommend konnte in Mausmodellen gezeigt werden, dass es auch schon vor der Bildung von A β -Ablagerungen zu Nervenzellschädigungen kommt (Mucke et al. 2000; Wu et al. 2004).

Vielmehr lässt sich die Alzheimer-Pathologie mit löslichem A β begründen (Bayer und Wirths 2011; Selkoe und Hardy 2016). So korrelieren die Schädigung von Nervenzellen und die kognitiven Symptome in Mausmodellen mit einer steigenden A β -Gesamtkonzentration, jedoch nicht mit der Bildung von Plaques (Hsia et al. 1999; Mucke et al. 2000; Bouter et al. 2013). Darüber hinaus induzieren A β -Oligomere die Entstehung von Plaques *in vivo* (im Lebendigen) (Langer et al. 2011; Katzmarski et al. 2020). Ebenso zeigt oligomeres A β ein hohes Maß an Toxizität durch oxidativen Stress und führt zu Defiziten der Langzeitpotenzierung (Walsh et al. 2002; Rosales-Corral et al. 2004; Butterfield et al. 2007; Shankar et al. 2008).

Daraus erschließt sich die richtungweisende Bedeutung von löslichen A β -Oligomeren bei der Entstehung der Alzheimer-Krankheit. Aus diesem Grund kam es auch zu einer Überarbeitung der ursprünglichen Amyloid-Kaskaden-Hypothese, bei der nun nicht mehr die senilen Plaques, sondern lösliches A β im Fokus der Pathogenese steht (Hardy und Selkoe 2002; Wirths et al. 2004).

1.6.4 A β -Spezies und Oligomere

Die Gruppe des löslichen und oligomeren A β setzt sich aus verschiedenen Varianten zusammen (Sisodia und St George-Hyslop 2002). Diese Heterogenität wird durch eine Vielzahl unterschiedlich langer, am N- oder C-Terminus variierender A β -Peptide gebildet (Masters et al. 1985; Selkoe et al. 1988). Der C-Terminus entsteht bei der APP-Prozessierung durch die β - und γ -Sekretasen, wobei die genaue Länge durch die Schnittpunkte der γ -Sekretase bestimmt wird (Kummer und Heneka 2014; Selkoe und Hardy 2016). Dabei entsteht hauptsächlich A β_{40} und A β_{42} . A β_{40} bildet davon zwar den größeren Anteil, jedoch zeigt A β_{42} eine stärkere Aggregationsneigung und neigt somit eher zur Bildung von Oligomeren (Absatz 1.6.5) (Jarrett et al. 1993; Sisodia und St George-Hyslop 2002). Darüber hinaus konnten im humanen *liquor cerebrospinalis* auch die kürzeren Peptidketten A β_{37} , A β_{38} und A β_{39} und in Plaques A β_{43} nachgewiesen werden (Iwatsubo et al. 1994; Wiltfang et al. 2002; Seino et al. 2021).

Diese Volllängen-A β -Spezies beginnen alle mit der Aminosäure Aspartat an der ersten Position (Asp-1). Die N-trunkierten Varianten entstehen aus diesem Volllängen-A β durch Protease-vermittelte Kürzungen oder Modifikationen (Bayer und Wirths 2014). Anhand

massenspektrometrischer Analysen von Hirngewebe konnten die N-trunkierten Varianten $A\beta_{4-42}$ und $A\beta_{pE3-42}$, neben $A\beta_{1-40/42}$, als häufigste Formen identifiziert werden, wobei insbesondere $A\beta_{1-42}$ und $A\beta_{4-42}$ die dominanten Spezies im Kortex und Hippokampus darstellen (Portelius et al. 2010). Hinzukommend geht die Trunkierung des N-Terminus, insbesondere bei $A\beta_{42}$, mit einer erhöhten Aggregationsneigung und Toxizität *in vitro* (im Glas) einher (Pike et al. 1995).

Die Prozessierung des N-Terminus ist noch nicht vollends verstanden. Es gibt mehrere Proteasen, die für die Spaltung an verschiedenen Positionen in Frage kommen. Die Zink-Metalloprotease Neprelysin (NEP) spielt dabei eine bedeutende Rolle, da sie an drei unterschiedlichen Stellen ansetzen kann. Dadurch entstehen $A\beta$ -Peptide, die entweder mit Glutamat an Stelle 3 (Glu-3), Phenylalanin an Stelle 4 (Phe-4) oder Histidin an der sechsten Position (His-6) beginnen (Iwata et al. 2001; Leissring et al. 2003; Bayer und Wirths 2014). Die Aktivität der von Oligodendrozyten sezernierte Metalloprotease ADAMTS4 kann ebenfalls zur Entstehung solcher $A\beta_{4-x}$ -Peptide führen (Walter et al. 2019). Darüber hinaus kommen noch weitere Enzyme in Frage, die verantwortlich für bestimmte Trunkierungen sein könnten. Dazu zählt die BACE1, die nicht nur vor Asp-1 im Rahmen der APP-Prozessierung, sondern auch vor dem Glutamat an Position 11 (Glu-11) ansetzen kann (Vassar et al. 1999). Weitere für die N-Trunkierungen in Frage kommende Proteasen sind das *angiotensin-converting-enzyme* (Angiotensin-konvertierendes Enzym) (ACE), das in der Lage ist vor dem Serin an achter Stelle (Ser-8) zu spalten (Hu et al. 2001), das Meprin- β , welches zwischen erster und zweiter Stelle teilt (Bien et al. 2012) und das *myelin basic protein* (basisches Myelinprotein) (MBP), das verantwortlich für die Entstehung von $A\beta_{5-x}$ sein könnte (Abbildung 3) (Liao et al. 2009).

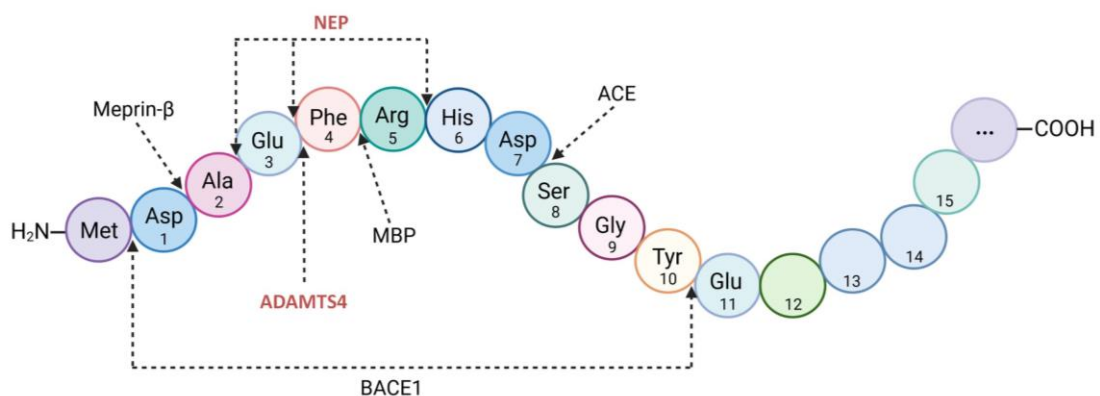


Abbildung 3: N-Trunkierungen von $A\beta$. Der N-Terminus von $A\beta$ wird durch verschiedene Enzyme an unterschiedlichen Stellen trunkiert. $A\beta_{4-42}$ kann sowohl durch die ADAMTS4-Metalloprotease, als auch durch Neprelysin entstehen (rot). Neprelysin ist ebenfalls für die Spaltungen zwischen Ala-2 und Glu-3 bzw. zwischen Arg-5 und His-6 verantwortlich. Weitere Trunkierungen finden durch Meprin- β , ACE und MBP an unterschiedlichen Stellen statt. Die BACE1 ist nicht nur Teil der APP-Spaltung, wodurch $A\beta$ zwischen Met und Asp-1 abgespalten wird, sondern kann ebenfalls zwischen Tyr-10 und Glu-11 ansetzen. Erstellt nach Bayer und Wirths 2014.

1.6.5 Aggregationsverhalten

Nach der überarbeiteten Amyloid-Kaskaden-Hypothese ist die A β -Aggregation zu Oligomeren und Fibrillen der erste Schritt bei der Entstehung der Alzheimer-Pathologie. Die Beobachtungen, dass bspw. eine intrazerebrale Injektion von A β -Oligomeren zur Bildung von Plaques *in vivo* führt, untermauert diese Annahme nochmals (Katzmarski et al. 2020). Aus diesem Grund ist das Verständnis der Aggregation von A β -Monomeren so bedeutend.

Der genaue Mechanismus ist dabei noch unklar. Vermutlich spielt die Peptidstruktur mit hydrophoben Abschnitten dabei eine wichtige Rolle (Rahman et al. 2022). Des Weiteren kann eine Oligomerisation durch oxidativen Stress induziert werden (Cheignon et al. 2018). Bei der Aggregation kommt es zur Zusammenlagerung von 4 kDa-Monomeren zu bereits toxischen Dimeren, über kleine lösliche Aggregate zu großen löslichen >50kDa-Oligomeren (Shankar et al. 2008; Bouter et al. 2013). Diese toxischen Oligomere können sich zu nicht-toxischen Fibrillen in Plaques zusammenlagern. Die unterschiedlichen A β -Typen unterscheiden sich allerdings in ihrem Bestreben zur Oligomerisation und bei der Bildung nicht-toxischer Fibrillen (Abbildung 4) (Bouter et al. 2013; Cawood et al. 2021).

Beim Volllänge-A β_{42} besteht ein Gleichgewicht zwischen der monomeren und oligomeren Form, da die Oligomere schnell zu geordneten Fibrillen in Plaques weiteraggregieren. Manche N-trunkierte Varianten, wie A β_{4-42} liegen jedoch zum größeren Teil als Oligomere vor, da einerseits das Aggregationsbestreben erhöht ist und andererseits die Weiteraggregation zu unlöslichen Fibrillen verlangsamt abläuft. Die Bildung der unlöslichen Fibrillen ist bei A β_{4-42} ein ungeordneter Prozess, weswegen wenige amorphe Fibrillen entstehen (Bouter et al. 2013; Bayer und Wirths 2014).

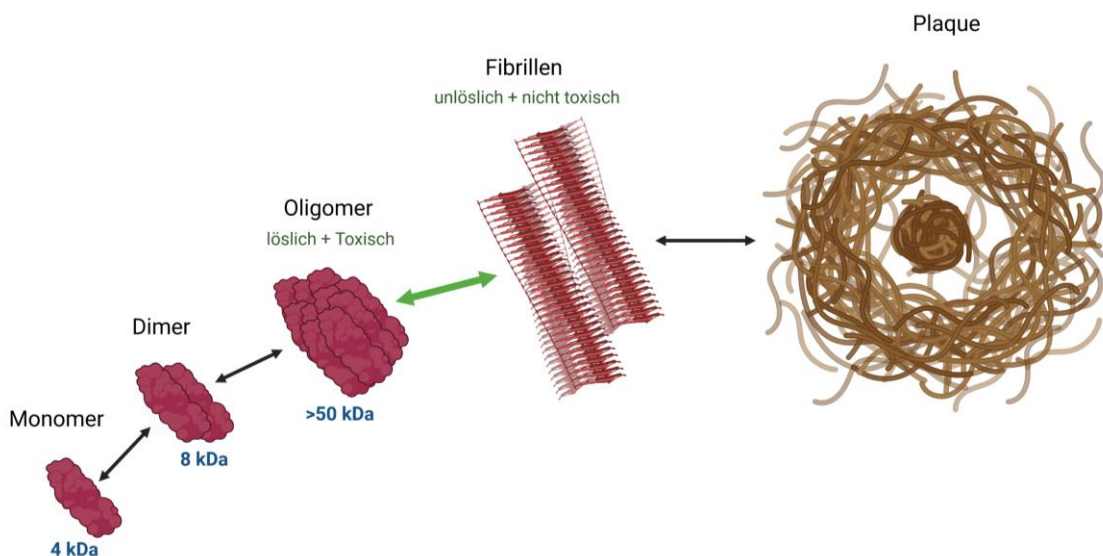


Abbildung 4: Oligomerisation von A β . Bei der Zusammenlagerung von A β besteht ein Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Oligomerisationsstufen. Dabei entstehen lösliche und toxische Oligomere, die unterschiedlich schnell in nicht toxische Fibrillen übergehen (grüner Pfeil). Diese Fibrillen lagern sich zu Amyloid-Plaques zusammen. Erstellt nach Bayer und Wirths 2014.

1.6.6 Amyloid β 4-42

Bereits 1985 konnten Masters *et al.* $A\beta_{4-42}$ mit einem Anteil von 64% als Hauptspezies im Kern der Amyloid-Plaques bestimmen. Mit massenspektrometrischen Messungen wurde es außerdem als eine der Hauptvarianten im Kortex und Hippokampus bei Alzheimer-Patient*innen identifiziert (Portelius *et al.* 2010). $A\beta_{4-42}$ beginnt am N-Terminus mit der Aminosäure Phenylalanin, die an vierter Stelle des $A\beta_{42}$ -Peptids steht und entsteht vermutlich durch die Prozessierung von NEP oder ADAMTS4 (Iwata *et al.* 2001; Walter *et al.* 2019). Diese Trunkierung hat eine noch höhere Aggregationsneigung im Vergleich zum Vollängen- $A\beta_{42}$ zur Folge (Pike *et al.* 1995; Bouter *et al.* 2013). Hinzukommen konnte eine verlangsamte Weiteraggregation zur nicht-toxischen, unlöslichen und amorphen Form beobachtet werden (Bouter *et al.* 2013).

Diese Eigenschaften führen zu hoher Toxizität. Es konnte gezeigt werden, dass $A\beta_{4-42}$ zum Zelltod hippokampaler Neurone *in vitro* und *in vivo* führt (Pike *et al.* 1995; Bouter *et al.* 2013). Außerdem konnte eine Immunisierung gegen $A\beta_{3/4-42}$ in 5XFAD-Mäusen die Plaque-Entwicklung signifikant reduzieren (Antonios *et al.* 2015). So scheint $A\beta_{4-42}$ eine bedeutende Rolle bei der Alzheimer-Genese zu spielen und stellt darüber hinaus noch einen vielversprechenden Angriffspunkt für Therapieansätze dar.

1.7 Mausmodelle

In vitro Experimente geben einen Eindruck über mögliche neuropathologische Veränderungen. Da es sich die Alzheimer-Demenz aber insbesondere durch eine kognitive Symptomatik äußert, die nur *in vivo* erfasst werden kann, wurde 1991 von Quon *et al.* das erste Mausmodell mit einer *APP*-Mutation entwickelt. Weitere bedeutsame Mausmodelle sind bspw. die *APP/PS1KI*-, 3xTg- oder 5XFAD-Linie, die unterschiedliche Mutationen in *APP*-, *PS1*-, *PS2*- oder in *Tau*-Genen aufweisen (Oddo *et al.* 2003; Casas *et al.* 2004; Oakley *et al.* 2006).

Diesen Alzheimer-Mauslinien ist gemeinsam, dass sie insbesondere Modelle für die FAD darstellen, wobei die sporadische Form wesentlich häufiger ist (Atri 2019). Darüber hinaus bilden solche Mausmodelle häufig nicht die vollumfassende Pathologie ab, wie es in menschlichen Gehirnen der Fall ist. *APP*-transgene Mäuse bilden die N-trunkierten Varianten zum Beispiel nur in geringeren Konzentrationen und viele FAD-Mutationen haben nicht zwangsläufig einen hippokampalen Nervenzelluntergang zur Folge (Schmitz *et al.* 2004; Jawhar *et al.* 2012; Bayer und Wirths 2014). Anders ist das beim Tg4-42-Mausmodell.

1.7.1 Tg4-42 Mausmodell

Die Tg4-42-Mauslinie basiert auf dem genetischen Hintergrund der C57BL/6J-Mäuse. Das Transgen führt zur Expression von humanem $A\beta_{4-42}$ in einer neuronenspezifischen Art und

Weise. Dies ist möglich, indem das Transgen so in die Gen-Sequenz vom murinen *thyrotropin releasing hormone* (Thyreoliberin) (TRH) integriert wurde, dass es Thyrotropin (Thy)-1-Promotor-gesteuert abgelesen und exprimiert wird (Bouter et al. 2013). So wird $A\beta_{4-42}$ gebunden an das murine prä-pro-TRH exprimiert und über den neuronalen Sekretionsweg, durch das endoplasmatische Retikulum und den Golgi-Apparat prozessiert und ungebunden exprimiert (Abbildung 5) (Cynis et al. 2006; Bouter et al. 2013).

TRH spielt neben seiner Funktion in der Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse auch eine Rolle als Neurotransmitter und -regulator, welcher von Neuronen in verschiedenen Hirnregionen gebildet wird (Lechan und Segerson 1989). Folglich lässt sich $A\beta_{4-42}$ in diesen Hirnregionen der Tg4-42 Mäusen nachweisen. Dazu zählen neben dem Hippokampus auch das Striatum, die superioren Colliculi, der okzipitale und der piriforme Kortex. Die $A\beta_{4-42}$ -Expression verursacht keine Plaquebildung, geht aber mit Nervenzellverlust und einem nachweislichen Entzündungsprozess einher (Bouter et al. 2013; Bouter et al. 2014). ^{18}F -FDG-PET-Analysen zeigten außerdem eine reduzierte synaptische Aktivität in diesem Mausmodell (Bouter et al. 2019).

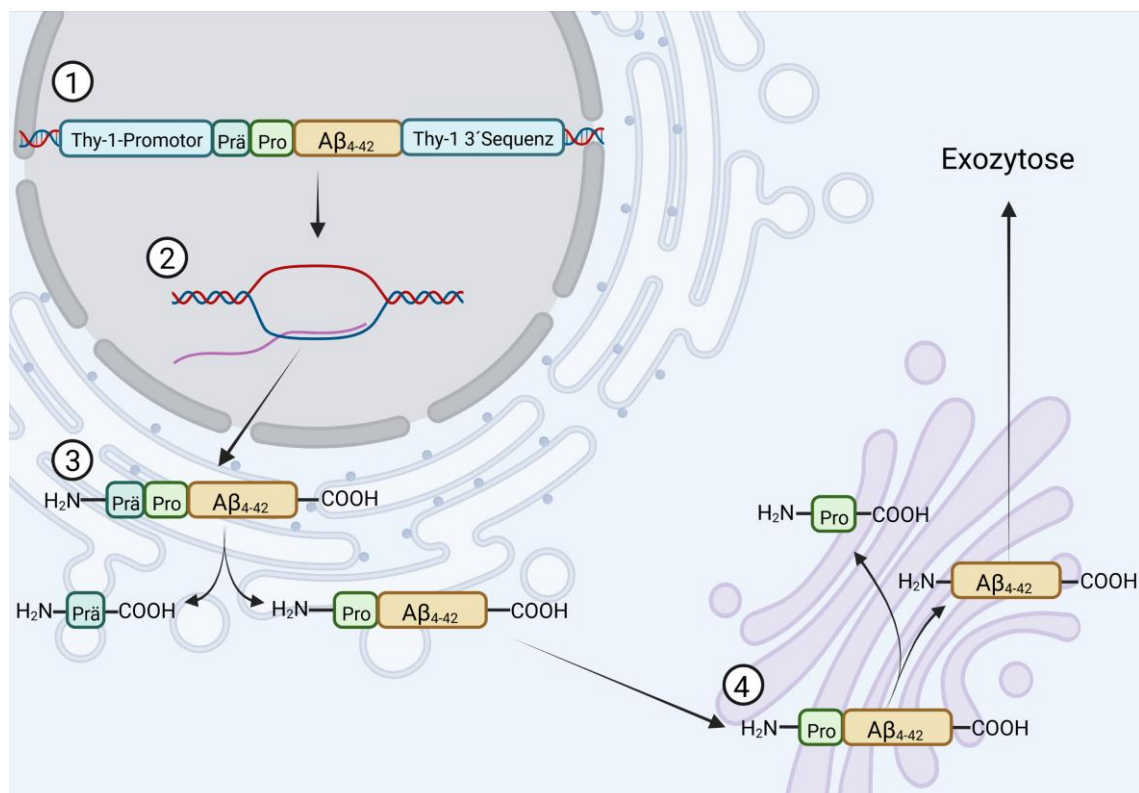


Abbildung 5: Expression des $A\beta_{4-42}$ im Tg4-42-Mausmodell. Die integrierte Gensequenz (1) wird Thy-1-Promotor-gesteuert transkribiert (2). Im endoplasmatischen Retikulum wird die Prä-Aminosäuresequenz durch Signal-Peptidasen vom Prä-pro-Fusionspeptid abgespalten (3). Prohormon-Konvertasen vermitteln die weitere Prozessierung, bei der im Golgi-Apparat das Pro- $A\beta$ -Peptid in die Pro-Sequenz und das $A\beta_{4-42}$ geteilt werden (4). $A\beta_{4-42}$ wird dann exozytiert. Erstellt nach Bouter 2015.

1.7.2 Vorzüge des Tg4-42 Mausmodells

Die Tg4-42-Mauslinie ermöglicht eine gezielte Untersuchung der Folgen der Expression von $A\beta_{4-42}$, einer der Hauptspezies in humanen Alzheimer-Gehirnen (Masters et al. 1985). Auf Grund des C57BL/6J-Hintergrunds kommt es dabei nicht zu Verfälschungen durch andere $A\beta$ -Varianten. Das Tg4-42-Mausmodell spiegelt darüber hinaus einen Teil der Alzheimer-Pathologie wider, ohne ausschließlich FAD-typische Mutationen zu tragen. Dazu zählt zum Beispiel auch der schon frühzeitig und deutlich vom Nervenzelluntergang betroffene Hippokampus (Price et al. 2001; Bouter et al. 2013). Obwohl diese Pathologie eine zentrale Rolle bei der Alzheimer-Demenz spielt, zeigen nur wenige andere Mausmodelle eine derart ausgeprägte hippocampale Veränderung (Schmitz et al. 2004; Wirths und Bayer 2010; Jawhar et al. 2012).

Die Untersuchungen im Mausmodell erlauben nicht nur die Einschätzung der Toxizität dieser Variante bezüglich des Nervenzellverlustes, sondern auch des kognitiven Zerfalls in Verhaltensexperimenten. So können auch mögliche frühe Defizite erfasst werden, die dem Nervenzellverlust vorausgehen.

1.8 Die Ziele dieser Arbeit

$A\beta_{4-42}$ ist nicht nur eine der häufigsten Varianten in humanen Alzheimer-Gehirnen, sondern darüber hinaus auch hoch toxisch. Des Weiteren scheint die Bildung von löslichen und N-trunkierten Varianten am Anfang der Pathogenese zu stehen, weshalb $A\beta_{4-42}$ ein vielversprechendes Ziel frühzeitiger therapeutischer Ansätze darstellt (Absatz 1.6.6). Doch die Basis bei der Entwicklung solcher Therapieansätze bildet das Verständnis darüber, welche Auswirkungen $A\beta_{4-42}$ *in vivo* auf den Organismus hat. Aus diesem Grund wird es in dieser Arbeit um die Analyse des Lernverhaltens und Nervenzellunterganges bei homozygoten Tg4-42-Mäusen gehen. Dafür wurden Verhaltensexperimente in unterschiedlichen Altersgruppen durchgeführt, wobei insbesondere die 12-monatigen Mäuse bisher noch nicht untersucht wurden.

Ein besonderer Fokus wird dabei auf der Suchstrategieanalyse im Morris Water Maze (Morris-Wasserlabyrinth) (MWM) liegen. Diese bringt nicht nur eine qualitative Einschätzung des räumlichen Bezugsgedächtnisses, sondern ermöglicht ebenfalls eine Differenzierung zwischen egozentrischen und allozentrischen Referenzsystemen. Wie auch beim Menschen, können auf diese Weise insbesondere frühe hippocampale Veränderungen und kognitive Defizite detektiert werden.

Somit sollen mit dieser Arbeit die Grundlagen der Demenzforschung erweitert und die Relevanz der Suchstrategieanalyse für die Detektion kognitiver Degeneration in Tiermodellen gezeigt werden.

2 Materialien und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Chemikalien, Reagenzien und Kits

In der folgenden Tabelle (Tabelle 1) sind die verwendeten Materialien, darunter Chemikalien, Reagenzien und Kits mit dazugehörigem Hersteller in alphabetischer Reihenfolge aufgeführt. Diese wurden in den folgenden Experimenten verwendet.

Tabelle 1: Chemikalien, Reagenzien und Kits

Substanz / Reagenz / Kits	Herstellerinformationen (Hersteller, Stadt, Land)
100 Bp <i>desoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure) (DNA) <i>ladder</i> (Leiter)	New England Biolabs GmbH, Frankfurt am Main, D
A β 3-42 for Primer TCCGGCCAGAACGTCGATTC	Eurofins Genomics GmbH, Ebersberg, D
A β 3-42 rev Primer GGAGAAGCAAGACCTCTGC	Eurofins Genomics GmbH, Ebersberg, D
Ameisensäure (Methanäure) (98%)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Aqua (steriles Reinswasser)	B. Braun AG, Melsungen, D
Avidin-Biotin-Complex (ABC)- Vectastain Kit	Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA
Borsäure (99,7%)	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Citronensäure-Monohydrat (99,5%)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
3,3'-Diaminobenzidin (DAB)- Peroxidase-Substrate-Kit SK4100	Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA
Desoxynukleosidtriphosphat (dNTP)	Invitrogen AG, Carlsbad, CA, USA
Destilliertes Wasser (dH ₂ O)	AG Bayer, Göttingen, D
Essigsäure (100%)	AppliChem GmbH, Darmstadt, D
Ethanol (EtOH) (99%)	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, D
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D

fetales Kälberserum (<i>fetal calf serum</i>) (FCS)	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
HD Green Plus DNA Stain	Intas Science Imaging Instruments GmbH, Göttingen, D
Hämatoxylin-Lösung	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Immersionsöl	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Isopropanol (2-Propanol)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Ketamin 10%	Medistar Arzneimittelvertrieb GmbH, Aidenbach, D
Kresylviolett	Fluka, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Lysepuffer	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Magnesiumchlorid (MgCl ₂)	Axon Labortechnik GmbH, Kaiserslautern, D
Milchpulver (fettarm)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Natriumacetat-Trihydrat	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Natriumchlorid (NaCl)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Natriumdodecylsulfat (<i>sodium dodecyl sulfate</i>) (SDS)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Paraffin	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Phosphatgepuffertes Paraformaldehyd (PFA) Roti®-Histofix 4%	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Phosphat-gepufferte Salzlösung (<i>phosphate-buffered saline</i>) (PBS)	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, D
Proteinase K	Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen, D
Reaktionspuffer (10x)	Axon Labortechnik GmbH, Kaiserslautern, D
Roti®- Histokitt Einbettmedium	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Saccharose D(+)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Taq-Polymerase	Axon Labortechnik GmbH, Kaiserslautern, D
Tris(hydroxymethyl)-aminomethanhydrochlorid (Tris/HCL)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Triton X-100™ (Alkylphenylenglykol)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D
Xylazinhydrochlorid (23,3 mg/ml)	Ecuphar GmbH, Oostkamp, B
Xylol	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, D

2.1.2 Antikörper

Für die Färbungen wurden Antikörper genutzt. In den folgenden Tabellen sind die primären (Tabelle 2) und sekundären (Tabelle 3) Antikörper mit dazugehörigen Herstellerinformationen aufgelistet.

Tabelle 2: Primäre Antikörper

Antikörper	Herstellerinformationen
24311 (Pan-A β , Rabbit)	AG Bayer, Göttingen, D

Tabelle 3: Sekundäre Antikörper

Antikörper	Herstellerinformationen
Biotin-SP-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (H + L)	Jackson ImmunoResearch Europe LTD., Cambridgeshire, UK

2.1.3 Elektronische Geräte und Programme

In den nachfolgenden Tabellen sind die für die Experimente genutzten elektronischen Geräte (Tabelle 4) und Computer-Programme (Tabelle 5) in alphabetischer Reihenfolge aufgeführt. Die Herstellerinformationen sind jeweils dazu vermerkt.

Tabelle 4: Elektronische Geräte

Geräte	Herstellerinformationen
Bio-Rad Elektrophoresekammer	Bio-Rad, Hercules, CA, USA
BlueCube 300	SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, D
Computar 2,8-12mm Objektiv	Computar, Commack, NY, USA
Heraeus Biofuge Stratos Zentrifuge	ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA
Heraeus Biofuge Pico	ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA
Heraeus Wärmeschrank	ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA
HistoCore Aradia C-Cold Plate	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, D
Kryostat CM3050	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, D
Laborwaage	OHAUS Europe GmbH, Greifensee, CH
Microtom Microm HM335	Microm, Walldorf, D

Mikroskop-Kamera Miticam Pro 282A	Motic Asia, Kowloon, Hong Kong, CHN
Mikroskop Olympus BX51	Olympus, Shinkuju, JPN
Mikrowelle NN-E201 WM	Panasonic, Kadome, JPN
NanoDrop One C Photospectrometer	ThermoFisher Scientific, Waltham, MA USA
Netzteil Elektrophorese MP-300V	Major Science, Saratoga, CA, USA
Paraffin Einbett-Station LEICA EG 1140 H	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, D
Perfusionspumpe Ismatec ISM861	Idex, Lake Forest, IL, USA
Thermocycler (Labcyler)	SensoQuest, Hamburg, D
Thermomixer compact	Eppendorf AG, Hamburg, D
Tissue Processor TP1020	Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, D
Vortex Genie 2	Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA
Wärmebad MEDAX	MEDAX GmbH + Co. KG, Neumünster, D

Tabelle 5: Programme

Programme	Herstellerinformationen
AnyMaze Video Tracking System	Stoelting Co., Wood Dale, IL, USA
BioRender	BioRender, Toronto, CAN
GraphPad Prism 9	GraphPad Software, San Diego, CA, USA
Image Studio Version 3.1	LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA
Microsoft Office 2007	Microsoft, Redmond, WA, USA
Motic Images Version 2.0	Motic Asia, Kowloon, Hong Kong, CHN
Pathfinder	Jason Snyder Lab, Vancouver, CAN
Stereo Investigator 7 Software	MicroBrightField Bioscience, Williston, VT, USA
Zotero V6.0.15	Roy Rosenzweig Center for History and New Media, George Mason University, Virginia, USA

2.1.4 Weitere verwendete Materialien

Außer der Reagenzien und elektronischen Geräte wurden weitere Hilfsmittel verwendet. In der folgenden Tabelle sind die sonstigen, in den Experimenten genutzten Produkte und Materialien (Tabelle 6) in alphabetischer Reihenfolge aufgelistet.

Tabelle 6: Weitere verwendete Materialien

Produkt	Herstellerinformationen
100 Sterican 0,90 x 70mm Kanüle	B. Braun, Melsungen, D
Einbettkassetten Rotilabo®	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, D
Elektrophoresekammer BlueMarine™ und 100 + 8 Kammer-Gelkamm 1mm	SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Einmal-Ferndosierungsspritze Omnican F 1ml	B.Braun, Melsungen, D
Eppendorf Cups	Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, D
Faltenfilter 150mm	HE Healthcare Life Science, Buckinghamshire, UK
IVC-Käfig	Tecniplast, Hohenpeißenberg, D
Lipidstift Pap Pen	Kisker Biotech, Steinfurt, D
Lukas Cryl Studio Premium-Acrylfarbe (Titanweiß)	Daler-Rowney Ltd., Bracknell, UK
Menzel-Gläser 24 x 60mm Deckgläschen	ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA
Microtome Blades C35	Feather, Osaka, JPN
Objektträger Superfrost®	ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA
PCR-Gefäße 0,2 ml	Greiner Bio One GmbH, Kremsmünster, A
Perfusionspumpe Ismatec ISM861	Idex, Lake Forest, IL, USA
Pipetten	Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, D
Tissue-Tek® O.C.T Compound Kleber	Sakura Finetek GmbH, Staufen, D
Transferpipetten 3,5 ml	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, D

2.2 Tiere

Zur Erfassung möglicher kognitiver Defizite, ausgelöst durch die Expression von $A\beta_{4-42}$, wurden homozygote Tiere des Tg4-42-Mausmodells in Verhaltensexperimenten getestet.

2.2.1 Haltungsbedingungen

Die Haltung und die Durchführung der Experimente entsprachen den Vorgaben der Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) und der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS). Alle Experimente wurden fachgerecht durchgeführt und vom Niedersächsischen Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit genehmigt. Die Aufzucht erfolgte unter spezifisch pathogenfreien Bedingungen in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universitätsmedizin Göttingen (UMG). Die Mäuse wurden geschlechtsgetrennt in einzelbelüfteten Käfigen (*individually ventilated cage*) (IVC) mit den Maßen 32cm Länge x 15cm Breite x 14,5cm Höhe gehalten. Dabei befanden sich zwei bis sechs Tiere zusammen in jeweils einem Käfig. Der Nahrungs- und Trinkzugang war freigestellt. Zur Akklimatisierung an die neue Umgebung, wurden die Tiere eine Woche vor Beginn der Verhaltensexperimente in einen Schrank zur Haltung von Versuchstieren im Labor überführt. Der Schrank war auf einen umgekehrten Tag-Nacht-Rhythmus von 12/12 Stunden eingestellt, sodass die Verhaltensexperimente in der Wachphase der Mäuse stattfanden.

2.2.2 Genetischer Hintergrund des Tg4-42-Mausmodells

Die in dieser Arbeit verwendete Tg4-42-Mauslinie basiert auf dem genetischen Hintergrund der C57Bl/6J. Auf Grund der exklusiven $A\beta_{4-42}$ -Expression erlaubt dieses Modell eine Einschätzung der Auswirkungen dieser N-trunkierten Variante auf das Lernverhalten.

2.3 Verhaltensexperimente

Die Verhaltensexperimente wurden mit weiblichen homozygoten Tg4-42-Mäusen ($n = 8-14$) im Alter von drei, sieben und 12 Monaten durchgeführt und fanden zwischen 9 und 17 Uhr statt. Zur Vermeidung von unerwünschten Beeinflussungen durch Stress oder Krankheit, wurden die Mäuse täglich gesichtet und wöchentlich gewogen. Die verwendeten Daten der Wildtypen (WT) wurden für die erneute Analyse zur Verfügung gestellt. Bei den WT handelte es sich um die C56/Bl/6J-Mauslinie (Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME, USA). Die Haltungsbedingungen der WT unterschieden sich nicht von den transgenen Mäusen. Zur Aufzeichnung und Auswertung der Verhaltensexperimente wurden das ANY-Maze Video Tracking System (Stoelting Co.) und eine Computar-Kamera verwendet. Um Ablenkungen durch die Gerüche anderer Mäuse vorzubeugen, wurden alle

Versuchsaufbauten, abgesehen vom Morris Water Maze, nach jedem Tier mit 70%igen Ethanol desinfiziert.

2.3.1 Elevated Plus Maze (erhöhtes Pluslabyrinth) (EPM)

Mit dem Elevated Plus Maze wurde das Angstverhalten und der natürliche Erkundungstrieb der Mäuse getestet (Pellow et al. 1985; Sestakova et al. 2013). Dieses Verhaltensexperiment basiert auf der natürlichen Aversion der Mäuse vor offenen bzw. exponierten Orten (Carola et al. 2002). Das X-förmige Labyrinth befand sich in 75cm Höhe und bestand aus jeweils zwei offenen und zwei geschlossenen Armen. Dabei waren die geschlossenen Arme mit einer 15cm hohen Wand umrandet, während die offenen von keiner Barriere umgeben waren. Die Arme umfassten jeweils 15x5cm und wurden durch das 5x5cm große Zentrum miteinander verbunden (Abbildung 6A).

Der Startpunkt war das Zentrum des Kreuzes. An dieser Stelle wurden die Tiere mit dem Kopf zu einem der offenen Arme zeigend platziert. Ein Versuchsdurchlauf dauerte fünf Minuten. Währenddessen erfolgte die Erfassung der zurückgelegten Distanz und der Zeit in den offenen Armen. Das Experiment fand unter Rotlicht statt, da die Mäuse unter dieser Bedingung schlechter sehen und optische äußere Reize reduziert werden konnten (Nikbakht und Diamond 2021).

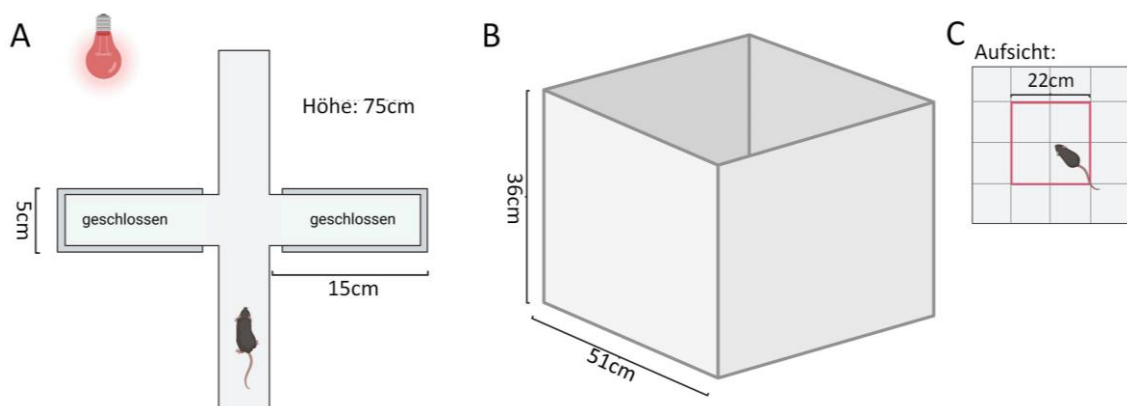


Abbildung 6: Elevated Plus Maze und Open Field (offenes Feldlabyrinth) (OF). Das EPM ist ein auf 75cm Höhe angehobenes kreuzförmiges Labyrinth mit jeweils zwei geschlossenen und zwei offenen Armen (A). Zur Vermeidung von Umwelteinflüssen wurde das Experiment unter Rotlicht durchgeführt. Der OF-Versuchsaufbau bestand aus einer Box mit quadratischer Grundfläche (B). Das für die Auswertung festgelegte Zentrum betrug 22x22cm (C).

2.3.2 Open Field

Das Open Field wurde ebenfalls zur Erfassung des Angst- und Explorationsverhaltens durchgeführt (Hall und Ballachey 1932; Carola et al. 2002; Sestakova et al. 2013). Darüber hinaus diente der Test auch der Erfassung von Defiziten der Lokomotorik (Seibenhener und Wooten 2015). Bei diesem Versuch wurde eine Box mit quadratischer Grundfläche mit

einer Seitenlänge von 51cm verwendet. Die Höhe der Wand betrug 36cm (Abbildung 6B). Jedes Versuchstier konnte die Box für fünf Minuten frei explorieren. Dabei startete die Maus in der Mitte der Grundfläche. Bei der Auswertung wurde erfasst, welche Distanz die Mäuse jeweils zurücklegten und wie lange sie sich jeweils im Zentrum oder am Rand aufhielten. Das Zentrum bildete eine vordefinierte Fläche von 22x22cm (Abbildung 6C).

2.3.3 Cross Maze (kreuzförmiges Labyrinth)

Das Cross Maze ist ein kreuzförmiges Labyrinth, mit dessen Hilfe das räumliche Arbeitsgedächtnis der Mäuse getestet wird (Wietrzych et al. 2005; Jawhar et al. 2012). Die Arme des verwendeten kreuzförmigen Versuchsaufbaus hatten die Maße 30x8x12cm und standen im Winkel von 90° zueinander. Das Zentrum hatte die Maße von 8x8cm (Abbildung 7A). Unter Rotlicht wurden die Mäuse jeweils für 10 Minuten, beginnend im Zentrum, im Cross Maze platziert. In dieser Zeit konnten sie ihre Umgebung frei explorieren, während die zurückgelegte Distanz und die Anzahl der Eintritte in die verschiedenen Labyrinth-Arme aufgezeichnet wurden.

Das Experiment stützte sich auf die Beobachtung bei jungen Mäusen mit intaktem Arbeitsgedächtnis, jeden Arm einzeln nacheinander zu erkunden, bevor ein Arm doppelt betreten wird (Wietrzych et al. 2005). Somit wurde ein erfolgreicher Ablauf als die Erkundung aller vier Arme nacheinander innerhalb von vier Armwechseln definiert (Abbildung 7B). Wenn jedoch ein Arm wiederholt betreten wurde, bevor sich die Maus in allen Armen nacheinander einmal aufgehalten hatte, so zählte dies als Misserfolg (Abbildung 7C).

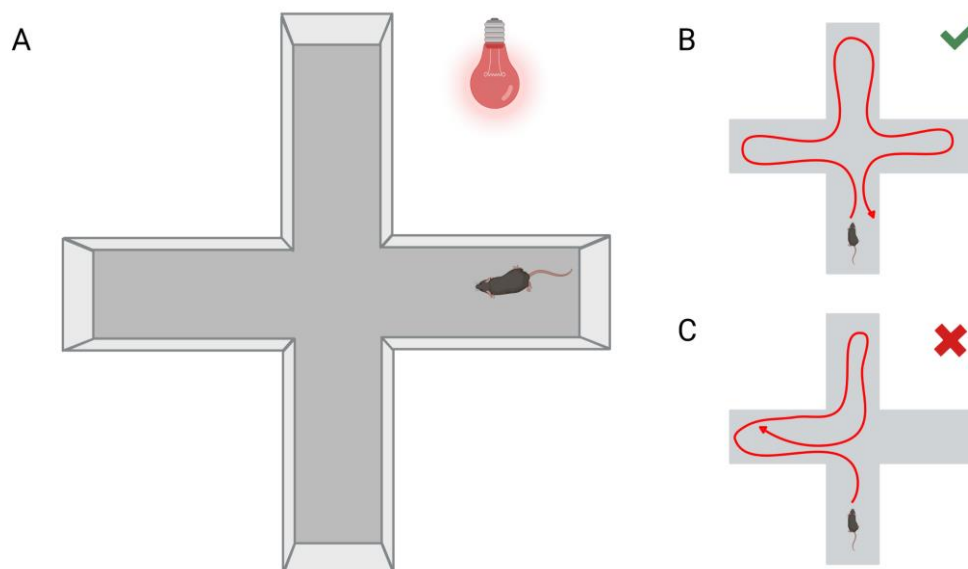


Abbildung 7: Cross Maze. Das Cross Maze ist ein kreuzförmiges Labyrinth mit dessen Hilfe das Arbeitsgedächtnis der Mäuse getestet wird. Der Versuch fand unter Rotlicht statt, um äußere optische Einflüsse zu reduzieren (A). Die Erkundung der vier Arme nacheinander wurde dabei als erfolgreich erachtet (B). Beim wiederholten Betreten eines Armes bevor die anderen erkundet wurden, wurde kein Erfolg verzeichnet (C).

2.3.4 Balance Beam (Balance Balken) (BB)

Balance Beam ist ein Test zur Erfassung der Balance und Feinmotorik der Mäuse (King et al. 1999). Der Versuchsaufbau bestand aus einem 1cm breiten und 50cm langen Holzstab mit rundem Querschnitt, der zwei Plattformen mit den Maßen von 9x15cm miteinander verband. Die Plattformen und der Holzstab befanden sich in 44cm Höhe und der Untergrund war gepolstert (Abbildung 8).

Damit die Mäuse die genaue Höhe nicht erkennen konnten, wurde das Experiment unter Rotlicht durchgeführt (Nikbakht und Diamond 2021). Vor dem eigentlichen Experiment gab es einen Probedurchlauf, bei dem die Mäuse jeweils in die Mitte des Holzstabes platziert und daraufhin zu einer Plattform geführt wurden. Zur Vermeidung von Stürzen während der Probephase, konnten die Mäuse bei Bedarf zur Unterstützung an ihren distalen Schwanzenden gehalten werden. Darauf folgten drei Testdurchläufe, bei denen jeweils eine Maus in der Mitte der Stange startete. Zwischen den maximal 60 Sekunden dauernden Durchläufen bekam jede Maus eine Erholungspause von jeweils 15 Minuten. Wenn eine Maus für 60 Sekunden auf dem Stab blieb oder es innerhalb der vorgegebenen Zeit zu einer der zwei Plattformen schaffte, wurden 60 Sekunden notiert, bei einem Sturz vor Ende der Tests, die bis dahin gemessene Zeit.

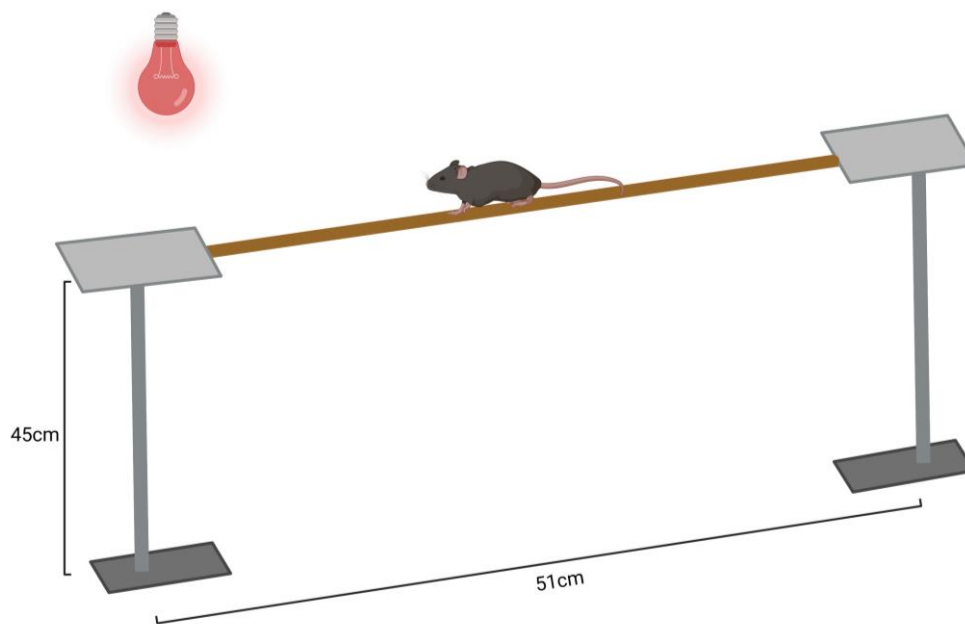


Abbildung 8: Balance Beam. Das Balance Beam besteht aus zwei Plattformen, die durch einen Holzstab miteinander verbunden sind. Das Experiment wurde unter Rotlicht durchgeführt.

2.3.5 Morris Water Maze

Das Morris Water Maze diente der Analyse des Hippokampus-abhängigen räumlichen Bezugsgedächtnisses (Morris 1984). Beim Versuchsaufbau handelte es sich um ein kreisrundes Becken mit einem Durchmesser von 110cm, welches mit weißgefärbtem

Wasser gefüllt war (Abbildung 9). Die Färbung des Wassers wurde durch nicht-toxische Acrylfarbe erreicht. In dem Becken befand sich eine Plattform mit einem Durchmesser von 10cm, die ca. 1cm hoch mit Wasser bedeckt war. Der Test gliederte sich in drei Phasen; dem *cued training* (Zieltraining), dem *acquisition training* (Erwerbstraining) (AT) und dem *probe trial* (Prüfungsdurchlauf) (PT).

Das am Anfang stehende *cued training* (Abbildung 9A) dauerte drei Tage, an denen jeweils vier Durchläufe pro Maus stattfanden. Zwischen den Durchläufen wurde mindestens eine Pause von zehn Minuten eingehalten, in der die Mäuse mit einer Rotlichtlampe getrocknet wurden, bevor ein weiterer Durchlauf startete. Während des *cued trainings* änderten sich sowohl die Start-, als auch die Endpositionen nach einem bestimmten Schema (Tabelle 7). Jede Maus hatte dann einzeln jeweils maximal eine Minute Zeit, um die Plattform zu finden. Als Hilfestellung diente eine Fahne, welche sich während dieser Trainingsphase auf der Plattform befand. Falls die Plattform nicht gefunden wurde, wurde die jeweilige Maus zu der Plattform geleitet.

Die zweite Phase war das fünftägige *acquisition training* (Abbildung 9B), bei dem die Plattform nicht mehr durch eine Fahne gekennzeichnet war. Stattdessen mussten sich die Mäuse an den vier Hinweisschildern (sog. *cues*), die in den Himmelsrichtungen Norden, Osten, Süden und Westen am Becken angebracht waren, orientieren. Die Plattform befand sich während des *acquisition trainings* immer an der gleichen Stelle, jedoch änderte sich die Startposition nach einem weiteren Schema (Tabelle 7). Die Mäuse befanden sich ebenfalls viermal täglich für jeweils maximal eine Minute im Wasser und wurden zwischen den Durchläufen unter einer Rotlichtlampe für mindestens 10 Minuten getrocknet. Auch in dieser Testphase wurden die Mäuse zur Plattform geleitet, sofern sie es innerhalb der 60 Sekunden nicht dorthin geschafft hatten.

24 Stunden nach dem *acquisition training* fand der *probe trial* statt. Beim *probe trial* wurde die Plattform entfernt, sodass die Mäuse jeweils für eine Minute in dem Becken schwammen und deren Suchverhalten aufgezeichnet werden konnte (Abbildung 9C). Der Startpunkt befand sich im Südosten des Beckens und war somit eine Lokalisation, die davor noch nicht genutzt wurde (Tabelle 7).

Während des *cued* und *acquisition trainings* wurde aufgezeichnet, wie viel Zeit die Mäuse benötigten, um die Plattform zu erreichen und welche durchschnittliche Schwimmgeschwindigkeit sie während des Suchvorganges erreichten. Im *probe trial* wurde ebenfalls die Schwimmgeschwindigkeit gemessen, jedoch darüber hinaus auch die Aufenthaltsdauer im linken (LQ), rechten (RQ), gegenüberliegenden (GQ) und im Zielquadranten (ZQ) innerhalb der ersten 30 Sekunden. Zur Analyse der genauen Suchstrategien (Absatz 2.4) erfolgte zuletzt auch die Erfassung des Aufenthaltsortes während des gesamten Durchlaufes.

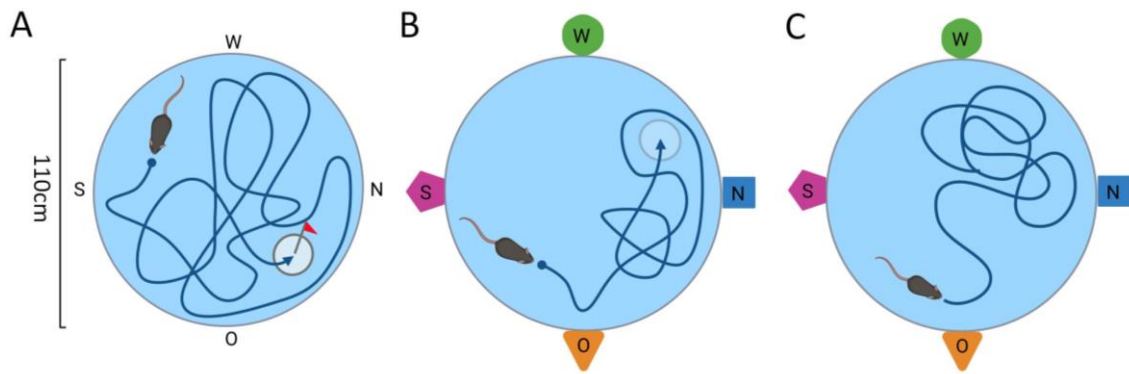


Abbildung 9: Morris Water Maze. Im *cued training* kennzeichnete eine Fahne die Plattform. Während dieser Phase änderte sich zwischen den Durchläufen sowohl die Lokalisation der Plattform, als auch die des Startpunktes (A). Beim AT war die Plattform von Wasser bedeckt und die Fahne wurde entfernt. Proximale und distale Hinweise dienten der Orientierung (B). Für den PT wurde die Plattform entfernt, während die Hinweise unverändert blieben (C).

Tabelle 7: Start- und Plattformpositionen beim MWM

<i>cued training</i>	1. Test		2. Test		3. Test		4. Test	
Tag	Start	Plattform	Start	Plattform	Start	Plattform	Start	Plattform
1	O	NO	W	SO	N	SO	S	SW
2	W	NO	S	NO	O	SO	N	NW
3	S	NW	N	NO	W	SW	O	NW

<i>acquisition training</i>	1. Test		2. Test		3. Test		4. Test	
Tag	Start	Plattform	Start	Plattform	Start	Plattform	Start	Plattform
1	NO	NW	O	NW	S	NW	SW	NW
2	S	NW	NO	NW	SW	NW	O	NW
3	SW	NW	S	NW	O	NW	NO	NW
4	O	NW	SW	NW	NO	NW	S	NW
5	SW	NW	NO	NW	S	NW	O	NW

<i>probe trial</i>	1. Test	
Tag	Start	Plattform
1	SO	entfernt

(N = Norden, O = Osten, S = Süden, W = Westen, NO = Nordosten, NW = Nordwesten, SW = Südwesten, SO = Südosten)

2.4 Analyse der Suchstrategien im Morris Water Maze

Zur weiterführenden Analyse des Verhaltens im MWM wurden die Schwimmrouten der Mäuse genauer betrachtet. Um eine gezieltere Analyse der Suchstrategien durchzuführen, wurde die neuartige Software namens Pathfinder von Cooke et al. (2020) verwendet. Anhand dieser Ergebnisse, wurde außerdem ein kognitives Punktesystem erhoben (Absatz 2.4.4).

2.4.1 Analyse-Parameter für Pathfinder

Zur Berechnung der Suchstrategien wurden verschiedene Parameter definiert und berücksichtigt. Der ideale Pfadfehler (IPF) ergab sich aus den gemittelten Abweichungen vom direkten Schwimmweg. Der Winkel, der sich aus der aktuellen Schwimmrichtung und einer gedachten geraden Linie zwischen Maus und Plattform bildete, ergab den Richtungsfehler (RF). Der Winkelkorridor (WK) war der Bereich, der sich zwischen zwei winkelbildenden Seiten, ausgehend von der Startposition, befand und beinhaltete die Zielplattform. Der Anulus war der ringförmige Bereich, in dem sich die Plattform in den verschiedenen Testdurchläufen befand. Die Thigmotaxis Zone war ebenfalls ein ringförmiger Bereich, allerdings am Rand des Beckens (Abbildung 10) (Cooke et al. 2020).

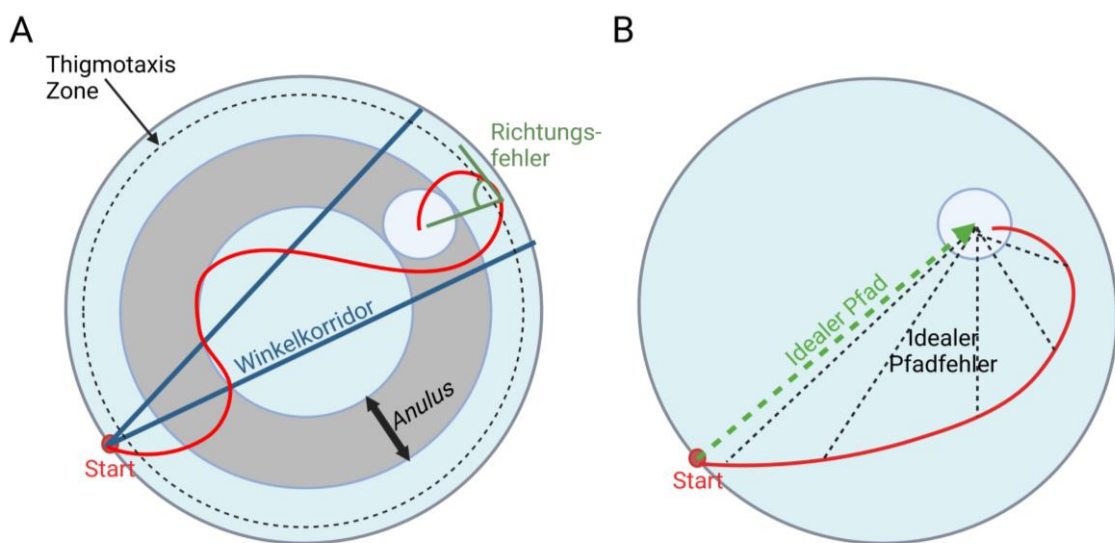


Abbildung 10: Definition der Analyse-Parameter. Der Winkelkorridor bildet sich aus den Katheten des Winkels an der Startposition und beinhaltet die Zielplattform. Die Thigmotaxis Zone befindet sich am Rand des Beckens. Der Anulus ist ein Ring mit der Breite der Plattform, und der Richtungsfehler gibt die Abweichung von der direkten Schwimmrichtung zur Plattform an (A). Wie weit entfernt sich die Maus durchschnittlich von der Plattform befindet, wird durch den idealen Pfadfehler berechnet (B). Erstellt nach Cooke *et al.* 2020.

2.4.2 Durchführung der Analyse mit Pathfinder

Zur Analyse wurden zuerst die Maße des Wasserbeckens in das Programm übertragen. Für den PT und das AT befand sich die Plattform bei x: 275mm und y: 775mm. Um falschen Analysen durch Variationen in der Plattformposition vorzubeugen, wurde ein Durchmesser von 200mm anstelle der eigentlichen 100mm definiert. Dementsprechend wurde auch die Breite des Anulus auf 200mm festgelegt. Der Winkel des Winkelkorridors betrug 40° und die Thigmotaxis Zone war 50mm breit.

Die Koordinaten der Schwimmrouten wurden mit der Anymaze Software mit einer Bildrate von 20/Sekunde erfasst und anschließend in eine Tabelle im *comma-separated values*

(csv)-Dateiformat überführt. Anhand der Koordinaten und der Beckenparameter konnten dann die Suchstrategien berechnet werden. Für die Analyse des *acquisition trainings* wurde das Schwimmmuster bis zum Erreichen der Plattform bewertet. Da es während des *probe trials* keine Plattform gab, zählte hierbei die Schwimmroute bis zum Erreichen der Plattformkoordinaten (*truncate trials when animal reaches goal location*) (Abbildung 11).

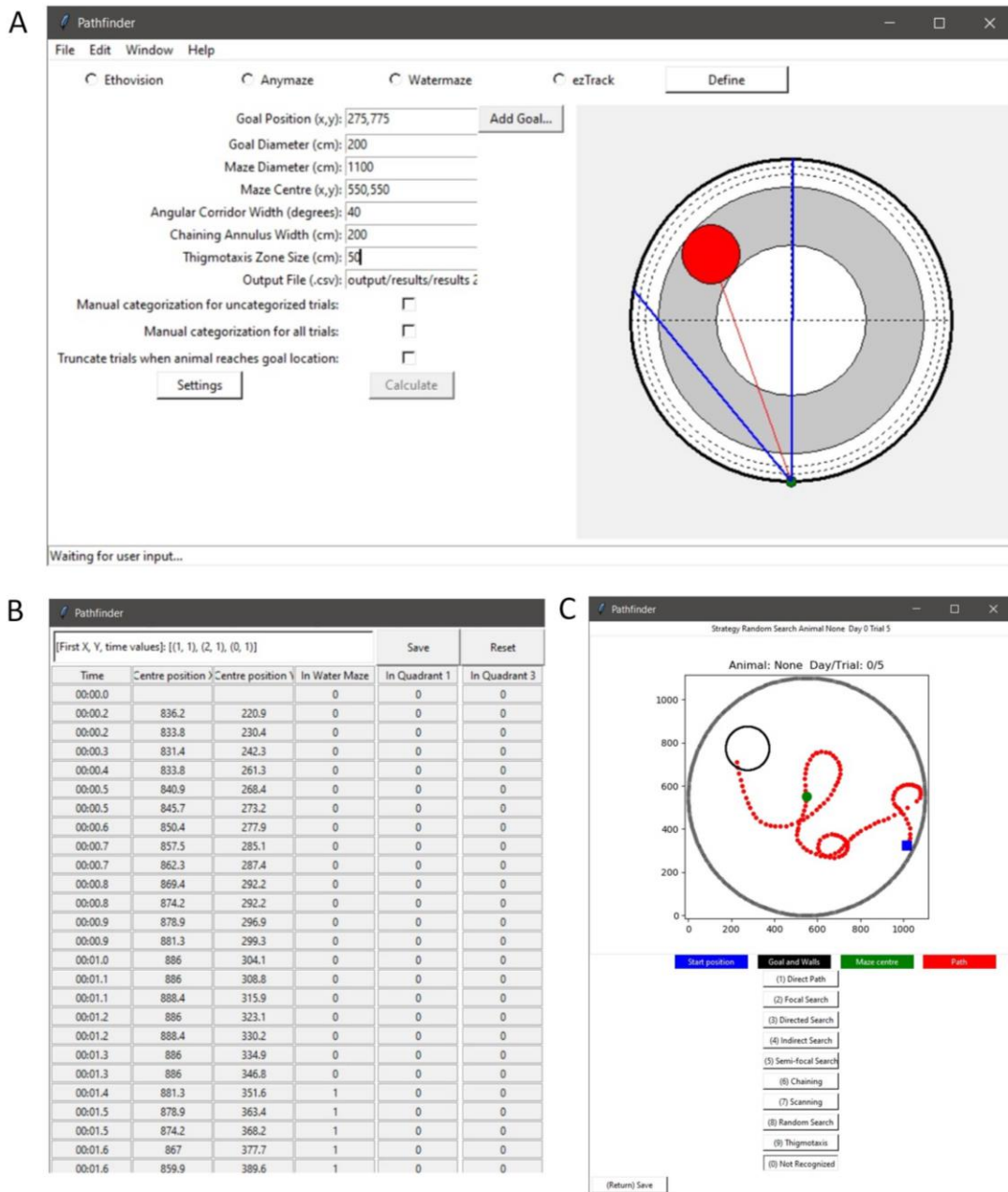


Abbildung 11: Die Analyseschritte mit Pathfinder. Zuerst wurden die entsprechenden Parameter in das Programm eingegeben (A). Die Koordinaten der Schwimmrouten entsprachen einem tabellarischen Aufbau (B). Anhand der Parameter und der Koordinaten erfasste die Software den Schwimmpfad und berechnete die Suchstrategie (C).

2.4.3 Definitionen der Suchstrategien

Durch vordefinierte Parameter (Tabelle 8) ist es möglich zwischen acht Suchstrategien zu unterscheiden (Cooke et al. 2020). Falls keine Zuteilung einer Strategie auf Grund von Aufzeichnungsfehlern möglich war, wurde dies von dem Programm vermerkt (*not recognized*). Die Suchstrategien konnten in Hippokampus-abhängige bzw. räumlich spezifische und Hippokampus-unabhängige Muster unterschieden werden.

Zu den räumlich spezifischen und Hippokampus-abhängigen Strategien zählten der *direkte Pfad*, die *gerichtete Suche*, die *Schwerpunktsuche* und die *indirekt gerichtete Suche* (Rogers et al. 2017; Cooke et al. 2020). Der *direkte Pfad* war die nahezu gerade Verbindung zwischen der Startposition und der Zielplattform, wobei nur minimale Abweichungen toleriert wurden. Bei der *gerichteten Suche* wurden wiederum auch etwas größere Ausschläge der Schwimmbahn erlaubt. Die *Schwerpunktsuche* war eine gezielte, jedoch räumlich eingeschränkte Suchstrategie, bei der sich die Mäuse größtenteils auf einen Bereich konzentrierten und den Beckenrand mieden. Wenn der Schwimmpfad gezielt war, jedoch auch einen größeren gemittelten Richtungsfehler beinhaltete, handelte es sich um die *indirekt gerichtete Suche*.

Zu den Hippokampus-unabhängigen und räumlich unspezifischen Strategien gehören das *Kreisen*, *Scannen*, *zufällige Schwimmen* und die *Thigmotaxis*. Beim *Kreisen* hielten die getesteten Mäuse größtenteils einen ähnlichen Abstand zum Beckenrand ein. Beim *Scannen* und dem *zufälligen Schwimmen* handelte es sich um ungezielte Bewegungen. Der Unterschied zwischen diesen beiden Strategien war, dass sich die Mäuse beim *Scannen* eher zentral aufhielten und für das *zufällige Schwimmen* mindestens 10% der Beckenfläche durchquert werden musste. *Thigmotaxis* definiert das kreisende Schwimmen entlang der Beckenrandbegrenzung, welches des Öfteren mit Angst oder Defiziten egozentrischer Bezugssysteme in Verbindung gebracht wird (Abbildung 12) (Simon et al. 1994; Devan et al. 1999; Higaki et al. 2018; Cooke et al. 2020).

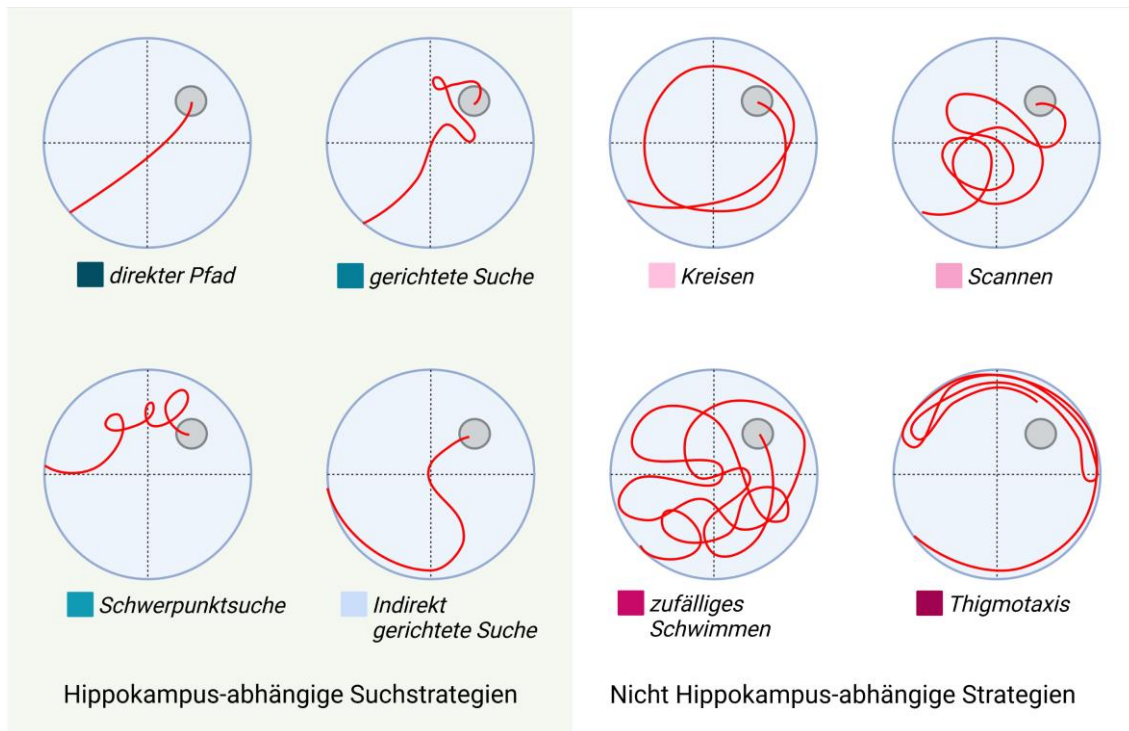


Abbildung 12: Hippokampus-abhängige und -unabhängige Suchstrategien. Die räumlich spezifischen und Hippokampus-abhängigen Suchstrategien sind grau hinterlegt dargestellt. Die räumlich unspezifischen Schwimmuster befinden sich auf weißem Hintergrund. Erstellt nach Curdt *et al.* 2022.

Tabelle 8: Parameter zur Definition der Suchstrategien

Strategie	Parameter
Direkter Pfad	IPF $\leq 1250,0\text{mm}$ RF $\leq 40^\circ$
Gerichtete Suche	Zeit im WK $\geq 70\%$ Zurückgelegte Distanz $\leq 4000,0\text{mm}$ IPF $\leq 15000,0\text{mm}$
Schwerpunktsuche	Abstand zum direkten Weg $\leq 30,0\%$ des Radius Abstand zur Plattform $\leq 30\%$ des Beckenradius Minimal zurückgelegte Distanz $\geq 1000,0\text{mm}$ Maximal zurückgelegte Distanz $\leq 4000,0\text{mm}$
Indirekt gerichtete Suche	IPF $\leq 3000,0$ Gemittelter RF $\leq 360^\circ$
Kreisen	Zeit im Anulus $\geq 90,0\%$ Durchquerte Quadranten = 4 Durchquerte Fläche $\leq 40\%$
Scannen	Minimal durchquerte Fläche $\geq 5\%$ Maximal durchquerte Fläche $\leq 20\%$ Gemittelter Abstand zum Zentrum $\leq 60\%$ des Beckenradius
Zufälliges Schwimmen	Durchquerte Fläche $\geq 10\%$
Thigmotaxis	Zeit in der ganzen <i>Thigmotaxis</i> Zone $\geq 65\%$ Zeit in der kleineren <i>Thigmotaxis</i> Zone $\geq 35\%$ Zurückgelegte Distanz $\geq 4000,0\text{mm}$

2.4.4 Erstellung eines Punktesystems für die Suchstrategien

Für eine weiterführende Analyse wurde ein kognitives Punktesystem erhoben. Angelehnt an Illouz *et al.* (2016) wurden Hippokampus-abhängige Suchstrategien mit höheren Punktzahlen bewertet als die räumlich unspezifischen. Mit aufsteigender räumlicher Spezifität wurden folgende Punkte vergeben: *Thigmotaxis* = 0, *zufälliges Schwimmen* = 1, *Scannen* = 2, *Kreisen* = 3; *indirekt gerichtete Suche* = 4, *Schwerpunktsuche* = 4, *gerichtete Suche* = 5, *direkter Pfad* = 6. Der *indirekt gerichteten* und *Schwerpunktsuche* wurden die gleichen Punktzahlen gegeben, da beide per Definition gezielte Suchstrategien sind, die sich vor allem in der Örtlichkeit unterscheiden und weniger in der Qualität. Jeder Testdurchlauf wurde einzeln bewertet, für einen Tag gemittelt und auf sechs normiert.

2.5 Tötung der Mäuse und Entnahme des Gewebes

Sowohl die Perfusion (Absatz 2.5.1) als auch der Genickbruch (Absatz 2.5.2) wurden ausschließlich unter Anästhesie der Mäuse durchgeführt. Dazu wurden jeder Maus gewichtsadaptiert zwischen 200- und 300µl eines Anästhetikums (10% Xylazin; 20% Ketamin; 70% H₂O) durch fachkundiges Personal verabreicht. Sobald der Zwischenzehenreflex ausblieb, konnten die Tötungsmethoden durch autorisierte Mitarbeiter angewandt werden.

2.5.1 Perfusion

Für die Perfusion wurden die Mäuse unter Anästhesie mit Nadeln auf der Perfusionsplatte fixiert und die Haut, der Thorax und das Abdomen in spezieller Technik so präpariert, dass der linke Ventrikel sichtbar wurde. Darauf folgten die Punktion der linken Herzkammer mit einer 100 Sterican 0,90x70mm Kanüle und eine kleine Inzision der rechten Herzkammer, unter Fixierung des schlagenden Herzens mit einer Pinzette. Nach erfolgreicher Punktion, konnte über die Perfusionspumpe zunächst 4°C-kaltes 0,01M PBS durch die Kanüle in den Blutkreislauf gegeben werden, wodurch das Blut durch die Inzision der rechten Herzkammer heraus gespült wurde. Im Anschluss fand der gleiche Vorgang nochmals mit 4%iger PFA-Lösung statt. Um *post mortem* einen Nachweis des Transgens durchführen zu können, wurde auch eine Schwanzbiopsie entnommen und bei -80°C tiefgefroren.

2.5.2 Zervikale Dislokation

Die zervikale Dislokation fand ebenfalls unter Anästhesie statt. Dafür wurde die Maus in Bauchlage im Genick durch eine flachaufgelegte Pinzette fixiert und mit der freien Hand ein ruckartiger Zug an der Schwanzbasis ausgeübt. Anschließend erfolgte ebenfalls eine Schwanzbiopsie zur stichprobenartigen Transgenbestimmung.

2.5.3 Entnahme des Gehirns

Nach der durchgeführten zervikalen Dislokation (Absatz 2.5.2) bzw. der Perfusion (Absatz 2.5.1) folgte die Dekapitation mit einer Schere. Anschließend wurde das Gewebe von der Schädelkalotte gelöst und der Knochen freigelegt. Dann konnten mit einer kleinen chirurgischen Schere drei Schnitte von kaudal nach rostral vorgenommen werden; einer jeweils links und rechts entlang des Schläfenbeins (*Os temporale*) und einer sagittal, entlang der Pfeilnaht (*Sutura sagittalis*). Mit einer Pinzette wurde im nächsten Schritt der Schädelknochen entfernt. Darauf folgte die Entnahme des Gehirns. Im Anschluss wurden die Hemisphären mit einem Skalpell voneinander getrennt und einzeln verwahrt. Die Hemisphären dienten im weiteren Verlauf der Anfertigung von Hirnschnitten (Absatz 2.7).

2.6 Nachweis des Transgens

Trotz homozygoter Züchtung der Tg4-42-Mäuse, wurden stichprobenartig Nachgenotypisierungen zum Nachweis des Transgens durchgeführt. Dies diente der Kontrolle und dem Erhalt der Mauslinie. Dafür wurden eine DNA-Isolierung aus *post mortem* entnommenen Schwanzbiopsien mit anschließender Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*) (PCR) und eine Gel-Elektrophorese durchgeführt.

2.6.1 DNA-Isolierung aus Schwanzbiopsien

Von den Schwanzbiopsien (Absatz 2.5) wurden zuerst ca. 2x2mm große Stücke einzeln mit jeweils 500µl Lysepuffer [200mM Tris/HCl pH 8,5; 10mM EDTA (M 292,25); 0,4% Natriumdodecylsulfat (*sodium dodecyl sulfate*) (SDS); 400mM NaCl₂ (M 58,44)] und 5µl Proteinase K (10µl/1ml in wässriger Lösung) in ein 1,5ml großes Reaktionsgefäß gegeben und für ca. 20 Stunden über Nacht bei 54°C auf einem Thermomixer bei 400U/min inkubiert. Nachdem das Gewebe lysiert war, erfolgte eine zwanzigminütige Zentrifugation bei 4°C und 17000U/min. Im nächsten Schritt wurden jeweils 500µl Isopropanol in neue beschriftete Reaktionsgefäße auf Eis vorgelegt, der Probenüberstand hinzupipettiert und alles zusammen kurz geschwenkt, bis DNA-Präzipitat sichtbar war. Es folgte nochmals eine Zentrifugation für 10 Minuten bei 13000U/min und Raumtemperatur. Im Anschluss wurde der Überstand abpipettiert und verworfen, wobei ein Pellet im Reaktionsgefäß zurückblieb. Das Pellet wurde dann mit 500µl 70% Ethanol gewaschen und anschließend nochmals für 10 Minuten bei 13000U/min zentrifugiert. Nach dem Abkippen des Überstandes trocknete das Pellet für mindestens 45 Minuten mit geöffnetem Deckel im Thermoblock bei 54°C. Zur Vermeidung von Verunreinigungen wurden die geöffneten Gefäße dabei mit einem sauberen Tuch abgedeckt. Nachdem das Pellet getrocknet war, wurde es mit 70µl Aqua bei 54°C auf dem Thermoblock gelöst und anschließend über Nacht bei 4°C verwahrt.

2.6.2 Messen der DNA Konzentrationen

Um die DNA-Konzentrationen und Verunreinigungen der einzelnen Proben zu messen, wurde das NanoDrop One C Spectrophotometer verwendet. Dazu wurde zunächst mit 1µl Aqua geeicht und anschließend jeweils 1µl der ausreichend gemischten Probe gemessen. Nach jeder Messung fand eine Reinigung der Messstelle mit trockenen Tüchern statt. Mit einem Extinktionskoeffizienten von mehr als 1,7 für A260/A280 und A260/A230 wurden die Proben als rein und konzentriert genug gewertet. Zuletzt wurden mit den Proben und Aqua Verdünnungen von 20ng/µl hergestellt.

2.6.3 Amplifizierung durch Polymerase-Kettenreaktion

Für die PCR wurde zunächst auf Eis ein Master Mix [0,5µl Primer 1 Aβ₃₋₄₂ for (100pmol/µl); 0,5µl Primer 2 Aβ₃₋₄₂ rev (100pmol/µl); 2µl dNTP's; 3,2µl MgCl₂ (25mM); 2µl 10x Reaktionspuffer; 9,6µl H₂O; 0,2µl Taq-Polymerase] für alle Proben angesetzt. Ein Reaktionsansatz bestand aus jeweils 18µl des PCR-Master Mixes und 2µl der verdünnten Probe (Absatz 2.6.2). Diese Ansätze, eine Positiv- und eine Negativkontrolle wurden dann in 0,2ml-PCR Gefäßen im LabCycler nach Protokoll amplifiziert (Tabelle 9).

Tabelle 9: PCR-Protokoll zur Nukleinsäuren-Amplifizierung

Schritt	Dauer	Temperatur
1)	3 Minuten	94°C
2)	45 Sekunden	94°C
3)	1 Minute	58°C
4)	1 Minute	72°C
5)	35x Wiederholung der Schritte 2-4	s.o.
6)	5 Minuten	72°C
7)	Ohne Zeitlimit	4°C

2.6.4 Gel-Elektrophorese

Die Analyse der amplifizierten DNA (Absatz 2.6.3) erfolgte mittels Gel-Elektrophorese auf einem 2%igen Aggarosegel. Dafür wurden zuerst 50ml 5x Tris-Borat-EDTA (TBE)-Puffer [pH 8,3; für 1 Liter: 54,5g/l Trisbase; 27,8g/l Borsäure; 20ml 0,5M Na₂EDTA pH 8; auf 1000ml dH₂O aufgefüllt] und 200ml dH₂O abgemessen und vermischt. 215ml des TBE Puffers diente am Ende als Medium für die Elektrophorese. Die restlichen 35ml wurden mit 0,7g Aggarose versetzt und in der Mikrowelle bei 200W gelöst. Dabei musste der Ansatz bis zur vollständigen Lösung der Aggarose mehrfach bis zum Sieden erhitzt und anschließend geschwenkt werden. Nachdem die Lösung unter dem Laborabzug auf 65°C abgekühlt war, wurden 2µl HD Green Plus DNA Stain dazupipettiert und nochmals alles geschwenkt. Anschließend konnte das noch flüssige Gel in die Form gegossen werden. Nachdem das Gel für mindestens 20 Minuten unter dem Laborabzug abgekühlt und fest geworden war, wurde es in die Elektrophoresekammer gelegt und mit dem restlichen TBE-Puffer bedeckt. Die Beladung des Aggarosegels erfolgte mit jeweils 10µl des

Probengemisches [10µl Probe mit 2µl Ladepuffer]. Außerdem wurden ebenfalls die Negativ- und Positivkontrolle und eine als Referenz dienende 100bp DNA-*ladder* aufgetragen. Danach lief die Elektrophorese bei einer Spannung von 135V für 30 Minuten. Für die Auswertung wurde der BlueCube 300 verwendet und eine Belichtungszeit von 3000-4000ms eingestellt. Bei dem Licht handelte es sich um UV-Licht mit einer Wellenlänge von 312nm.

2.7 Anfertigung und Färbung der Hirnschnitte

Die entnommenen Gehirne der perfundierten Mäuse (Absatz 2.5.1) wurden mit einem Skalpell in ihre zwei Hemisphären geteilt, von denen jeweils die linke bei -80°C gefroren und die rechte in Paraffin eingebettet wurde. Bei den perfundierten Mäusen dienten die gefrorenen Hemisphären später der Quantifizierung von Nervenzellen mittels Design-basierter Stereologie (Absatz 2.8). Aus der rechten Hemisphäre und den Hemisphären der mittels zervikaler Dislokation getöteten Mäuse (Absatz 2.5.2) wurden Paraffinschnitte für die DAB-Färbung (Absatz 2.7.3) angefertigt (Abbildung 13).

2.7.1 Anfertigung der Hirnschnitte mit dem Mikrotom

Die entnommenen Hemisphären wurden zuerst in beschriftete Einbettkassetten in 4%iges PFA bei 4°C gegeben. Nach mindestens 72h konnte das Hirngewebe mit Hilfe der TP Automatic Tissue Processor nach folgendem Protokoll weiterverarbeitet werden: 5 Minuten in 4%igem PFA; 30 Minuten dH₂O; jeweils 1 Stunde in 50%-, 60%-, 70%-, 80%- und 90%igen Ethanol, 2x 1 Stunde 100%igen Ethanol; 1 Stunde Xylol; 2x 1 Stunde in geschmolzenem Paraffin. Im nächsten Schritt wurden die Hemisphären einzeln mit der Schnittfläche nach unten zeigend in den Einbettkassetten positioniert. Diese Positionierung ermöglichte später die Anfertigung von Sagittalschnitten. Darauf folgte das Übergießen mit erwärmtem, flüssigem Paraffin mit Hilfe der EG1150 H Embedding Station. Nachdem die mit Paraffin gefüllten Einbettkassetten auf der EG1150 C Kühlplatte abgekühlt waren, wurden mit dem HM355E Mikrotom 4µm dicke Schnitte angefertigt und in ein Bad mit dH₂O gegeben. Nach dem Aufziehen auf beschriftete Superfrost® Objektträger entfalteten sich die Schnitte in einem Paraffinstreckbad in auf 54°C erwärmten dH₂O. Zum Trocknen wurden die beladenen Objektträger zuerst für 10 Minuten auf den beheizten Rand des Paraffinstreckbades gelegt und im Anschluss über Nacht bei 37°C in den Wärmeschrank gestellt (Abbildung 13). Nach vollständiger Trocknung konnte die immunhistochemische Färbung durchgeführt werden (Absatz 2.7.3)

2.7.2 Anfertigung der Hirnschnitte mit dem Kryostat

Das Hirngewebe der perfundierten Mäuse (Absatz 2.5.1) diente der stereologischen Analyse. Dafür wurden die linken Hemisphären nach der Perfusion mit 0,01M PBS in 4%igem PFA bei 4°C gelagert. Nach mindestens 72 Stunden wurden die Hirne aus dem

PFA entnommen und in eine 30%iger Lösung aus Saccharose und 0,01M PBS umgebettet. Darin befanden sich die Hemisphären nochmals bei 4°C, bis sie zu Boden sanken. Nach diesem Prozess konnten sie auf Trockeneis eingefroren und bei -80°C verwahrt werden.

Um die Hemisphären zu schneiden, wurden sie jeweils bei -25°C im CM1850 UV Kryostat mit Tissue-Tek-Kleber eingebettet. Der nächste Schritt war die Anfertigung von 30µm dicken Koronarschnitten (Abbildung 13). Die Schnitte wurden dann auf 10 durchnummerierte Probenbehälter verteilt, sodass jedes Gefäß jeden zehnten Schnitt enthielt. In den Gefäßen konnten sie entweder bei -80°C gefroren oder direkt weiterverarbeitet werden. Um die Hirnschnitte auf Superfrost® Objektträger aufzuziehen, musste zuerst der Tissue-Tek-Kleber mit eisgekühltem 0,01M PBS in den Probenbehältern aufgelöst werden. Nach 5 Minuten wurden die Schnitte in eine Glasschale gekippt und mit Hilfe eines feinen Pinsels auf Objektträger aufgezogen. Nachdem die Schnitte angetrocknet waren, wurden sie nochmals zum Trocknen für mindestens 24 Stunden bei 37°C in den Wärmeschrank gestellt. Nach Ablauf der 24 Stunden konnte die Kresylviolett-Färbung (Absatz 2.7.4) durchgeführt werden.

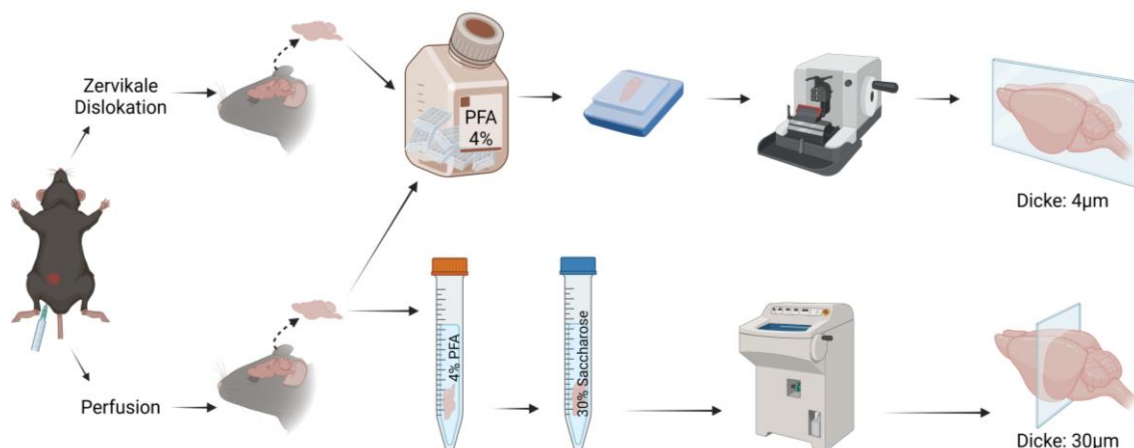


Abbildung 13: Präparation des Hirngewebes. Nach der Injektion eines Anästhetikums wurden die Mäuse mittels Perfusion oder zervikaler Dislokation getötet. Eine von den Hemisphären der perfundierten Tiere wurde entnommen und zunächst in PFA und später in Saccharoselösung überführt. Aus diesem Gewebe konnten dann mit Hilfe des Kryostats 30µm dicke Koronarschnitte hergestellt werden (unteres Flussdiagramm). Die andere Hemisphäre und die der mittels Genickbruch getöteten Mäuse fanden bei der Erstellung 4µm dicker Sagittalschnitte Verwendung. Dafür wurden diese in Einbettkassetten in PFA gegeben und später mit Paraffin eingebettet (oberes Flussdiagramm).

2.7.3 DAB-Färbung von Paraffinschnitten

Für die DAB-Färbung mussten die Paraffinschnitte (Absatz 2.7.1) zunächst in einem Färbeeinsatz in Färbeküvetten für 2x5 Minuten mit Xylol entparaffiniert werden. Danach fand eine Hydrierung statt, bei der die beladenen Objektträger für zehn Minuten in

100%iges Ethanol, anschließend für fünf Minuten in 95%iges Ethanol, dann für fünf Minuten in 70%iges Ethanol und zuletzt für eine Minute in dH₂O gestellt wurden.

Für den folgenden Peroxidase-Block wurden 200ml 0,01M PBS mit 2ml 30%igem H₂O₂ in einer weiteren Färbeküvette vermischt und die Schnitte im Färbeeinsatz für 30 Minuten hineingegeben. Nach einer einminütigen Spülung mit dH₂O erfolgte die Antigendemaskierung. Dafür wurden die Schnitte in einer Plastikkuvette für zehn Minuten im 10mM Zitratpuffer (pH 6,0) in die Mikrowelle gestellt (800 W bis zum Sieden; dann 200 W). Danach mussten sie für 15 Minuten im gleichen Zitratpuffer bei Raumtemperatur abkühlen und im Anschluss nochmal für eine Minute mit dH₂O gewaschen werden. Für die Permeabilisierung der Membrane wurden die Schnitte für 15 Minuten in 0,01M PBS + 0,1% Triton gegeben und anschließend wieder eine Minute in dH₂O gespült. Darauf folgte eine A β -Demaskierung, für die die Schnitte für drei Minuten in 88%iger Ameisensäure inkubiert wurden. Im Anschluss folgten weitere Waschschriffe mit 0,01M PBS (1 Minute 0,01M PBS; 5 Minuten 0,01M PBS).

Zur Vermeidung der Bindung des Antikörpers an nicht-spezifische Bindestellen wurde ein unspezifischer Block mit einer Suspension aus 0,01M PBS, 10% FCS und 4% Milchpulver durchgeführt. Dafür erfolgte eine Umrandung der Schnitte auf den Objektträgern mit einem Fettstift. In die so entstandenen Kreise konnte dann die Suspension pipettiert werden. Die einstündige Inkubation fand bei Raumtemperatur in Inkubationsboxen mit geschlossenem Deckel statt. Danach wurde die Suspension von den Objektträgern abgeschüttelt. Der nächste Schritt war die Inkubation des primären Antikörpers durch einen erstellten Ansatz aus 0,01M PBS mit 10% FCS und dem A β -bindenden Antikörper (1:500) (Tabelle 2). Dieser Ansatz verblieb über Nacht bei Raumtemperatur auf den Objektträgern. Die Inkubationsboxen waren dabei ebenfalls mit einem Deckel verschlossen.

Der Folgetag begann mit einem Waschvorgang, um die überschüssigen Antikörper zu entfernen. Dabei wurden die Schnitte für 15 Minuten in 0,01M PBS + 0,1% Triton, unter gelegentlichem Auf- und Abbewegen des Färbeeinsatzes, gewaschen und anschließend für eine Minute in 0,01M PBS gestellt. Darauf folgte die Inkubation mit dem sekundären Antikörper (Tabelle 3) in 0,01M PBS und 10 % FCS im Verhältnis von 1:200. Die Inkubationszeit betrug eine Stunde bei 37°C im Wärmeschrank. Währenddessen wurde die ABC-Lösung mit Hilfe des VECTASTAIN Elite ABC-Kits angesetzt (0,01 M PBS; 10 % FCS; 1:100 Lösung A; 1:100 Lösung B) und bis zum Einsatz bei 4 °C aufbewahrt. Nach Ablauf der Inkubationszeit erfolgte nochmals ein Waschschriff für 15 Minuten in 0,01M PBS unter gelegentlichem Auf- und Abbewegen der Objektträger in der Färbeküvette. Die bereits angesetzte ABC-Lösung wurde danach auf die in den Inkubationsboxen liegenden Objektträger gegeben und bei 37°C inkubiert. Nach 1,5 Stunden konnten die beladenen Objektträger wieder in den Färbeeinsatz gestellt und für 15 Minuten in 0,01M PBS gewaschen werden, bevor die DAB-Färbung begann.

Für die Färbung wurde mit Hilfe des DAB-Peroxidase-Substrate-Kit nach Herstellerangaben eine Lösung hergestellt, die im Anschluss so lange auf die Schnitte gegeben wurde, bis die gewünschte Farbtintensität erreicht war. Sobald die Färbung angemessen war, wurde das restliche DAB abgetropft und die Schnitte nochmals für 15 Minuten in 0,01M PBS gewaschen. Die gemessene Zeit bis zur gewünschten Intensität war dabei für alle Schnitte gleich. Die Gegenfärbung erfolgte mit Hämatoxylin (40 Sekunden Hämatoxylin; 1 Minute dH₂O; 5 Minuten unter laufendem Leitungswasser). Danach wurden die Hirnschnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (1 Minute 70%iges Ethanol, 5 Minuten 95%iges Ethanol; 10 Minuten 100%iges Ethanol; 2 x 5 Minuten Xylol) dehydriert und zum Schluss mit 1-2 Tropfen des Roti®-Histokit Eindeckmediums und Deckgläschen eingedeckt.

2.7.4 Färbung mit Kresylviolett

Für die Kresylviolett-Färbung wurden die 30µm dicken Hirnschnitte (Absatz 2.7.2) verwendet. Nachdem die Schnitte auf Objektträger aufgezogen und über Nacht bei 37 °C getrocknet waren, konnte die Färbung beginnen. 24 Stunden vor dem Färbeablauf wurden 100ml einer 1M Natriumacetatlösung angesetzt, womit die *Arbeitslösung A* (40ml 1M Natriumacetatlösung; 9,6ml 100%ige Essigsäure; aufgefüllt auf 1l mit dH₂O) hergestellt wurde.

Dann folgte die Herstellung der *Färbelösung*, die aus 0,1g Kresylviolettacetat und 1l der *Arbeitslösung A* bestand. Diese musste über Nacht unter Lichtschutz auf einem Thermomixer bei Raumtemperatur gerührt und am Folgetag filtriert werden. Für die Färbung wurde außerdem eine Tritonlösung (0,2ml Triton; 9,8ml dH₂O) angesetzt, welche wiederum der Herstellung der *Arbeitslösung B* (2,5ml Tritonlösung; 50 ml dH₂O; 150 ml 100%iges Ethanol) diene.

Der erste Schritt des Färbeprozesses war die Delipidation, bei der sich die Objektträger im Färbeeinsatz für 2x10 Minuten in *Arbeitslösung A*, 20 Minuten in *Arbeitslösung B* und wieder 2x10 Minuten in *Arbeitslösung A* befanden. Bei der anschließenden Färbung wurden die Schnitte lichtgeschützt für 2x8 Minuten in die Kresylviolett-Lösung gegeben. Alle folgenden Schritte fanden weiterhin unter Lichtabschluss statt. Für die Dehydratation wurden die Schnitte 3x1 Minute in die *Arbeitslösung A* gegeben und danach unter dem Abzug für drei Minuten in 100%igen Ethanol, für zehn Minuten in Isopropanol und für 2x5 Minuten in Xylol getaucht. Die Eindeckung der Hirnschnitte erfolgte mit Hilfe von 1-2 Tropfen Roti®-Histokit Eindeckmedium und Deckgläsern unter Lichtabschirmung.

2.8 Quantifizierung der Nervenzellen in CA1

Die Design-basierte Stereologie ist eine Methode zur Quantifizierung von Zellen. Diese Methode kam auch bei der Ermittlung des Nervenzellverlustes in CA1 der Tg4-42-Mäuse

zum Einsatz ($n = 5-6$). Dafür wurde das BX51 Mikroskop mit motorisiertem Objektisch und die Stereo Investigator Software verwendet. Die durchgeführte Kresylviolett-Färbung (Absatz 2.7.4) färbte die Zellkerne an und machte sie somit sichtbar. Bei der Zählung eingeschlossen waren die Koronarschnitte zwischen Bregma -1.80mm und $-3,5\text{mm}$ (Abbildung 14B).

Zunächst wurde die CA1-Region mit einem 4x-Objektiv eingestellt und mit Hilfe der Stereo Investigator Software umrandet. Die Zählung erfolgte mit einer 100x-Öl-Immersionlinse nach dem Grundprinzip der Design-basierten Stereologie (Schmitz und Hof 2005). Dafür wurden von der Software mit Hilfe eines Gitternetzes mit den Maßen $49 \times 105 \mu\text{m}$ zufällig quadratische Zählrahmen (Kantenlänge: $14 \mu\text{m}$) innerhalb des umrandeten Bereichs platziert. Die *optical disector height* (optische Dissektorhöhe) von $5 \mu\text{m}$ ergänzte den Zählbereich in die Tiefe, was eine Quantifizierung in drei Dimensionen ermöglichte. Die *top guard zone* (obere Schutzzone) umfasste $2 \mu\text{m}$ (West et al. 1991; Schmitz und Hof 2005). Es wurden alle Kerne in einem solchen Quadrat gezählt, sofern sie sich $>50\%$ innerhalb befanden und kein Kontakt zur roten Linie bestand (Abbildung 14A). Um eine möglichst genaue Schichtdicke zu bestimmen, fand bei jedem Zählrahmen eine erneute Messung statt. Die Zählungen wurden verblindet durchgeführt.

Bei dieser Methode wurde jeder zehnte Koronarschnitt bei der Quantifizierung berücksichtigt. Mit Hilfe der Formeln (A), (B) und (C) wurde daraus dann näherungsweise die gesamte Neuronenzahl errechnet. Die Formeln sind im Folgenden aufgelistet und wurden bereits von Schmitz und Hof (2005) zur Berechnung der Anzahl von Nervenzellen für die Design-basierte Stereologie definiert. Die dazugehörige Erklärung der Abkürzung ist in Tabelle 10 dargestellt.

$$(A) P = asf * ssf * tsf$$

$$(B) N_{\text{Schnitt}} = P * tmc$$

$$(C) N_{\text{gesamt}} = \sum_{k=1}^n N_{\text{Schnitt}} k$$

Tabelle 10: Formeln zu Berechnung der Zellzahl

Abkürzung	Bedeutung	Berechnung
asf	<i>area sampling fraction</i> (Flächen-Stichprobenfraktion)	$asf = \frac{\text{Fläche Gitternetzmasche } [\mu\text{m}^2]}{\text{Fläche Zählrahmen } [\mu\text{m}^2]} = \frac{49 \mu\text{m} * 105 \mu\text{m}}{14 \mu\text{m} * 14 \mu\text{m}} = 26,25$
ssf	<i>section sampling fraction</i> (Schnitt-Stichprobenfraktion)	10 (jeder zehnte Schnitt) (Absatz 2.7.2)
tsf	<i>thickness sampling fraction</i> (Stichprobenfraktion der Dicke)	$tsf = \frac{\text{jeweilige Schichtdicke } [\mu\text{m}]}{\text{optical disector height } [\mu\text{m}]} = \frac{\text{Schichtdicke } [\mu\text{m}]}{5 \mu\text{m}}$
tmc	<i>total markers counted</i> (Gezählte Neurone)	Summiert durch Stereo Investigator

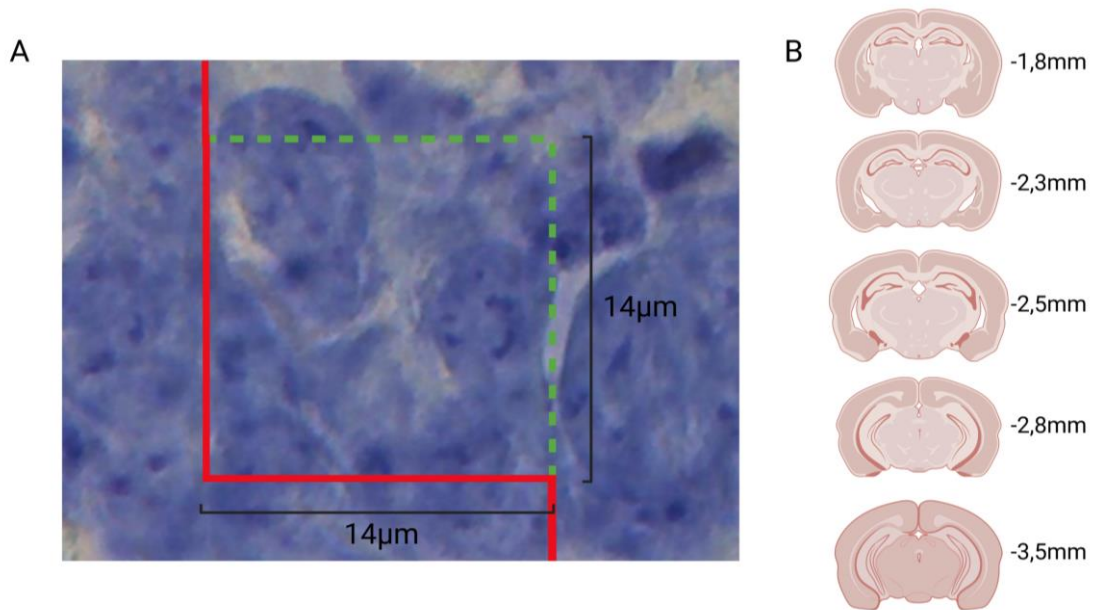


Abbildung 14: Zählrahmen und Koronarschnitte für die Design-basierte Stereologie. Es wurden alle Zellkerne innerhalb des quadratischen Zählrahmens gezählt, sofern sie sich zu >50% darin befanden und nicht die rote Linie berührten (A). Berücksichtigung fanden die Koronarschnitte zwischen Bregma -1,8mm und -3,5mm (B).

2.9 Statistik

Für die statistische Analyse der erfassten Daten wurde Prism GraphPad 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) verwendet. Beim Vergleich zweier Gruppen miteinander erfolgte ein unabhängiger t-Test. Desweiteren wurden sowohl die einfache Varianzanalyse (*one-way* ANOVA) als auch die zweifache Varianzanalyse (*two-way* ANOVA) zusammen mit einer Bonferronikorrektur angewendet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte unter Angabe des Mittelwertes \pm Standardfehler (*standard error of the mean*) (S.E.M.). Mit *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; #### $p < 0,001$; ## $p < 0,01$ und # $p < 0,05$ wurden die Signifikanzniveaus in den Abbildungen angegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Nachweis des Transgens

Da alle in dieser Arbeit verwendeten Tg4-42-Mäuse aus einer homozygoten Verpaarung stammten, wurde zur Kontrolle des Transgens und zum Erhalt der Mauslinie stichprobenartig DNA aus Schwanzbiopsien isoliert, aufbereitet und mittels PCR amplifiziert. Mittels Gelelektrophorese konnte das Tg4-42-Transgen sichtbar gemacht werden. Abbildung 15 zeigt exemplarisch das Ergebnis eines solchen Nachweises. Für einen positiven Nachweis sprachen Banden im Bereich von 248bp. Bei der Positivkontrolle bildete sich eine Bande an gleicher Stelle, während sich bei der Negativkontrolle keine zeigte.

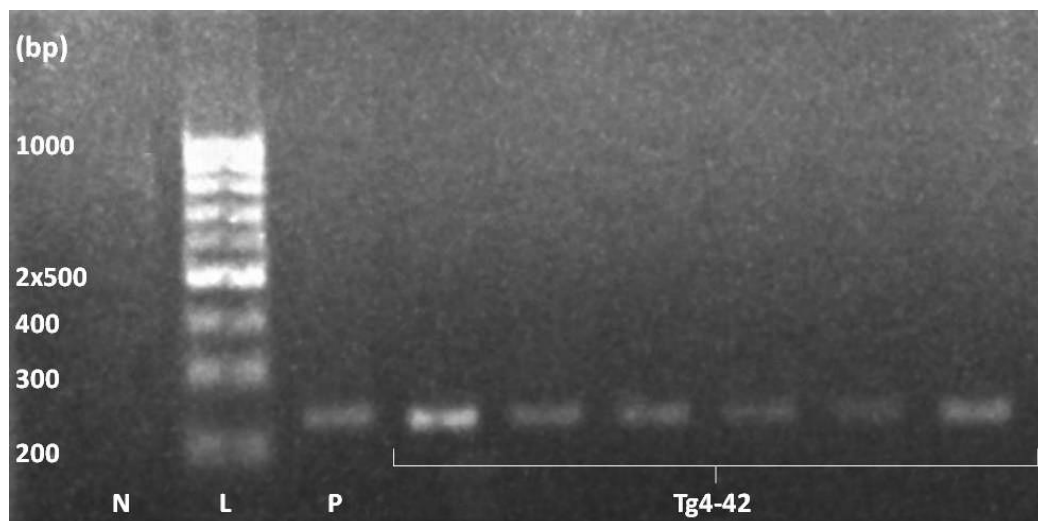


Abbildung 15: Nachweis des Transgens der Tg4-42-Mauslinie. Die exemplarische Gelelektrophorese zeigt die Tg4-42-typischen Banden bei 248bp. N = Negativkontrolle, P = Positivkontrolle, L = DNA *ladder*, bp = Basenpaare

3.2 Hippokampale A β ₄₋₄₂-Expression in Tg4-42-Mäusen

Zum Nachweis der Expression von A β ₄₋₄₂ im Hippokampus der Tg4-42-Mäuse wurde mit Hilfe des pan-A β -Antikörpers 24311 eine immunhistochemische Färbung von 4 μ m dicken Sagittalschnitten durchgeführt. Bei dieser DAB-Hämatoxylin-Färbung zeigte sich eine deutliche Färbung des Ammonshorns, insbesondere in der CA1-Region (Abbildung 16A). Dabei imponierten größere Ansammlungen von intrazellulärem A β ₄₋₄₂ (Abbildung 16B).

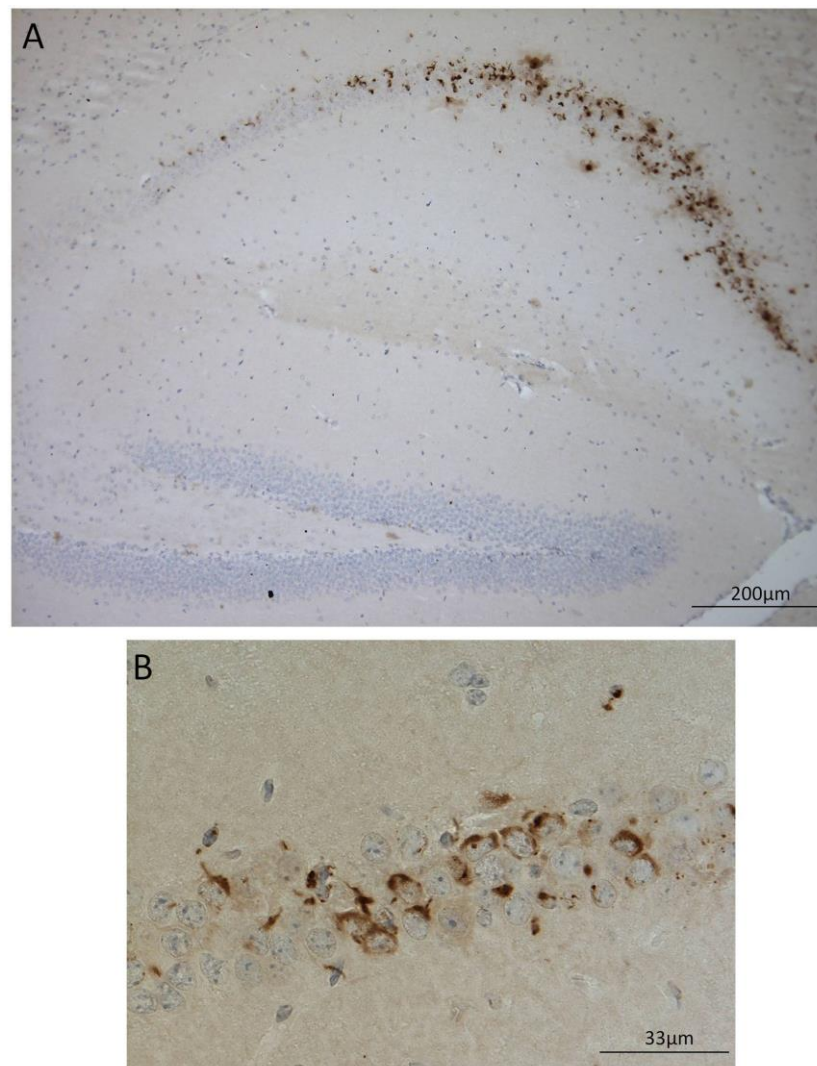


Abbildung 16: Hippokampale A β -Expression in Tg4-42-Mäusen. Der exemplarische Sagittalschnitt zeigt die A β_{4-42} -Expression in CA1 des Hippokampus im Alter von drei Monaten (A). A β_{4-42} lässt sich insbesondere intrazellulär nachweisen (B). Antikörper: Pan-A β 24311 (Rabbit), DAB-Hämatoxylin. Maßstab: (A) 200 μ m; (B) 33 μ m

3.3 Hippokampaler Nervenzellverlust bildet ein Plateau ab sieben Monaten

Bezüglich der Nervenzellzahl in CA1 des Hippokampus gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen (Abbildung 17A: Einfache Varianzanalyse: *Haupteffekt des Alters*: $p < 0,0001$). Im direkten Vergleich der drei- und siebenmonatigen Tg4-42-Mäuse konnte mit einem Nervenzellverlust von 45% ein deutlicher Unterschied mit zunehmendem Alter ermittelt werden (Abbildung 17A: Einfache Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p < 0,0001$). Ebenso signifikant war der Unterschied zwischen den drei- und 12-monatigen Tieren (Abbildung 17A: Einfache Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p < 0,0001$). Es gab keinen weiteren Verlust an Neuronen

zwischen sieben und 12 Monaten (Abbildung 17A: Einfache Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p > 0,05$).

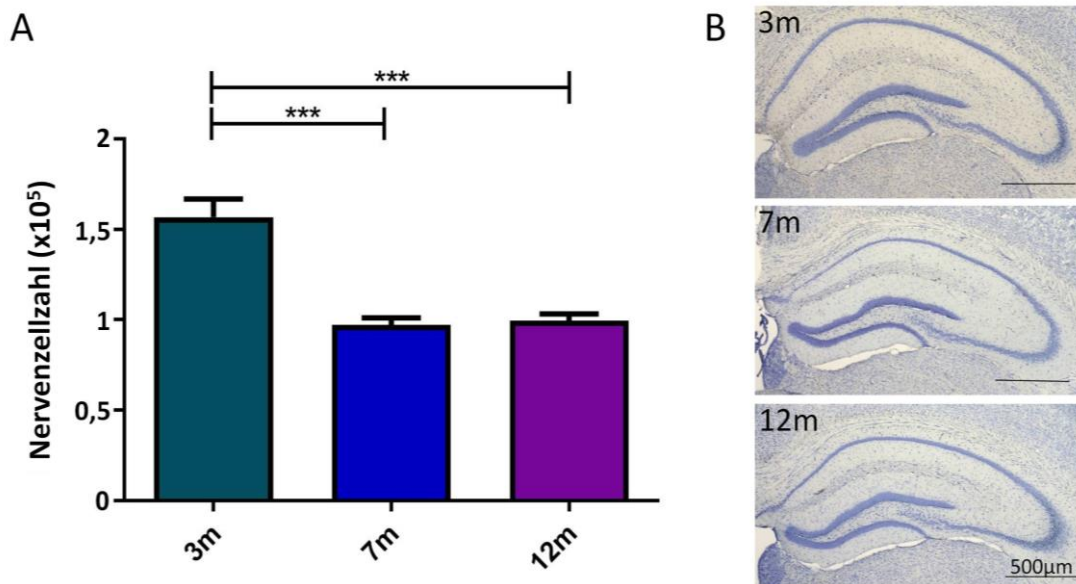


Abbildung 17: Nervenzellverlust in CA1. Zwischen drei und sieben Monaten kam es zu einem signifikanten Nervenzellverlust in CA1 mit anschließender Plateaubildung zwischen sieben- und 12-monatigen Tg4-42-Mäusen (A). In den Koronarschnitten (Bregma: ca. -2,40mm) ist eine Abnahme der Breite von CA1 zwischen drei und sieben Monaten erkennbar (B). Einfache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 5-6$. $***p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate. Maßstab: (B) 500 μ m

3.4 Die Auswirkung des $A\beta_{4-42}$ auf Angst und Motorik

3.4.1 Trotz eines reduzierten Angstempfindens im Elevated Plus Maze zeigten sich keine testübergreifenden Veränderungen im Angstverhalten der Tg4-42-Mauslinie

Zur Erfassung des Angstverhaltens wurden zwei verschiedene Experimente durchgeführt. Im Elevated Plus Maze wurde das Angst- und Explorationsverhalten der Mäuse getestet. Insgesamt verbrachten die Tg4-42-Mäuse mehr Zeit im exponierten Bereich als die WT (Abbildung 18A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: $p = 0,0001$). Die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse hielten sich zwar deutlich länger in den offenen Armen auf als die gleichaltrigen WT (Abbildung 18A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p = 0,0005$), legten dabei allerdings auch eine deutlich kürzere Distanz zurück (Abbildung 18B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p = 0,0012$).

Ein solcher Unterschied bezüglich der Aufenthaltsdauer in den offenen Armen zeigte sich ebenfalls zwischen den Genotypen mit drei, allerdings nicht mit sieben Monaten

(Abbildung 18A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 3m $p = 0,0367$; 7m $p = 0,5044$). Die Aktivität, im Sinne der zurückgelegten Distanz, unterschied sich dabei jedoch nicht (Abbildung 18B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 3m $p = 0,6371$; 7m $p > 0,9999$).

Insgesamt wurde kein Altersunterschied bezüglich des Aufenthaltsortes festgestellt (Abbildung 18A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt des Alters*: $p = 0,4385$). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die jungen dreimonatigen Mäuse bei beiden Genotypen deutlich aktiver im Elevated Plus Maze waren als die sieben- und 12-monatigen (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: WT: $p < 0,0001$ 3m versus 7m; $p = 0,0144$ 3m versus 12m; Tg4-42: $p = 0,0052$ 3m versus 7m; $p < 0,0001$ 3m versus 12m).

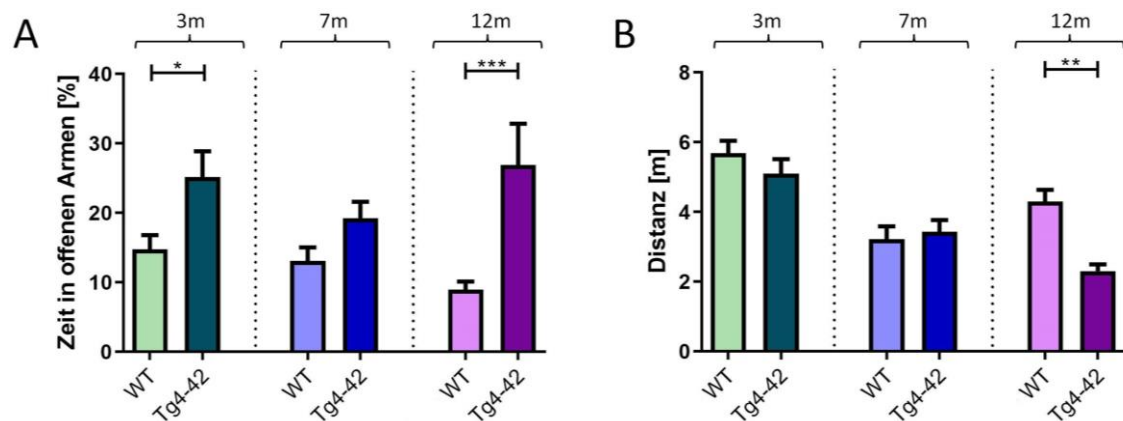


Abbildung 18: Tg4-42-Mäuse zeigten ein reduziertes Angstempfinden im EPM. Die Tg4-42-Mäuse hielten sich mit drei und 12 Monaten signifikant länger in den offenen Armen auf als die WT (A). Die 12-monatigen transgenen Tiere legten dabei eine signifikant geringere Distanz zurück (B). Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 10-14$. ** $p < 0,01$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

Auch im Open Field wurden die Angst vor exponierten Flächen und das Explorationsverhalten, aber auch die Lokomotorik der Mäuse getestet. In diesem Experiment zeigte sich kein reduziertes Angstverhalten der Tg4-42-Mäuse. Vielmehr konnte festgestellt werden, dass sich die WT insgesamt länger im exponierten Bereich aufhielten (Abbildung 19A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: $p = 0,0178$). Dieser Effekt konnte bei direktem Vergleich zwischen den WT und transgenen Tieren eines Alters jedoch nicht ermittelt werden (Abbildung 19A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 3m $p = 0,0514$; 7m $p > 0,9999$; 12m $p = 0,3195$).

Mit steigendem Alter wurden insgesamt keine Unterschiede bezüglich der Aufenthaltsdauer im Zentrum festgestellt (Abbildung 19A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt des Alters*: $p = 0,1442$). Dabei ließ sich weder ein

Unterschied zwischen den WT, noch zwischen den Tg4-42-Mäusen unterschiedlichen Alters beobachten (Abbildung 19: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: WT und Tg4-42: $p > 0,05$).

Die im Experiment zurückgelegte Distanz diene als Kontrolle der Ergebnisse. Dabei kam es zu keinen signifikanten Differenzen zwischen den Genotypen mit drei und sieben Monaten, die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse legten jedoch eine kürzere Strecke zurück als die WT dieses Alters (Abbildung 19B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 3m und 7m $p > 0,9999$; 12m $p < 0,0001$). Die dreimonatigen transgenen Mäuse liefen eine weitere Strecke als mit sieben und 12 Monaten (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: Tg4-42: $p = 0,0118$ 3m versus 7m; $p < 0,0001$ 3m versus 12m). Bei den WT unterschied sich zwar die zurückgelegte Distanz, allerdings nicht mit dem steigenden Alter einhergehend (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: WT: $p = 0,0061$ 3m versus 7m; $p = 0,0041$ 12m versus 7m).

Insgesamt ließ sich weitestgehend eine Reduktion des Angstempfindens des Tg4-42-Mausmodelles im Elevated Plus Maze feststellen. Dies konnte aber nicht über alle getesteten Altersgruppen hinweg beobachtet werden. Im Open Field entsprach das Verhalten der transgenen Tiere wiederum weitestgehend dem der WT. Bei beiden Experimenten legten die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse eine signifikant geringere Distanz zurück als die gleichaltrigen WT und waren somit weniger aktiv.

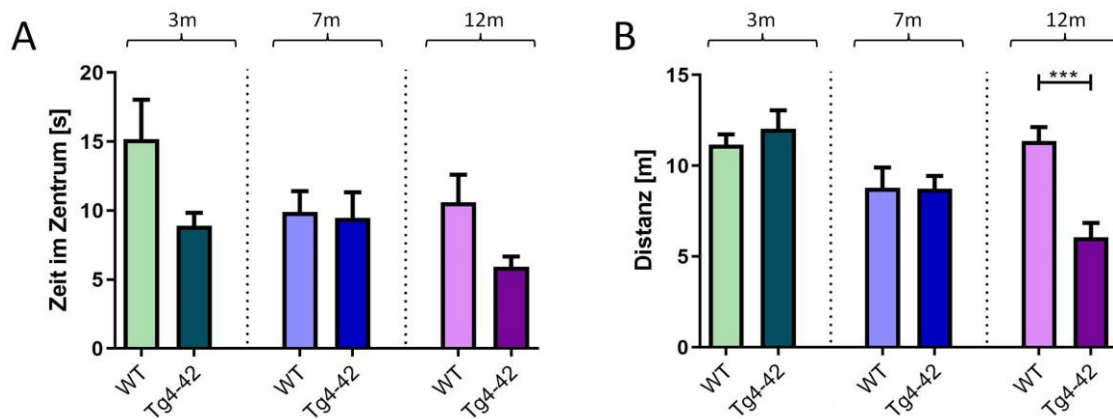


Abbildung 19: Im OF fielen keine Veränderungen im Angstverhalten der Tg4-42-Mäuse auf. Bei Betrachtung der Genotypen innerhalb eines Alters zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des Aufenthaltsortes (A). Die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse legten dabei eine kürzere Strecke zurück als die gleichaltrigen WT (B). Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 10-14$. *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

3.4.2 Motorische Defizite bei 12-monatigen Tg4-42-Mäusen im Balance Beam

Im Balance Beam wurden die Motorik und Balance getestet. Während sich mit drei und sieben Monaten noch kein Unterschied zwischen den Tg4-42-Mäusen und den WT zeigte,

hatten die 12-monatigen transgenen Tiere jedoch deutliche Schwierigkeiten bei der Erfüllung der Aufgabe (Abbildung 20: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 12m $p < 0,0001$). Die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse unterschieden sich in ihren motorischen Defiziten somit nicht nur von den drei-, sondern ebenfalls von den siebenmonatigen Tieren (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p < 0,0001$ 3m versus 12m und 7m versus 12m). Die WT zeigten wiederum in allen getesteten Altersgruppen eine ähnliche motorische Leistung (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p > 0,9999$). Insgesamt unterschied sich die Balance und Motorik der Tg4-42-Mäuse im Balance Beam erst mit einem Alter von 12 Monaten signifikant von der Leistung der WT.

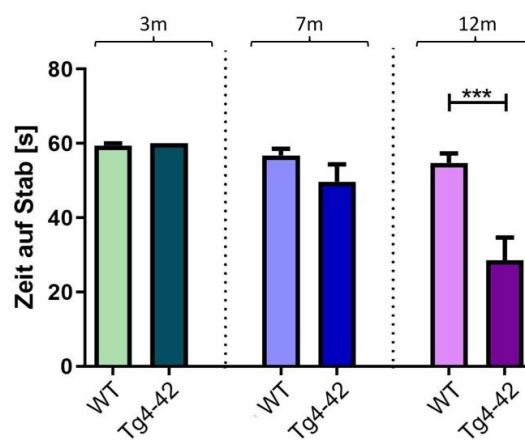


Abbildung 20: Erste motorische Defizite mit 12 Monaten im BB. Die drei- und siebenmonatigen Tg4-42-Mäuse zeigten noch keine motorischen Defizite im BB. Erst mit 12 Monaten war bei den transgenen Tieren eine signifikant schlechtere Leistung zu beobachten. Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 10-14$. *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

3.4.3 Intaktes Arbeitsgedächtnis der Tg4-42-Mäuse auch mit 12 Monaten

Im Cross Maze wurde das Arbeitsgedächtnis der Mäuse getestet. Dafür wurden anhand der individuellen Anzahl der Armerkundungen, die möglichen erfolgreichen Armwechsel berechnet und so die Armwechselrate erfasst. Im Vergleich der Tg4-42-Mäuse mit den WT, zeigten sich keine Unterschiede in der Erkundung des Cross Maze und somit auch nicht im dazu benötigten Arbeitsgedächtnis (Abbildung 21A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: $p = 0,7904$). Ebenso konnte weder bei den WT, noch bei den transgenen Tieren eine Veränderung der Armwechselrate mit steigendem Alter beobachtet werden (Abbildung 21A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt des Alters*: $p = 0,0651$).

In der zurückgelegten Distanz zeigte sich eine altersabhängige Abnahme bei den Tg4-42-Mäusen (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p = 0,0021$ 3m versus 7m; $p < 0,0001$ 3m versus 12m). Bei den WT unterschieden

sich die zurückgelegten Distanzen nicht zwischen den Altersgruppen (Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Alter*: $p > 0,05$). Daraus ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Genotypen im Alter von sieben und 12 Monaten (Abbildung 21B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 7m $p < 0,05$; 12m $p < 0,001$).

Trotz abnehmender Aktivität der transgenen Mäuse mit steigendem Alter ergaben sich im Cross Maze insgesamt keine Defizite des Tg4-42-Mausmodells im Arbeitsgedächtnis.

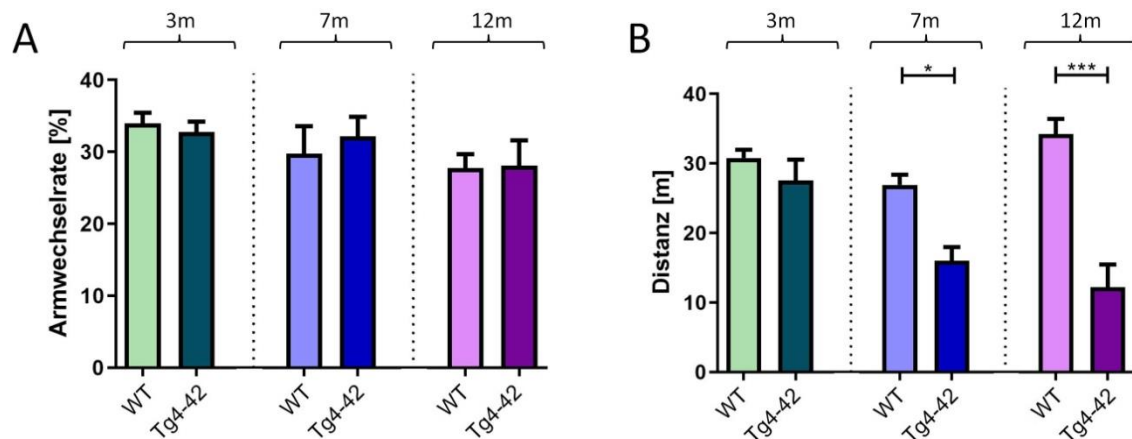


Abbildung 21: Keine Defizite des Arbeitsgedächtnisses im Cross Maze. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Armwechselrate beobachtet werden (A). Die WT legten mit sieben und 12 Monaten eine größere Distanz zurück als die Tg4-42-Mäuse (B). Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 8-14$. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

3.5 Der Einfluss der $A\beta_{4-42}$ -Expression auf das räumliche Bezugsgedächtnis im Tg4-42-Mausmodell

3.5.1 Keine allgemeinen Einschränkungen in Motorik oder Sehvermögen während des *cued trainings*

Im dreitägigen *cued training* wurde getestet, ob die Mäuse fähig waren, das Morris Water Maze zu absolvieren. Dabei führten Defizite in Motorik oder im Sehvermögen zum Ausschluss von dem Experiment. Eine 12-monatige Tg4-42-Maus war nicht in der Lage zu schwimmen und musste zu Beginn des *cued trainings* aus der Gruppe entfernt werden.

Alle getesteten Altersgruppen und Genotypen konnten ihre mittleren Fluchtzeiten über die drei Tage reduzieren (Abbildung 22A-C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Tage*: 3m, 7m und 12m $p < 0,0001$). Diese Reduktion wurde nicht durch die Schwimmgeschwindigkeit beeinflusst, da diese über die Zeit konstant blieb (Abbildung 22A-C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Tage*: 3m $p = 0,1819$; 7m $p = 0,4729$; 12m $p = 0,1164$).

An den ersten zwei Tagen gab es noch einen signifikanten Unterschied bezüglich der Genotypen im Alter von 12 Monaten, dieser war jedoch am dritten Tag nicht mehr erkennbar (Abbildung 22C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotyp*: Tag 1 $p < 0,0149$; Tag 2 $p < 0,0021$; Tag 3 $p = 0,0542$). Die siebenmonatigen Tg4-42-Mäuse benötigten am letzten Tag des *cued trainings* deutlich mehr Zeit, die Plattform zu finden als die WT (Abbildung 22B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotyp*: $p < 0,0149$), dennoch gab es lediglich im Alter von 12 Monaten einen Haupteffekt bezüglich der beiden Genotypen zu verzeichnen (Abbildung 22C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: 3m $p = 0,3023$; 7m $p = 0,0722$; 12m $p < 0,0001$). Die Schwimmgeschwindigkeiten zwischen den Tg4-42-Mäusen und WT unterschieden sich nicht (Abbildung 22A-C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: 3m $p = 0,0523$; 7m $p = 0,0974$; 12m $p = 0,0941$). Alle Mäuse, die das *cued training* durchliefen, konnten eine Verbesserung zeigen, was für ein intaktes Sehvermögen und ausreichende motorische Fähigkeiten spricht.

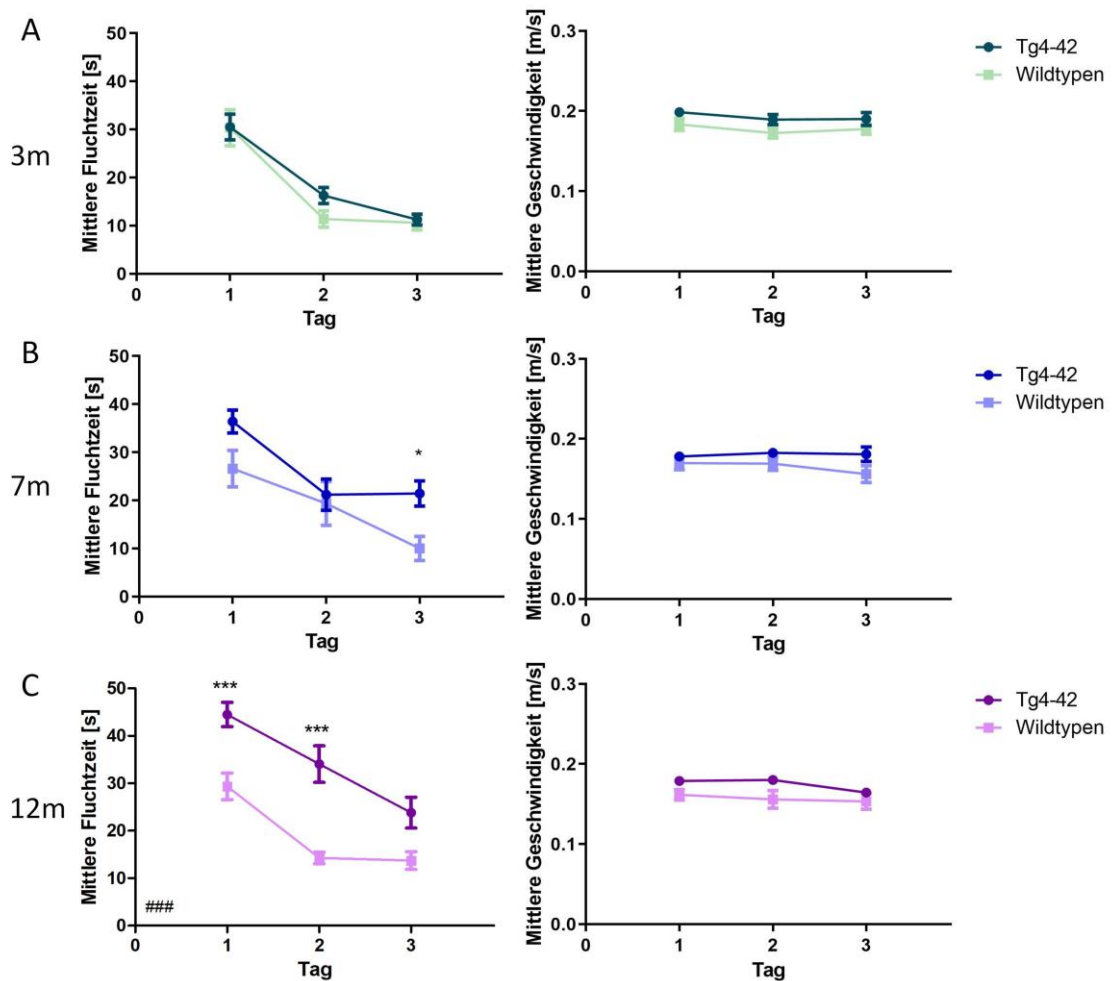


Abbildung 22: Alle Gruppen erreichten eine Abnahme der mittleren Fluchtzeit im *cued training*. Bei allen Altersgruppen beider Genotypen ließ sich eine Abnahme der mittleren Fluchtzeiten bei gleichbleibender Schwimgeschwindigkeit ermitteln (A-C). Trotzdem benötigten die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse insgesamt deutlich mehr Zeit, um die Plattform zu finden als die gleichaltrigen WT (C). Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 9-14$. Varianzanalyse: ### $p < 0,001$; Bonferroni: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

3.5.2 Verlängerte Fluchtzeiten und eine reduzierte Zielquadrantenpräferenz bei sieben- und 12-monatigen Tg4-42-Mäusen

Mit dem fünftägigen *acquisition training* wurde das räumliche Bezugsgedächtnis getestet. Während im Alter von drei Monaten noch kein Unterschied der Fluchtzeiten zwischen den Genotypen erkennbar war, benötigten die sieben- und 12-monatigen Tg4-42-Mäuse deutlich mehr Zeit, um die Plattform zu erreichen (Abbildung 23A-C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: 3m $p = 0,0535$; 7m $p < 0,0001$; 12m $p = 0,0003$). Dies zeigte sich ebenfalls beim Vergleich der einzelnen Tage (Abbildung 23B-C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: 7m: Tag 1 $p < 0,05$; Tag 2, Tag 4 und Tag 5 $p < 0,01$; 12m: Tag 3 und Tag 5 $p < 0,05$; Tag 4 $p < 0,01$). Trotz dieser Unterschiede konnte bei den

siebenmonatigen Tg4-42-Mäusen, sowie bei den dreimonatigen und allen WT-Gruppen ein Lernfortschritt im Sinne einer abnehmenden Fluchtzeit festgestellt werden (Abbildung 23A-B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Tage*: 3m $p < 0,0001$; 7m $p < 0,0001$). Diese Verbesserung zeigte sich allerdings nicht bei den 12-monatigen Tg4-42-Mäusen (Abbildung 23C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Tage*: $p = 0,0551$; mit Bonferroni-Korrektur: *Tag 1 versus Tag 4*: 12m WT $p < 0,05$; 12m Tg4-42 $p > 0,9999$).

Der *probe trial* gibt Aufschluss über das räumliche Bezugs- und Langzeitgedächtnis der Mäuse und fand 24 Stunden nach dem *acquisition training* statt. Anhand der präferierten Quadranten in den ersten 30 Sekunden können Aussagen über das Lernverhalten gemacht werden. Alle WT bevorzugten deutlich den Zielquadranten bei ihrer Suche nach der Plattform (Abbildung 24A-C: Einfache Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur: *Quadrantenpräferenz*: 3m $p < 0,0001$ ZQ versus alle anderen, $p < 0,05$ RQ versus LQ; 7m $p < 0,0001$ versus alle anderen; 12m $p < 0,05$ ZQ versus LQ, $p < 0,01$ ZQ versus GQ, $p < 0,0001$ ZQ versus RQ). Bei den drei- und siebenmonatigen Tg4-42-Mäusen war dieses Suchverhalten ähnlich, wobei die siebenmonatigen Tiere diese Zielquadrantenpräferenz jedoch lediglich gegenüber dem rechten Quadranten zeigten (Abbildung 24A-B: Einfache Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur: *Quadrantenpräferenz*: 3m $p < 0,0001$ ZQ versus alle anderen; 7m $p < 0,05$ ZQ versus RQ). Im Alter von 12 Monaten war keine Präferenz des Zielquadranten erkennbar, mehr noch bevorzugten die Tg4-42-Mäuse sogar eher andere Bereiche des Beckens (Abbildung 24C: Einfache Varianzanalyse mit Bonferroni-Korrektur: *Quadrantenpräferenz*: $p < 0,05$ GQ versus ZQ und GQ versus RQ).

Zur Kontrolle der Ergebnisse diente sowohl im *acquisition training*, als auch im *probe trial* die Schwimmgeschwindigkeit der Mäuse. Im *acquisition training* waren über die Tage hinweg zwar leichte Schwankungen zu verzeichnen, der Vergleich der Genotypen einer Altersgruppe ergab aber keinen signifikanten Unterschied (Abbildung 23A-C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Tage*: 3m $p = 0,0112$; 7m $p = 0,0016$; 12m $p = 0,0068$; *Haupteffekt der Genotypen*: 3m $p = 0,0861$; 7m $p = 0,1365$; 12m $p = 0,3942$). Ebenso gab es auch im *probe trial* keinen Unterschied der Geschwindigkeiten zwischen den Tg4-42-Mäusen und den gleichaltrigen WT (Abbildung 24A-C: Ungepaarter t-Test: 3m $p = 0,2144$; 7m $p = 0,4186$; 12m $p = 0,2632$).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Tg4-42-Mäuse im *acquisition training* und *probe trial* signifikante altersabhängige Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis zeigten. Dabei waren mit sieben Monaten die ersten kognitiven Auffälligkeiten zu beobachten, welche nochmals mit 12 Monaten zunahmten. Mittels der Fluchtzeiten und der Quadrantenpräferenz ließ sich allerdings kein Unterschied zwischen dreimonatigen Tg4-42-Mäusen und den dazugehörigen WT ermitteln.

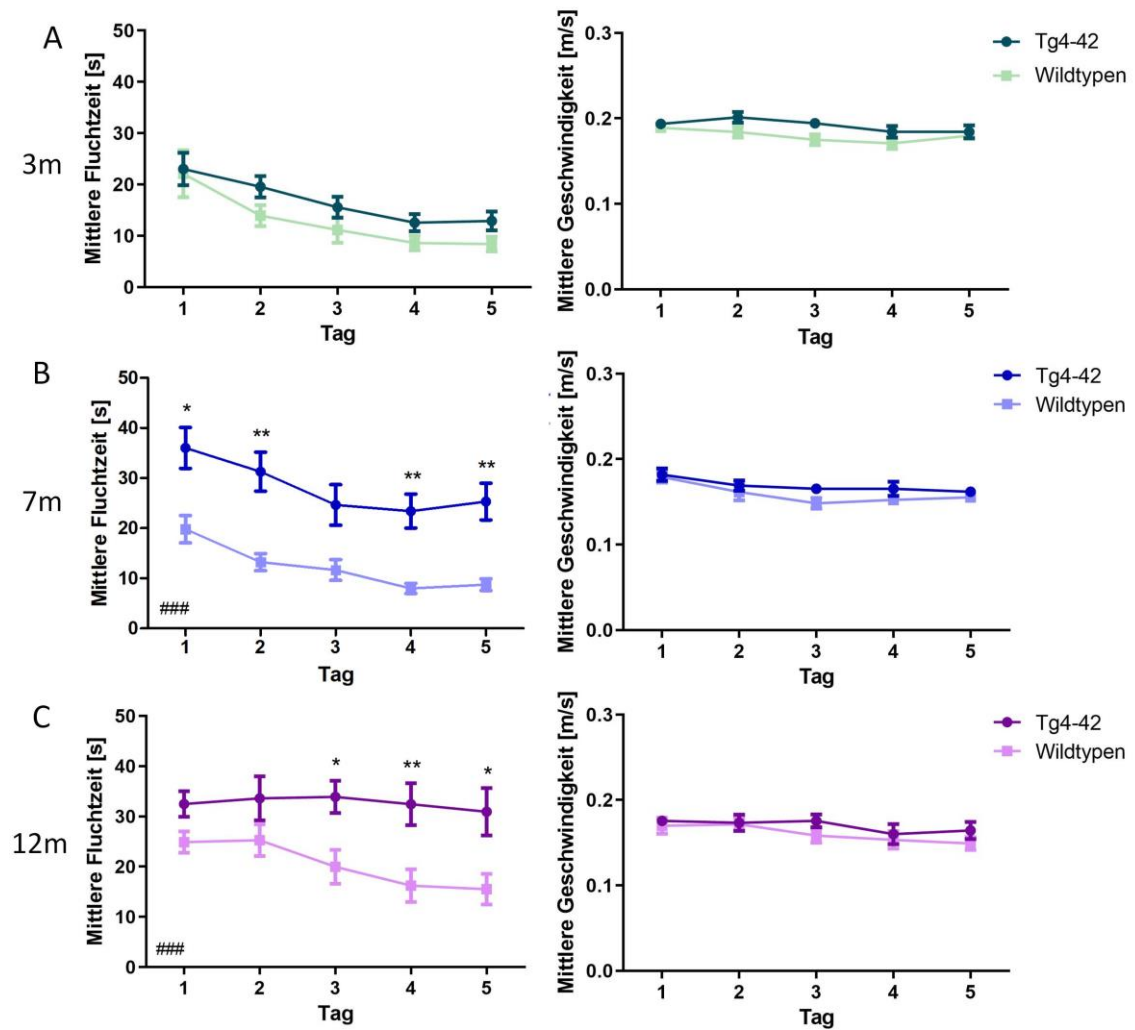


Abbildung 23: Verlangerte Fluchtzeiten mit sieben und 12 Monaten im AT. Während sich die dreimonatigen Tg4-42-Mäuse in den Fluchtzeiten noch nicht von den WT unterschieden (A), brauchten die sieben- und 12-monatigen deutlich länger, um die Plattform zu erreichen (B-C). Mit sieben Monaten kam es noch zu einer Verbesserung über die Tage (B), was sich bei den 12-monatigen Tg4-42 nicht mehr zeigte (C). Die Schwimmgeschwindigkeit unterschied sich nicht zwischen den Genotypen (A-C). Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 9-14$. Varianzanalyse: ### $p < 0,001$; Bonferroni: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

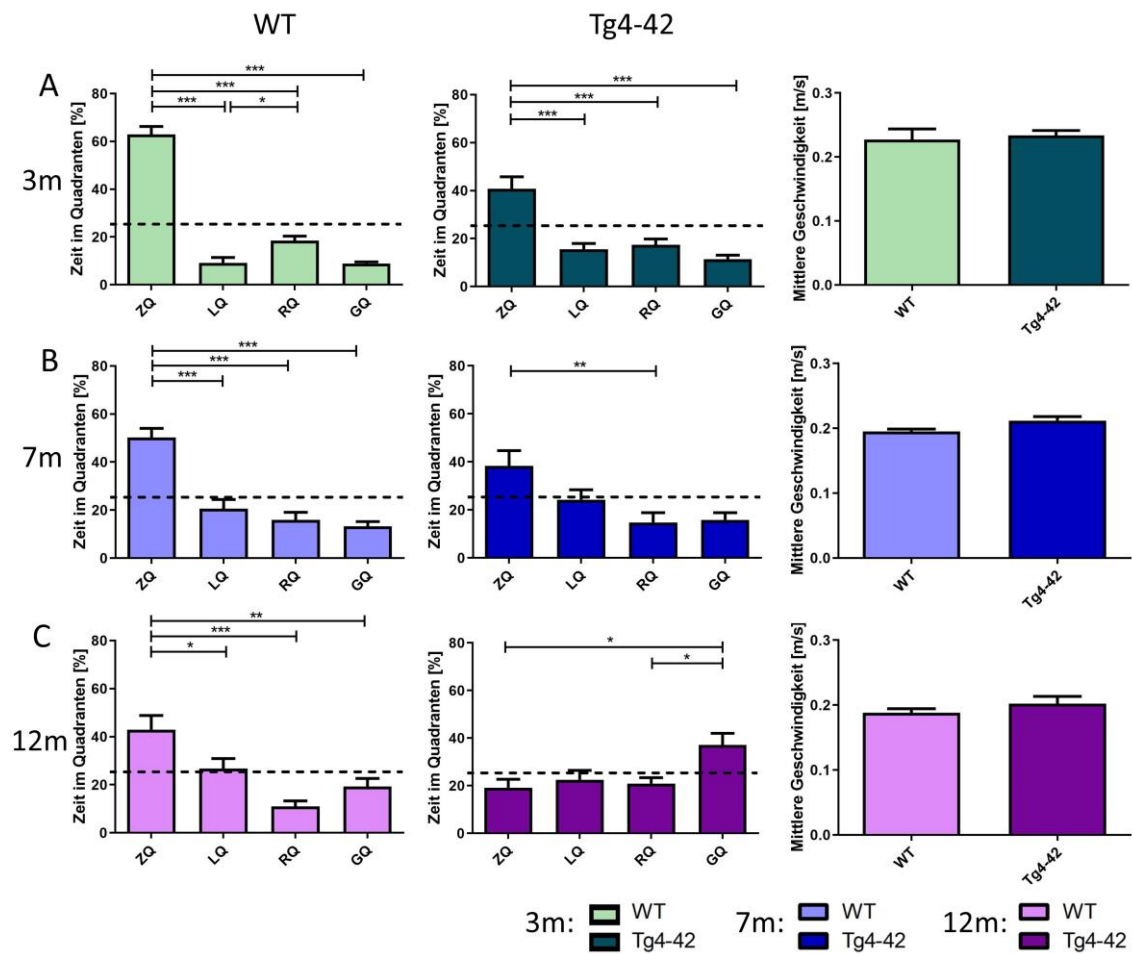


Abbildung 24: Abnahme der Zielquadrantenpräferenz ab sieben Monaten im PT. Im Alter von drei Monaten fielen keine Unterschiede zwischen den Tg4-42-Mäusen und den WT bezüglich der Quadrantenpräferenz auf (A). Bei beiden siebenmonatigen Genotypen ließ sich eine Präferenz für den Zielquadranten beobachten (B). Im Alter von 12 Monaten zeigten die Tg4-42-Mäuse keine Präferenz für den Zielquadranten mehr (C). Die als Kontrolle dienende Schwimmgeschwindigkeit unterschied sich nicht (A-C). Quadrantenpräferenz: Einfache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. Schwimmgeschwindigkeit: Ungepaarter t-Test. $n = 9-14$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. ZQ = Zielquadrant, LQ = Linker Quadrant, RQ = Rechter Quadrant, GQ = Gegenüberliegender Quadrant, m = Monate

3.5.3 Tg4-42-Mäuse zeigten schon mit drei Monaten vermehrt Hippokampus-unabhängige Suchstrategien

Bei der Analyse der Suchstrategien wurde zwischen acht verschiedenen Suchstrategien unterschieden. Dadurch konnten bereits frühe kognitive Defizite im Tg4-42-Mausmodell erkannt werden, die bei der Betrachtung der Fluchtzeiten oder Quadrantenpräferenzen nicht feststellbar waren.

Im Alter von drei Monaten war am ersten Tag des *acquisition trainings* noch kein signifikanter Unterschied zwischen den WT und den Tg4-42-Mäusen erkennbar, wobei bei

beiden die räumlich unspezifischen Strategien überwogen (Tabelle 11: WT: 54%; Tg4-42: 66%; Abbildung 25A: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p = 0,4823$). An den folgenden Tagen ließ sich zwar für beide Genotypen eine Verbesserung beobachten (Tabelle 11: WT: 60% Tag 2, 71% Tag 3, 85% Tag 4; Tg4-42: 39% Tag 2, 61% Tag 3, 50% Tag 4), allerdings wechselten die Tg4-42-Mäuse insgesamt deutlich langsamer zu Hippokampus-abhängigen, spezifischeren Suchmustern als die WT (Abbildung 25A: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p < 0,05$ Tag 2-3; $p < 0,01$ Tag 4). Am letzten Tag zeigten beide Genotypen dann ähnliche Suchstrategien (Abbildung 25A: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p = 0,2286$). Dieser verlangsamte Wechsel zu spezifischen Suchstrategien spiegelt sich auch bei der Gesamtbetrachtung des *acquisition trainings* wider. Dabei war der Anteil der Hippokampus-unabhängigen Suchstrategien bei den dreimonatigen Tg4-42-Mäusen signifikant höher als bei den gleichaltrigen WT (Abbildung 27: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p = 0,0011$).

Auf Grundlage ihrer Relevanz für das Hippokampus-abhängige räumliche Bezugsgedächtnis wurden die einzelnen Strategien mit einem Punktesystem bewertet. Dabei zeigte eine höhere Punktzahl ein höheres kognitives Niveau an. In der dreimonatigen Gruppe erreichten die Tg4-42-Mäuse, im Vergleich zu den WT, eine signifikant niedrigere Punktzahl im *acquisition training* (Abbildung 26A: Zweifache Varianzanalyse: *Haupteffekt der Genotypen*: $p < 0,05$). Am vierten Tag war der Unterschied bezüglich der erreichten Punktzahl am deutlichsten (Abbildung 26A: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p < 0,05$).

Im *probe trial*, bei dem insbesondere das Langzeitgedächtnis getestet wird, bildete das *zufällige Schwimmen* bei den dreimonatigen Tg4-42-Mäusen noch einen Anteil von 28% aller gezeigten Strategien, während die WT ausschließlich räumlich spezifische Suchstrategien zeigten (Abbildung 25A). Trotz dieser Beobachtung unterschied sich die errechnete kognitive Punktzahl jedoch nicht (Abbildung 26A: Ungepaarter t-Test: *Genotypen*: $p = 0,0732$).

Im Alter von sieben Monaten wurden die Defizite der Tg4-42-Mauslinie im räumlichen Bezugsgedächtnis noch deutlicher. Zu Beginn des *Acquisition Trainings* zeigten beide Genotypen einen ähnlich hohen Anteil an Hippokampus-unabhängigen Suchstrategien (Tabelle 11: WT: 60%; Tg4-42: 82%; Abbildung 25B: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p = 0,1350$). Während die Analyse für die Tg4-42-Mäuse am zweiten (89%), dritten (77%) und vierten Tag (68%) mehrheitlich räumlich unspezifische Suchmuster ergab, stieg der Anteil der räumlich spezifischen Strategien bei den WT deutlich an (Tabelle 11: WT: 62% Tag 2, 75% Tag 3, 88% Tag 4; Abbildung 25B: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p < 0,001$ Tag 2-4). Im Gegensatz zu der dreimonatigen Gruppe, erreichten die siebenmonatigen transgenen Mäuse am fünften Tag jedoch nicht die kognitive Leistung der gleichaltrigen WT (Abbildung 25B: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p < 0,001$). Damit einhergehend wurden bei den Tg4-42-Mäusen insgesamt auch mehr räumlich unspezifische Suchstrategien über

alle Tage des *acquisition trainings* ermittelt (Abbildung 27: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p < 0,0001$). Auch die erreichte kognitive Punktzahl der siebenmonatigen transgenen Tiere war signifikant niedriger als bei den WT (Abbildung 26B: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: $p < 0,0001$; mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p < 0,0001$ Tag 2-5).

Passend zu den Ergebnissen des *acquisition trainings* war auch die kognitive Leistung der siebenmonatigen Tiere im *probe trial* deutlich eingeschränkt. Während die räumlich unspezifischen Strategien insgesamt einen Anteil von 45% (36 % *zufälliges Schwimmen*, 9% *Scannen*) bei den Tg4-42-Mäusen ausmachten, waren es bei den WT lediglich 15% (Abbildung 25B). Anders als bei den dreimonatigen Mäusen, erreichten die siebenmonatigen Tg4-42-Mäuse somit auch eine signifikant niedrigere kognitive Punktzahl im *probe trial* (Abbildung 26B: Ungepaarter t-Test: *Genotypen*: $p < 0,05$).

Mit 12 Monaten zeigten die Tg4-42-Mäuse an jedem einzelnen Tag des *acquisition trainings* deutlich mehr Hippokampus-unabhängige Strategien als die WT (Abbildung 25C: Chi-Quadrat-Test: *Genotypen*: $p = 0,0472$ Tag 1, $p = 0,0028$ Tag 2, $p = 0,0047$ Tag 3, $p < 0,001$ Tag 4, $p = 0,0072$ Tag 5). Der Anteil, den das *zufällige Schwimmen* ausmachte, betrug bei den transgenen Mäusen 92% an Tag 1, 83% an Tag 2 und 3 und 80% an Tag 4 (Tabelle 11). Am letzten Tag des *acquisition trainings* konnte für die WT 77% räumlich spezifische Suchstrategien erfasst werden, während die Tg4-42-Mäuse nur 31% davon zeigten. Dementsprechend erreichten die Mäuse der Tg4-42-Linie, im Vergleich zu den WT, signifikant niedrigere kognitive Punktzahlen an jedem einzelnen Tag des *acquisition trainings* (Abbildung 26C: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt der Genotypen*: $p < 0,0001$; Mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p < 0,05$ Tag 1, $p < 0,01$ Tag 2, $p < 0,0001$ Tag 3-4, $p < 0,001$ Tag 5). Daraus ergab sich auch ein signifikant erhöhter Anteil der Hippokampus-unabhängigen Suchstrategien bei der Gesamtbetrachtung des *acquisition trainings* (Abbildung 27: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur: *Genotypen*: $p < 0,0001$).

Ebenso zeigten die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse im *probe trial* hauptsächlich unspezifische Suchstrategien (Abbildung 25C: 78%). Bei den 12-monatigen WT wurden hingegen zu etwa dem gleichen Anteil räumlich spezifische Suchmuster ermittelt (Abbildung 25C: 83%). Außerdem war auch das kognitive Niveau, gemessen mit dem Punktesystem, wesentlich geringer bei den transgenen Mäusen als bei den dazugehörigen WT (Abbildung 26C: Ungepaarter t-Test: *Genotypen*: $p = 0,001$).

Insgesamt unterschied sich die errechnete kognitive Punktzahl zwischen den verschiedenen Altersgruppen der WT weder im *acquisition training* noch im *probe trial* (AT: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt des Alters*: $p = 0,4600$; PT: Einfache Varianzanalyse: *Haupteffekt des Alters*: $p = 0,3952$). Die Tg4-42-Mauslinie zeigte jedoch eine signifikante Abnahme der erreichten Punktzahlen mit steigendem Alter und damit einhergehend auch zunehmende Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis (AT: Zweifache

Varianzanalyse mit Messwiederholungen: *Haupteffekt des Alters*: $p < 0,001$; PT: Einfache Varianzanalyse: *Haupteffekt des Alters*: $p < 0,05$).

Insgesamt konnten erste Defizite anhand der Suchstrategie-Analyse bereits mit drei Monaten festgestellt werden. Während die dreimonatigen Tg4-42-Mäuse zwar verzögert zu Hippokampus-abhängigen Suchstrategien wechselten, sich jedoch am Ende des *acquisition trainings* nicht mehr von den WT unterschieden, zeigten die sieben- und 12-monatigen über alle Tage hauptsächlich räumlich unspezifische Strategien. Über das gesamte *acquisition training* betrachtet konnten Defizite des räumlichen Bezugsgedächtnisses somit bei allen homozygoten Tieren der Tg4-42-Mauslinie ermittelt werden.

Tabelle 11: Prozentangaben der Suchstrategien im *acquisition training*

	Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4		Tag 5	
3 Monate	WT	Tg4-42	WT	Tg4-42	WT	Tg4-42	WT	Tg4-42	WT	Tg4-42
Direkter Pfad	4,17	1,78	8,33	1,79	10,42	3,57	8,33	10,71	4,17	10,71
Gerichtete Suche	4,17	1,78	2,10	5,36	12,50	7,14	18,75	8,93	6,25	10,71
Schwerpunktsuche	0,00	0,00	0,00	0,00	6,25	8,93	6,25	3,57	12,50	3,57
Indirekt gerichtet	37,5	30,36	50,00	32,14	41,67	41,07	52,08	26,79	54,17	41,07
Kreisen	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Scannen	2,10	0,00	0,00	0,00	4,17	0,00	2,08	1,79	2,08	1,79
Zufälliges Schwimmen	52,10	66,07	39,58	60,71	25,00	39,29	12,50	48,21	20,83	32,14
Thigmotaxis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7 Monate										
Direkter Pfad	1,92	2,27	13,46	0,00	11,54	0,00	7,69	0,00	17,31	0,00
Gerichtete Suche	1,92	2,27	0,00	2,27	0,00	2,27	3,85	2,27	9,62	9,09
Schwerpunktsuche	3,85	0,00	5,77	0,00	23,08	0,00	15,38	0,00	19,23	0,00
Indirekt gerichtet	32,69	13,64	42,31	9,09	40,38	20,45	61,54	29,55	40,38	27,27
Kreisen	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Scannen	0,00	0,00	0,00	6,82	3,85	0,00	0,00	4,55	0,00	4,55
Zufälliges Schwimmen	59,62	81,82	38,46	81,82	21,15	75,00	11,54	63,64	13,46	59,09
Thigmotaxis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,27	0,00	0,00	0,00	0,00
12 Monate										
Direkter Pfad	2,08	0,00	2,08	0,00	8,33	0,00	6,25	0,00	6,25	0,00
Gerichtete Suche	2,08	0,00	6,25	0,00	2,08	0,00	8,33	0,00	10,42	0,00
Schwerpunktsuche	0,00	0,00	4,17	0,00	6,25	0,00	16,67	0,00	12,50	0,00
Indirekt gerichtet	31,25	8,33	33,33	11,11	35,42	11,11	41,67	14,29	35,42	30,56
Kreisen	2,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Scannen	0,00	0,00	2,08	5,56	6,25	2,78	0,00	2,86	4,17	2,78
Zufälliges Schwimmen	62,50	91,67	52,08	83,33	41,67	83,33	27,08	80,00	31,25	61,11
Thigmotaxis	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,78	0,00	2,86	0,00	5,56

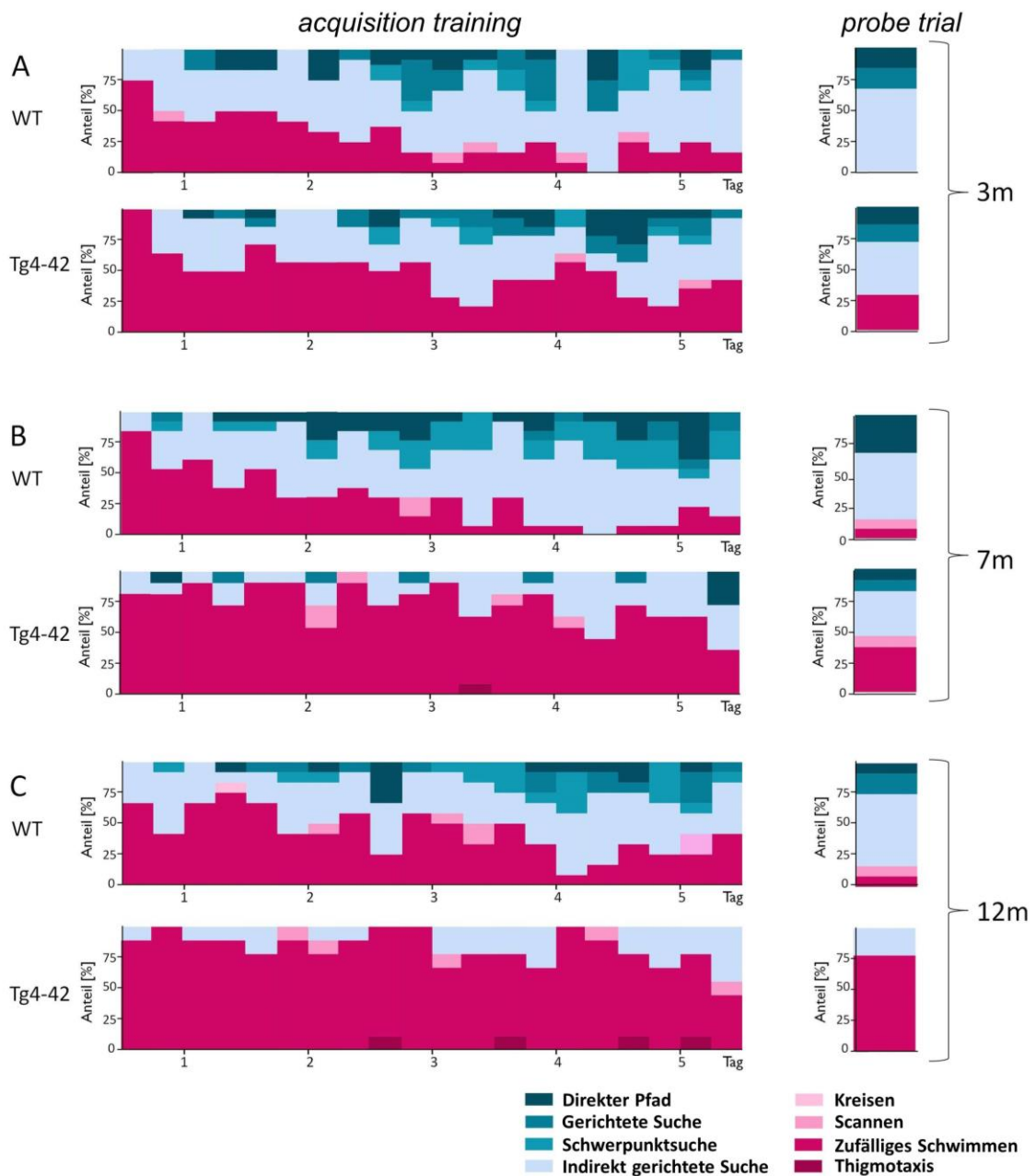


Abbildung 25: Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis anhand der Suchstrategien schon bei dreimonatigen Tg4-42-Mäusen erkennbar. Die dreimonatigen Tg4-42-Mäuse wechselten im AT später zu räumlich spezifischen Suchstrategien als die WT. Am fünften Tag entsprach die Wahl der Strategien dann weitestgehend der der WT. Im PT zeigten die transgenen Tiere zu 28% das *zufällige Schwimmen* (A). Zu Beginn des AT nutzten die siebenmonatigen Tg4-42-Mäuse noch ähnliche Strategien wie die WT. Ab dem zweiten Tag waren diese bei den transgenen Mäusen jedoch weniger räumlich spezifisch. Im PT zeigten die Tg4-42-Mäuse häufiger das *zufällige Schwimmen* als die WT (B). Die Strategie-Analyse der 12-monatigen transgenen Tiere ergab überwiegend Hippokampus-unabhängige Suchstrategien, womit sie sich an jedem Tag signifikant von den WT unterschieden. Im PT entsprach der Anteil der räumlich unspezifischen Suchstrategien der Tg4-42-Mäuse nahezu dem Anteil der räumlich spezifischen Strategien der WT. Die Daten repräsentieren die Anteile der verschiedenen Suchstrategien für jeden Durchlauf über fünf Tage des AT und den PT. n = 9-14. m = Monate

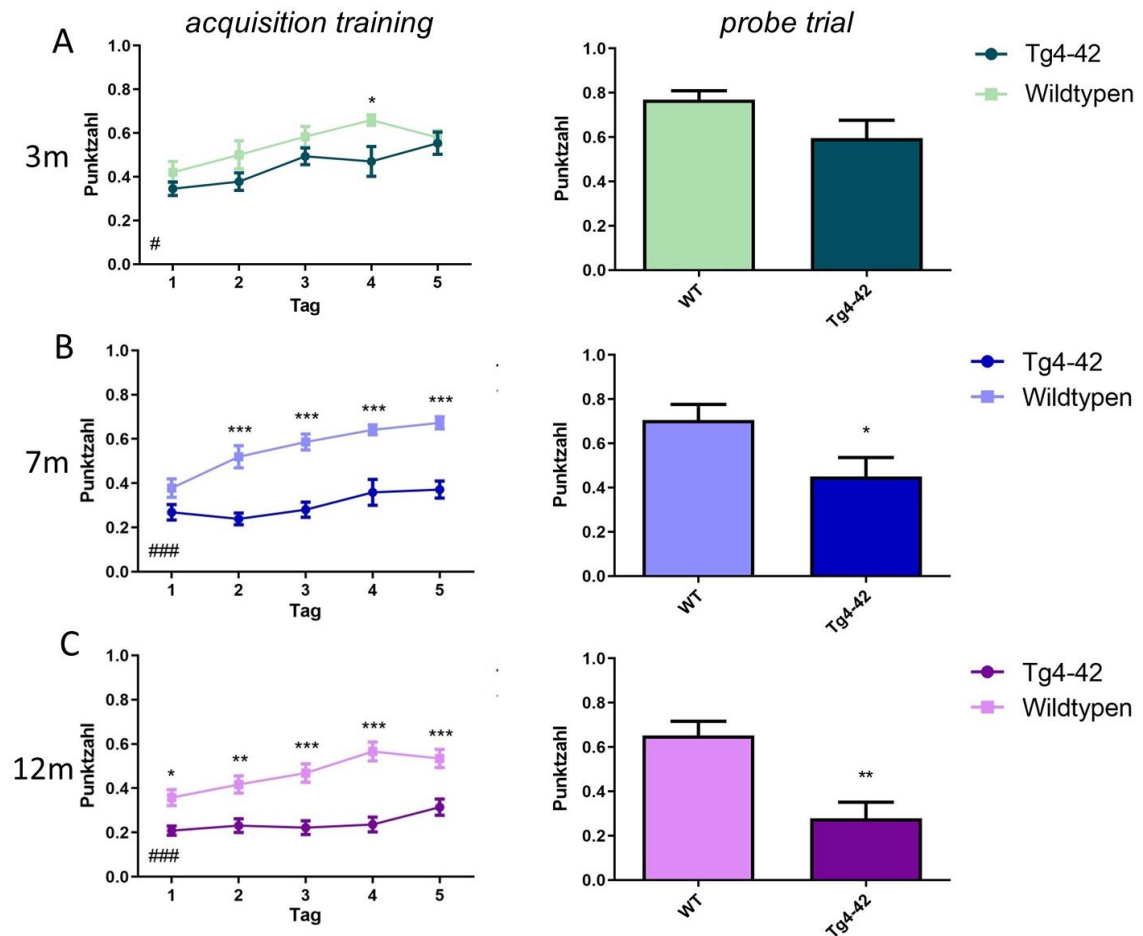


Abbildung 26: Tg4-42-Mäuse erreichten in jedem getesteten Alter eine signifikant niedrigere Punktzahl als die WT. Während des AT erreichten die dreimonatigen Tg4-42-Mäuse eine signifikant niedrigere Punktzahl als die gleichaltrigen WT. An Tag 5 entsprachen die erreichten Punkte der transgenen Tiere dieses Alters in etwa denen der WT, was sich im PT ebenfalls beobachten ließ (A). Mit sieben und 12 Monaten steigerte sich nochmals die Signifikanz zwischen den Genotypen im AT, was sich auch so in den Ergebnissen des PT widerspiegelte (B-C). AT: Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. PT: Ungepaarter t-Test. $n = 9-14$. Varianzanalyse: ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$; Bonferroni: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

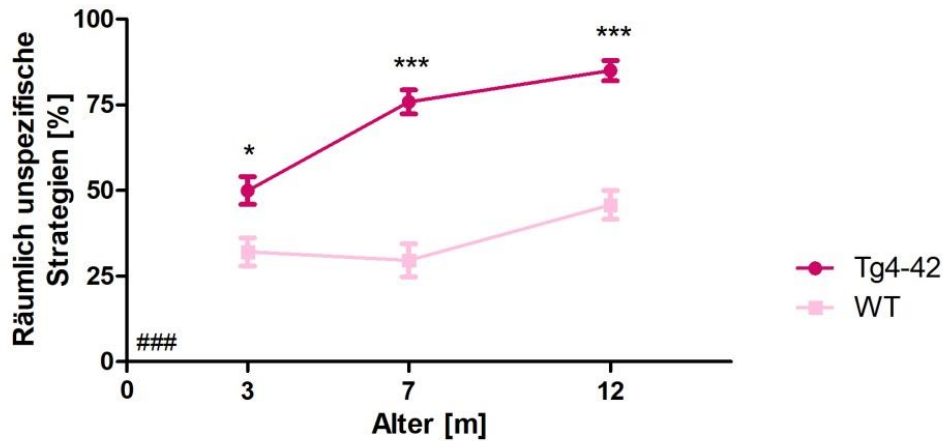


Abbildung 27: Alle Tg4-42-Mäuse zeigten signifikant häufiger räumlich unspezifische Suchstrategien. Alle getesteten Altersgruppen der Tg4-42-Mauslinie zeigten signifikant mehr Hippokampus-unabhängige Suchstrategien im gesamten AT als die altersentsprechenden WT. Dabei ließ sich außerdem eine Zunahme der Signifikanz im höheren Alter beobachten. Zweifache Varianzanalyse mit Messwiederholungen mit Bonferroni-Korrektur. $n = 9-14$. Varianzanalyse: ### $p < 0,001$; Bonferroni: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$. Daten dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M. m = Monate

4 Diskussion

4.1 $A\beta_{4-42}$ -Expression führt zu altersabhängigem Nervenzellverlust in CA1 im Tg4-42-Mausmodell

Die Alzheimer-Erkrankung ist eine weit verbreitete Erkrankung, die auf Grund von steigenden Zahlen immer mehr an Relevanz zunimmt (Gauthier et al. 2022). Dabei handelt es sich um einen neurodegenerativen Prozess, der in den Untergang von Nervenzellen und kognitiven Verfall mündet. Es gibt verschiedene Hypothesen zur Entstehung dieser Demenzform (Claassen und Jansen 2006; Swerdlow und Khan 2009; Arnsten et al. 2021). So publizierten 1991 auch Hardy und Allsop ihre Idee, wobei die vermehrte Produktion oder ein reduzierter Abbau von $A\beta_{40/42}$ zu Ablagerungen führen sollte, die der weiteren Alzheimer-Pathologie vorausgingen. Die Ausbreitung dieser sogenannten $A\beta$ -Plaques über die einzelnen Hirnstrukturen hinweg passt jedoch nicht zu den Alzheimer-typischen kognitiven Defiziten oder der Hirnatrophie (Arriagada et al. 1992; Thal et al. 2002; Marino et al. 2019). Vielmehr scheinen lösliche $A\beta$ -Oligomere von größerer Bedeutung für diese Erkrankung zu sein. Diese korrelieren nicht nur besser mit dem Krankheitsverlauf, sondern unterscheiden sich auch wesentlich in ihrer Toxizität von den $A\beta$ -Plaques (Kayed et al. 2003; Butterfield et al. 2007; Shankar et al. 2008; Holtzman et al. 2011). Aus diesen Gründen kam es 2002 zur Anpassung dieser sogenannten Amyloid-Kaskaden-Hypothese, bei der nun das lösliche $A\beta$ im Fokus der Pathogenese steht (Hardy und Selkoe 2002).

Ein besonders hohes toxisches Potential in der Gruppe des löslichen $A\beta$ weisen N-trunkierte Varianten auf (Pike et al. 1995; Bouter et al. 2013; Bayer und Wirths 2014). $A\beta_{4-42}$, welches an vierter Stelle mit der Aminosäure Phenylalanin beginnt, ist nicht nur eine der Hauptspezies in Gehirnen von Alzheimer-Patient*innen, sondern zeichnet sich auch durch eine besonders hohe Toxizität und ein gesteigertes Oligomerisationsbestreben aus (Portelius et al. 2010; Bouter et al. 2013). Im Tg4-42-Mausmodell kommt es zur ausschließlichen Expression dieses $A\beta$ -Typs. Dadurch bietet es beste Voraussetzungen zur selektiven Erfassung der Auswirkungen von $A\beta_{4-42}$ auf die Kognition und den Nervenzellverlust *in vivo* (Portelius et al. 2010; Bouter et al. 2013).

Der entorhinale Kortex und der Hippokampus sind beim Menschen besonders früh vom Substanzverlust auf Grund der Alzheimer-Pathologie betroffen (Price et al. 2001; Li et al. 2011). Dies konnte zum Beispiel auch bei $APP_{751}/PS1_{M146L}$ -doppelmutilierten Mäusen beobachtet werden (Schmitz et al. 2004). In anderen Mausmodellen, wie der 5XFAD-Linie, kommt es zwar auch zur Bildung von $A\beta$ -Plaques im Hippokampus, dennoch gibt es keinen signifikanten Nervenzellverlust in dieser Hirnregion. Stattdessen reduziert sich die

Zellzahl bei 5XFAD-Mäusen eher im Subiculum und Layer 5 des Kortex (Oakley et al. 2006; Jawhar et al. 2012).

Im Gegensatz zu diesen beiden FAD-Tiermodellen handelt es sich bei den Tg4-42-Mäusen um ein Modell der sporadischen Form (Bouter et al. 2013). Aber auch in dieser Linie kommt es zu hippocampaler A β -Expression und damit einhergehendem Zelluntergang. Wie in der immunhistochemischen DAB-Färbung zu erkennen, ist davon besonders die CA1-Region betroffen. Aus diesem Grund, und da diese Hirnregion eine wichtige Struktur des im Morris Water Maze getesteten Langzeit- und räumlichen Bezugsgedächtnisses bildet, wurde auch bei der Tg4-42-Mauslinie der Nervenzellverlust in CA1 mittels Design-basierter Stereologie ermittelt (Eichenbaum et al. 1990; Meléndez et al. 2020).

Für das Tg4-42-Mausmodell konnte in vorherigen Arbeiten ein signifikanter Nervenzellverlust in CA1 ab einem Alter von fünf Monaten festgestellt werden (Antonios et al. 2015). Somit kommt es im Alter von drei Monaten noch zu keiner zählbaren Zellreduktion in dieser Region (Bouter et al. 2013; Antonios et al. 2015). Vor diesem Hintergrund ergibt sich aus der hier durchgeführten stereologischen Analyse von CA1 der homozygoten Tg4-42-Mäuse eine Abnahme der Nervenzellzahl um ca. 45% mit sieben Monaten. Mit zunehmendem Alter kommt es zu keiner weiteren Abnahme, sodass von einer Plateaubildung ausgegangen werden kann. Diese Erkenntnis lässt sich auch mit vorherigen Ergebnissen vereinbaren. In der Studie von Antonios *et al.* (2015) ließ sich bereits eine solche Plateau-Bildung im Alter von acht Monaten erahnen. Auch Bouter *et al.* (2013) ermittelten eine sich reduzierende Abnahme der Zellzahl in CA1, allerdings bei hemizygoten Tg4-42-Mäusen.

Trotz der Gemeinsamkeiten aktueller Ergebnisse und früherer Studien gibt es allerdings auch Unstimmigkeiten. Die vorherigen Erhebungen von Antonios *et al.* (2015) suggerieren einen Nervenzellverlust in CA1 um 55% bei siebenmonatigen Tg4-42-Mäusen. Die Re-Analyse ergibt jedoch lediglich 45%. Zu diesen Abweichungen können mehrere Faktoren beigetragen haben. Einerseits unterscheiden sich die berücksichtigten Ebenen und die Anzahl der gezählten Hirnschnitte, was zu einer Variabilität geführt haben könnte. Andererseits werden homozygot gezüchtete Mausstämme zwischenzeitig mit WT verpaart, um die Weitervererbung unerwünschter Mutationen zu vermeiden (Stevens et al. 2007; Dubé 2017; Kelmenson 2018). Dies könnte eine Reduktion der A β_{4-42} -Expression bewirken und somit auch ein Grund für die Unterschiede darstellen. Ebenso könnte dadurch erklärt werden, weshalb hemizygoten Tg4-42-Mäuse in einer früheren Studie mit 12 Monaten einen ähnlichen Nervenzellverlust aufweisen wie die homozygoten Tiere dieser Arbeit (Bouter et al. 2013). So oder so lässt sich dennoch schlussfolgern, dass die Expression von A β_{4-42} eine deutliche Abnahme der Neuronenzahl in CA1 *in vivo* zur Folge hat. Dies untermauert nochmals die Pathogenität dieser A β -Spezies.

Auch die Leistung der Mäuse im Morris Water Maze lässt sich weitestgehend mit dem ermittelten Nervenzellverlust vereinbaren. Die älteren Tg4-42-Mäuse erbringen, passend

zur Reduktion der Zellzahl in CA1, eine schlechtere kognitive Leistung in diesem Verhaltensversuch als die dreimonatigen Tiere. Auch Broadbent *et al.* (2004) korrelierten Läsionen des dorsalen Hippokampus mit Lernschwierigkeiten im Morris Water Maze und zeigten, dass eine Reduktion des Volumens dieser Region um 30-50% bei Ratten zu ersten Defiziten im räumlichen Bezugsgedächtnis führt. Moser *et al.* (1995) stellten wiederum schon Auffälligkeiten ab einer Volumenabnahme von 20-40% fest. Dies untermauert nochmals die Bedeutung des Hippokampus für das räumliche Bezugsgedächtnis.

Unklar ist, weshalb es zu keiner weiteren Abnahme der Nervenzellzahl zwischen sieben- und 12-monatigen Tg4-42-Mäusen kommt. Ein Grund dafür könnte zum Beispiel eine reduzierte $A\beta_{4-42}$ -Expression im höheren Alter sein. Dazu trägt einerseits die Reduktion der Neurone bei, die auf Grund der Integration des Transgens in die Thy1-Promotor-abhängige Gensequenz die hauptsächlichen $A\beta_{4-42}$ -exprimierenden Zellen sind (Lechan und Segerson 1989; Bouter *et al.* 2013). Andererseits gibt es auch Hinweise auf eine uneinheitliche Vulnerabilität der Pyramidenzellen in CA1 (Ashton *et al.* 1989; Mehder *et al.* 2020). Darüber hinaus unterscheiden sich die Nervenzellen dieser Region auch in ihren Funktionen und ihren Transkriptionseigenschaften (Soltesz und Losonczy 2018), was einen Einfluss auf die $A\beta_{4-42}$ -Konzentrationen haben kann. Zuletzt gibt es außerdem Beobachtungen, dass es im Alter zu einer Zunahme der Promotor-Methylierungen kommen könnte, was dann die Herunterregulation von Transkriptionsprozessen zur Folge hat (Kong *et al.* 2009).

Weshalb die Anzahl der Nervenzellen CA1 des Hippokampus jedoch ab einem Alter von sieben Monaten nicht weiter abnimmt, ist somit in Zukunft zu klären. Zusammenfassend führt die Expression von $A\beta_{4-42}$ im Tg4-42-Mausmodell dennoch zur erheblichen Abnahme der Zellzahl in dieser Region. Diese Pathologie steht auch im Zusammenhang mit Defiziten im räumlichen Bezugsgedächtnis und zeigt das toxische Potential dieser N-trunkierten Variante *in vivo*.

4.2 Tg4-42-Mäuse zeigen keine testübergreifenden Veränderungen im Angstverhalten

Bei der Alzheimer-Demenz kommt es nicht nur zu pathologischen Veränderungen im Hippokampus, sondern auch in der Amygdala (Verecken *et al.* 1994) und im Nukleus basalis Meynert (Vogels *et al.* 1990). Diese und weitere Strukturen spielen eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von Emotionen (Bannerman *et al.* 2003; Šimić *et al.* 2021). So ist es nicht verwunderlich, dass Veränderungen im Affekt und im Angstempfinden ebenfalls zu den Symptomen dieser Erkrankung gehören (Azocar *et al.* 2021).

Bedingt durch die Alzheimer-typische Ausbreitung der Pathologie, beginnend im entorhinalen Kortex, über das limbische System hinweg, bis in den Neokortex, können solche Symptome auch schon in frühen Stadien feststellbar sein (Braak und Braak 1991;

Ma 2020). In einer 2018 durchgeführten Metaanalyse konnte bei 21% der Proband*innen mit MCI ein verändertes Angstempfinden festgestellt werden (Chen et al. 2018). Dieser Anteil verdoppelt sich nahezu noch einmal im Stadium der manifesten Alzheimer-Demenz (Zhao et al. 2016).

Auch das Angstverhalten der Tg4-42-Mauslinie wurde mit Hilfe von Verhaltensexperimenten analysiert. Dafür wurden zwei verschiedene Angsttests durchgeführt, das Elevated Plus Maze und das Open Field (Pellow et al. 1985; Carola et al. 2002; Sestakova et al. 2013). Entsprechend der bei Mäusen natürlicherweise vorkommenden Angst vor exponierten Orten weisen diese Test-Aufbauten jeweils einen solchen Bereich und ein sicheres Areal auf (Cryan und Holmes 2005). Die Beobachtungen bei den WT bilden dabei den Maßstab für ein natürliches Angstverhalten.

Das Elevated Plus Maze ist ein kreuzförmiges, angehobenes Labyrinth, das aus einem Zentrum und jeweils zwei offenen und geschlossenen Armen besteht (Pellow et al. 1985; Sestakova et al. 2013). Während des Experiments wird erfasst, wie lange sich die Mäuse in den exponierten offenen Armen befinden. Dabei hielten sich die Tg4-42-Mäuse insgesamt signifikant länger im exponierten Bereich auf als die WT, was als reduziertes Angstempfinden gedeutet werden könnte (Carola et al. 2002; Sestakova et al. 2013). Bei der Betrachtung der Bonferroni-Korrektur zeigt sich dieser Unterschied auch mit drei, jedoch nicht mit sieben Monaten. Zwar gibt es auch andere Alzheimer-Mausmodelle, wie zum Beispiel *APP*_{B254}-mutierte Tiere, die schon sehr früh ein reduziertes Angstverhalten im Elevated Plus Maze zeigen, allerdings ist dies auch konstant mit dem steigendem Alter zu beobachten (Harris et al. 2010). Hinzukommend ergaben einige vorherige Studien keine signifikanten Auffälligkeiten der Tg4-42-Mäuse im Elevated Plus Maze in diesem Alter (Bouter 2015; Lopez-Noguerola et al. 2018). Aus diesen Gründen sollte die Beobachtung bei den dreimonatigen Tieren differenziert betrachtet werden.

Die 12-monatigen homozygoten Mäuse wurden jedoch bisher noch nicht in ihrem Verhalten geprüft. In diesem Alter befanden sich die Tg4-42-Mäuse deutlich länger in den offenen Armen als die gleichaltrigen WT. Daraus lässt sich ableiten, dass die A β -Expression über mehrere Monate hinweg eine Reduktion des Angstempfindens im Elevated Plus Maze zur Folge haben könnte. Diese Beobachtungen lassen sich auch mit den Ergebnissen von Lopez-Noguerola *et al.* (2018) vereinbaren, wobei sich bei sechsmonatigen Tg4-42-Mäusen kein verändertes Angstverhalten ergibt, die Steigerung der A β -Expression durch eine A β ₄₋₄₂/Pyroglutamat-A β ₃₋₄₂-Doppelmutation jedoch zur signifikanten Veränderung des Angstverhaltens führt. Auch Tg2576-Mäuse, welche eine *APP*-Mutation aufweisen, zeigen im höheren Alter eine solche Veränderung (Lalonde et al. 2003). Die populäre 5XFAD-Linie entwickelt diese Auffälligkeiten in diesem Verhaltensexperiment mit sechs Monaten, wobei ebenfalls das steigende Alter und die damit einhergehende A β -Expression zu diesen Defiziten beiträgt (Jawhar et al. 2012). Ebenso kann sich aber auch eine Steigerung der Ängstlichkeit auf Grund von Alzheimer-

typischen Mutationen ergeben, wie es zum Beispiel bei $APP_{SL}/PS1_{M146L}$ -Mäusen der Fall ist (Bialosterski et al. 2015).

Warum es bei 12-monatigen Tg4-42-Mäusen zu Veränderungen im Angstverhalten kommen könnte, bleibt zu klären. Einerseits ist bekannt, dass es bei diesem Tiermodell zu keiner $A\beta_{4-42}$ -Expression in der Amygdala kommt, welche maßgeblich für die Bildung von Emotionen verantwortlich ist (Bouter et al. 2013; Šimić et al. 2021). Stattdessen ist der Hippokampus von der $A\beta$ -Pathologie betroffen und weist damit einhergehend einen hochgradigen Zelluntergang auf. Somit könnte die Reduktion des Angstempfindens bei 12-monatigen Tg4-42-Mäusen auf die Degeneration des Hippokampus zurückzuführen sein, welcher, neben der Amygdala, auch eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Emotionen spielt (Bannerman et al. 2003; Jimenez et al. 2018). Dennoch sollte beachtet werden, dass die Zellzahl in CA1 keine weitere Abnahme ab einem Alter von sieben Monaten aufweist, in diesem Alter aber noch keine Auffälligkeiten detektiert wurden. Somit könnten auch degenerative Prozesse in CA2, CA3 oder anderen Hirnregionen im Zusammenhang mit den Ergebnissen des Elevated Plus Maze stehen (Gießen 2019).

Auch das Open Field dient der Analyse des Angst- und Explorationsverhaltens (Carola et al. 2002). In diesem Experiment wird beobachtet, wie lange sich die Mäuse im vorgegebenen Zentrum einer Box aufhalten. Das Zentrum entspricht dabei dem exponierten Bereich, äquivalent zu den offenen Armen des Elevated Plus Maze (Hall und Ballachey 1932; Carola et al. 2002). Dabei führte eine starke Variabilität innerhalb der WT-Gruppe zu einem summierten Unterschied zwischen den Genotypen, welcher sich jedoch nicht bei Betrachtung der einzelnen Altersgruppen zeigt. Eine solche Variabilität zwischen den WT verschiedenen Alters beobachteten auch Shoji und Miyakawa (2019) bei C57BL/6J-Mäusen, die sich in einem Alter von zwei und 23 Monaten länger im exponierten Bereich des Elevated Plus Maze aufhielten als mit 11 und 17 Monaten. Mögliche Gründe für diese Beobachtung könnten äußere Einflussfaktoren sein, wie zum Beispiel Gerüche, Geräusche oder auch die Vorerfahrungen in vorherigen Angsttests (Genzel 2021; Saré et al. 2021). Desweiteren hat die Empfindung von Stress einen wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse des Open Fields (Kinlein et al. 2019). Somit ergibt sich aus diesem Experiment nicht unbedingt ein verändertes Angstverhalten der Tg4-42-Mäuse. Dafür spricht auch, dass Stazi und Wirths (2021) in ihrer Studie ebenfalls keine Auffälligkeiten dieser Mauslinie im Open Field ermittelten.

Während die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse also eine signifikant niedrigere Angstempfindung im Elevated Plus Maze zeigen, ist dies im Open Field nicht der Fall. Es wird angenommen, dass die unterschiedlichen Angsttests verschiedene Formen von angstbezogenem Verhalten erfassen und somit ein einzelnes Experiment kein vollständiges Bild des emotionalen Profils liefern kann (Holmes et al. 2003; Cryan und Holmes 2005; Ramos et al. 2008). Somit können unterschiedliche Angsttests auch unterschiedliche Ängste oder verschiedene Hirnareale erfassen. Dementsprechend sind im Elevated Plus

Maze auch andere hippocampale Neurone erregt als im Open Field (Jimenez et al. 2018). Hinzukommend konnten Holmes *et al.* (2003) durch die Manipulation der Neuropeptid-Konstellation des kortiko-limbischen Systems Auffälligkeiten im Elevated Plus Maze, aber nicht im Open Field oder bei der Dark Light Box (Hell-Dunkel-Box) erzeugen. Diese Beobachtungen stützen nochmals diese Theorie.

Bei der Analyse des Verhaltens im Elevated Plus Maze und Open Field sollte immer auch die zurückgelegte Distanz mit einbezogen werden. Diese dient als Kontrolle, ob bspw. eine gewisse Inaktivität zur Beeinflussung der Ergebnisse geführt haben könnte. Hierbei fällt auf, dass die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse in beiden Tests eine deutlich kürzere Distanz zurücklegen als die gleichaltrigen WT, während sich bei den jüngeren Mäusen kein Unterschied zeigt. Ähnliches lässt sich auch bei anderen Alzheimer-Mausmodellen beobachten. 5XFAD- und 3xTgAD_{APP/PS1/Mapp}-Mäuse legen im höheren Alter auch eine kürzere Strecke zurück als die WT (Filali et al. 2012; Wagner et al. 2019). Jedoch ist das nicht bei jedem Alzheimer-Mausmodell der Fall. So zeigen *APP_{NLh}/PS1_{P264L}*-mutierte Mäuse zum Beispiel bis zu einem Alter von 24 Monaten keine solche Veränderung (Webster et al. 2013). Es sollte also bedacht werden, dass die Expression von A β ₄₋₄₂ in diesem Mausmodell zwar gewisse altersabhängige Änderungen des Angstverhaltens verursachen könnte, jedoch auch mit einer Abnahme der Aktivität einhergeht. Somit können die Auffälligkeiten der 12-monatigen Tg4-42-Mäuse unter anderem auch als eine reduzierte Impulsivität, ein verringertes Explorationsbestreben oder Defizite der Lokomotorik gedeutet werden (Rodgers 1997; Cryan und Holmes 2005; Seibenhener und Wooten 2015).

Insgesamt ist mit diesen Experimenten also kein selektiver Rückschluss auf das reine Angstverhalten möglich (Rodgers 1997; Carola et al. 2002; Cryan und Holmes 2005). Aus diesem Grund kann der signifikante Unterschied der 12-monatigen Mäuse im Elevated Plus Maze auch durch ein reduziertes Erkundungsbestreben oder motorische Defizite beeinflusst worden sein. Hinzukommend ergibt sich kein einheitliches Bild der transgenen Mäuse in den verschiedenen Angstexperimenten. Somit ist zwar eine Beeinflussung der Angst durch die Expression von A β ₄₋₄₂ im Tg4-42-Mausmodell insbesondere im Alter von 12 Monaten möglich, es sollten jedoch in Zukunft weitere Tests durchgeführt werden, um sich ein Gesamtbild zu verschaffen. Im Bezug auf die anderen durchgeführten Experimente, sollte zwar bedacht werden, dass Verhaltensweisen der älteren Tiere durch die Veränderungen des Angstempfindens beeinflusst worden sein könnten, jedoch lässt sich von den Ergebnissen des Elevated Plus Maze nicht automatisch auf testübergreifende Veränderungen der Emotionen schließen.

4.3 $A\beta_{4-42}$ -Expression in Tg4-42-Mäusen führt zu altersabhängigen motorischen Defiziten

Neben den kognitiven Symptomen, geht die Alzheimer-Demenz auch mit motorischen Dysfunktionen einher (Kluger et al. 1997; Scarmeas et al. 2004). Zu den häufigeren Symptomen gehören Sprachschwierigkeiten, Rigidität, Gangunsicherheiten und Bradykinese. Seltener kommt es aber auch zu Tremor und Myoklonien (Chen et al. 1991; Wilson et al. 2000; Scarmeas et al. 2004). Während solche motorischen Veränderungen zu Beginn der Erkrankung eher weniger beobachtet werden, kommt es dennoch zu einer Zunahme der Symptome mit dem fortschreitenden Progress der Erkrankung (Chen et al. 1991; Scarmeas et al. 2004). Diesen motorischen Pathologien liegt vermutlich die Degeneration kortikobasaler Strukturen zu Grunde, welche mit extrapyramidalen Symptomen einhergeht (Scarmeas et al. 2004; Lee et al. 2011). Dabei sind bei der Alzheimer-Demenz vor allem posteriore Teile des Kortex und das Striatum betroffen (Lee et al. 2011).

Wie beim Menschen wurden solche motorischen Symptome auch bei einigen Mausmodellen beobachtet. King und Arendash (2002) beschrieben zum Beispiel deutliche Defizite im Balance Beam bei Tg2576-Mäusen mit schwedischer *APP*-Mutation. Darüber hinaus weisen ebenfalls *APP_{K670N,M671L}/PS1_{M146L}*-doppelmutierte Mäuse und Tiere der 5XFAD-Linie motorische Auffälligkeiten in diesem Experiment auf (Arendash et al. 2001; Jawhar et al. 2012). Um mögliche Veränderungen der Motorik und Balance des Tg4-42-Mausmodells feststellen zu können, wurde somit auch im Rahmen dieser Arbeit das Balance Beam durchgeführt.

Aus den Ergebnissen des Balance Beams ergibt sich kein Unterschied zwischen den drei- und siebenmonatigen Tg4-42-Mäusen und den dazugehörigen WT. Eine ähnliche Beobachtung machten auch Bouter (2015) und Lopez-Noguerola *et al.* (2018) bei diesem Mausmodell. Allerdings gibt es auch Unterschiede zu vorherigen Studien. Wagner *et al.* (2019) publizierten zum Beispiel erste Defizite im Balance Beam bei siebenmonatigen Weibchen, fanden jedoch keine Auffälligkeiten bei anderen motorischen Tests, wie der String Suspension (Schnur-Halteversuch), der Inverted Grip Task (Umgekehrter Halteversuch) oder dem Open Field.

Solche Differenzen können durch verschiedene Einflussfaktoren entstehen. Einerseits kann auch hierbei eine Reduktion der Transgenkopien auf Grund zwischenzeitiger heterozygoter Verpaarung eine Rolle spielen (Stevens et al. 2007; Dubé 2017; Kelmenson 2018). Andererseits sind unterschiedliche Versuchsbedingungen und äußere Reize nicht zu vernachlässigen. Das Balance Beam dieser Arbeit wurde unter roter Beleuchtung durchgeführt, was zur Folge hatte, dass die Mäuse die Umgebung schlechter wahrnahmen (Nikbakht und Diamond 2021). Ob die Experimente von Wagner *et al.* (2019) ebenfalls unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wurden, ist unklar. Des Weiteren gibt es bei allen Verhaltensexperimenten immer Faktoren, die die Ergebnisse beeinflussen können.

Dazu zählen bspw. die körperliche Verfassung der Mäuse, Geräusche, Gerüche und auch die Reihenfolge bei der Durchführung der verschiedenen Verhaltenstests (Genzel 2021; Saré et al. 2021). Daraus ergeben sich auch potentielle Variationen der Ergebnisse, die auf die durchführende Person zurückzuführen sind.

Auch in Bezug auf die Balance und die motorische Koordination wurden die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse bisher noch nicht getestet. In diesem Alter konnten, im Gegenteil zu den siebenmonatigen Mäusen dieser Arbeit, deutliche Defizite im Balance Beam festgestellt werden. Diese Veränderungen passen auch zu den Beobachtungen im Open Field, Elevated Plus Maze und Cross Maze, wobei die 12-monatigen Mäuse eine geringere Distanz zurücklegten und somit lokomotorische Auffälligkeiten zeigen. Darüber hinaus ähnelt das Tg4-42-Mausmodell bezüglich des Einsetzens motorischer Symptome somit auch dem Alzheimer-Progress beim Menschen, bei dem es meist in späten Phasen zu solchen Defiziten kommt (Chen et al. 1991; Scarmeas et al. 2004).

Im Tg4-42-Mausmodell kommt es Thy1-Promotor-gesteuert zur Expression von $A\beta_{4-42}$. Daraus ergeben sich Unterschiede bezüglich der Hirnareale, in denen $A\beta_{4-42}$ exprimiert wird. Somit lässt sich $A\beta_{4-42}$ in diesem Modell nicht nur im Hippokampus sondern auch im Striatum und den Colliculi superiores nachweisen (Bouter et al. 2013). Das Striatum ist Teil der Basalganglienschleife und von entscheidender Bedeutung für die Steuerung von motorischen und prozeduralen Verhaltensweisen (Balleine und O'Doherty 2010; Prager und Plotkin 2019; Valjent und Gangarossa 2021). Aber auch die Colliculi superiores spielen eine Rolle bei der motorischen Koordination, indem sie das supraspinale visuelle Integrationszentrum zur Verarbeitung multimodaler Reize darstellen (Goodale und Murison 1975; Collin et al. 1982). Des Weiteren liegt beim Tg4-42-Mausmodell eine spinale Pathologie vor, indem es auch zur $A\beta_{4-42}$ -Expression im Rückenmark kommt (Lopez-Noguerola et al. 2018). Zuletzt konnten Wagner *et al.* (2019) außerdem mittels ^{18}F -FDG-PET/MRI-Aufnahmen einen deutlich reduzierten Metabolismus im Zerebellum der Tg4-42 feststellen. Somit können die Ergebnisse im Balance Beam durch pathologische Veränderungen verschiedener Hirnstrukturen begründet werden.

Eine spinale $A\beta$ -Expression lässt sich auch bei einigen anderen Mausmodellen finden. Dazu zählt zum Beispiel auch die 5XFAD-Mauslinie, aber auch einzelne *APP*- oder *PS1*-Mutationen oder die kombinierte Doppelmutation haben die Expression von $A\beta$ im Rückenmark zur Folge (Christensen et al. 2014; Chu et al. 2017). Bei 5XFAD-Mäusen kommt es schon im Alter von 11 Wochen zur Bildung von spinalen $A\beta$ -Plaques und intraneuronalem $A\beta$, wobei der Untergang von Motoneuronen und somit auch die motorischen Defizite jedoch bis zu einem Alter von sechs Monaten noch sehr gering ausgeprägt sind (Jawhar et al. 2012; Chu et al. 2017; Wagner et al. 2019). Ebenso kommt es bei Tg2576-Mäusen mit der schwedischen Doppelmutation zu motorischen Defiziten und $A\beta$ -induziertem Zelluntergang im Rückenmark (King und Arendash 2002; Seo et al. 2010).

Insgesamt lässt sich zusammenfassen, dass sich in dieser Arbeit erst bei 12-monatigen Tieren des Tg4-42-Mausmodells signifikante Defizite in Balance, Lokomotorik und motorischer Koordination zeigen. Dies könnte unter anderem mit der spinalen Pathologie zusammenhängen. Da die Expression von A β auch bei anderen Mausmodellen in den Untergang der Motoneurone mündet und sich A β_{4-42} durch eine besonders hohe Toxizität auszeichnet, sollte in Zukunft der spinale Nervenzellverlust des Tg4-42-Mausmodells ermittelt werden (King und Arendash 2002; Portelius et al. 2010; Jawhar et al. 2012). Aber auch andere Regionen könnten für die motorischen Veränderungen von Bedeutung sein. Während bis zu einem Alter von sechs Monaten noch kein Nervenzellverlust im Striatum homozygoter Tg4-42-Mäuse festgestellt werden konnte, sind weitere Veränderungen dieser Region mit steigendem Alter unklar (Gießen 2019). Ebenso unklar ist der Nervenzellverlust in den Colliculi superiores. Somit könnte die zukünftige Analyse verschiedener Hirnareale bis ins höhere Alter Aufschluss über die motorischen Defizite bringen. Bei der Interpretation der anderen Verhaltensexperimente sollten die motorischen Defizite der Lokomotorik und Balance bedacht werden, da diese einen Einfluss auf den Lernprozess haben könnten.

4.4 Bereits dreimonatige Tg4-42-Mäuse zeigen Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis während des Morris Water Maze Tests

Meist noch vor anderen Symptomen kommt es bei der Alzheimer-Demenz zu Orientierungsschwierigkeiten und Defiziten in der visuell-räumlichen Wahrnehmung und Verarbeitung (Albert et al. 2011; Hashimoto et al. 2020). Diese Symptome sind häufig schon bei milder kognitiver Beeinträchtigung, also der MCI, zu beobachten (Albert et al. 2011). Dabei treten zuerst Einschränkungen in allozentrischen und später auch in egozentrischen Referenzsystemen auf (Hort et al. 2007; Hashimoto et al. 2020). Beim allozentrischen Referenzsystem handelt es sich um eine Hippokampus-abhängige kognitive Karte, die Informationen dazu enthält, wie sich bspw. Gegenstände in einem Raum zueinander befinden (Iaria et al. 2007; Coughlan et al. 2018). Insbesondere der anteriore Hippokampus ist bei der Erstellung eines solchen allozentrischen Bezugssystems von Bedeutung, während der posteriore Anteil eher beim Abruf der Informationen involviert zu sein scheint (Iaria et al. 2007). Das Ich-zentrierte egozentrische Referenzsystem umfasst wiederum den räumlichen Bezug der betreffenden Person zu verschiedenen Gegenständen (Coughlan et al. 2018; Miniaci und De Leonibus 2018). Für dieses Hippokampus-unabhängige System sind vor allem das Striatum, der Thalamus und Teile des Kortex von Bedeutung (Devan et al. 1999; van Strien et al. 2009; Boccia et al. 2014; Rogers et al. 2017).

Da nur etwa 10% der MCI-Fälle in eine manifeste Alzheimer-Demenz übergehen, befassen sich einige Forschungsgruppen mit Methoden, diese 10% zu detektieren, um die Patient*innen zeitnahe in eine adäquate medizinische Betreuung überführen zu können

(Grundman et al. 2004; Mitchell und Shiri-Feshki 2009; Coughlan et al. 2018). Schöberl *et al.* (2020) fanden heraus, dass Amyloid-positive MCI-Proband*innen deutlich größere Orientierungsdefizite zeigen als Amyloid-negative. Hashimoto *et al.* (2020) erkannten außerdem, dass MCI-Proband*innen vor allem Defizite im allozentrischen und Alzheimer-Patient*innen auch in egozentrischen Referenzsystemen aufweisen. Ebenso scheint die Erfassung der räumlichen Orientierung wesentlich spezifischer bei der Abgrenzung der Alzheimer-Erkrankung von anderen Demenzformen zu sein als die alleinige Betrachtung des episodischen Gedächtnisses (Yew et al. 2013; Tu et al. 2015). Somit ist es nicht verwunderlich, dass sich die Empfehlungen häufen, auch die räumliche Navigation und nicht nur die episodischen Gedächtnisdefizite bei der klinischen Diagnostik zu berücksichtigen.

Diese Erkenntnis wird schon seit Jahren in Verhaltensexperimenten mit Tiermodellen genutzt. Vor diesem Hintergrund werden bspw. Tests wie das T-, Y- und Cross Maze (T-, Y- und kreuzförmiges Labyrinth) oder das Morris Water Maze durchgeführt, um hippokampale Schädigungen durch die A β -Expression erfassen zu können (Morris 1984; Lalonde 2002; Jawhar et al. 2012). Auch die Tg4-42-Mäuse wurden in zweien solcher Experimente getestet.

Der Morris Water Maze Test dient der Erfassung des räumlichen Bezugsgedächtnisses und bietet darüber hinaus die Möglichkeit der Differenzierung zwischen Defiziten allozentrischer und egozentrischer Referenzsysteme (Morris 1984). Mit Hilfe des Morris Water Maze konnten bisher in vielen Alzheimer-Mausmodellen pathologische Veränderungen mit zunehmendem Alter detektiert werden (Webster et al. 2014). Das 5XFAD-Mausmodell zeigt dabei zum Beispiel schon frühe Auffälligkeiten (Tang et al. 2016; Sánchez et al. 2023). Aber auch bei der 3xTg-Linie und Mausmodellen mit einzelnen FAD-Mutationen konnten mit Hilfe dieses Experiments Veränderungen im räumlichen Bezugsgedächtnis detektiert werden (Lalonde et al. 2002; Giménez-Llort et al. 2007).

Die herkömmliche Auswertung berücksichtigt bisher vor allem die Fluchtzeiten, zurückgelegte Distanzen, Quadrantenpräferenzen oder gemittelte Abstände zur Plattform (Jawhar et al. 2012; Villarreal-Silva et al. 2022). Das verschafft zwar einen allgemeinen Überblick über die Funktion des räumlichen Bezugsgedächtnisses, allerdings nicht über die Qualität des Suchvorganges. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit zusätzlich eine Suchstrategie-Analyse der einzelnen Testdurchläufe mit dem von Cooke *et al.* (2020) entwickelten Programm namens Pathfinder durchgeführt. Zu den allozentrischen und somit Hippokampus-abhängigen Strategien gehören der *direkte Pfad*, die *gerichtete Suche*, die *Schwerpunktsuche* und die *indirekt gerichtete Suche*, während das *Kreisen*, *Scannen*, das *zufällige Schwimmen* und die *Thigmotaxis* zu den egozentrischen Schwimmmustern gezählt werden (Garthe und Kempermann 2013; Illouz et al. 2016; Cooke et al. 2020).

Das Morris Water Maze beginnt mit dem dreitägigen *cued training*, welches der Überprüfung der Motorik und des Sehvermögens dient (Morris 1984). Die Plattform ist während dieser

Phase mit einer Fahne versehen, sodass die Mäuse bei der Orientierung den direkten Bezug zwischen der eigenen Lokalisation und dem Ziel, und damit das egozentrische Referenzsystem nutzen (Morris 1984; Coughlan et al. 2018). Bei dieser Art der Orientierung spielt insbesondere das dorsomediale Striatum eine bedeutende Rolle (Vorhees und Williams 2016). So zeigen bspw. Mäuse mit Läsionen im dorsomedialen Striatum Defizite bei der Nutzung egozentrischer Referenzsysteme, aber weniger bei der Einbeziehung von Hinweisen aus der Umgebung (McDonald und White 1994; Devan et al. 1999; Poucet et al. 2000). Neben dem Striatum sind außerdem der Thalamus, die Mamillarkörper, der entorhinale, parietale und okzipitale Kortex an der egozentrischen Navigation beteiligt (Devan et al. 1999; van Strien et al. 2009; Boccia et al. 2014; Rogers et al. 2017).

Trotz der ermittelten motorischen Defizite im Balance Beam und Open Field im Alter von 12 Monaten, waren alle transgenen Tiere dazu in der Lage die Plattform zu erreichen. Dabei konnten die Tg4-42-Mäuse in jedem getesteten Alter eine Reduktion der Fluchtlatenzen über die Tage erreichen. Auch die Geschwindigkeit unterschied sich während des gesamten Experiments nicht zwischen den Genotypen, sodass keine Beeinflussungen durch Unterschiede in der Motorik zu erwarten waren. Dies steht auch im Einklang mit der Beobachtung, dass eine Verringerung der lokomotorischen Landgeschwindigkeit nicht unbedingt die Schwimgeschwindigkeit beeinflusst und somit Beeinträchtigungen des MWM-Lernens unabhängig von lokomotorischen Effekten sind (Vorhees und Williams 2006). Darüber hinaus zeigten Wagner *et al.* (2019), dass die Bewegungsaktivität und die Muskelkraft in siebenmonatigen Tg4-42-Mäusen trotz beeinträchtigter Gleichgewichtsfunktion und motorischer Koordination unverändert bleiben.

Die Abnahme der Fluchtlatenzen über die Tage des *cued trainings* spricht grundsätzlich für ein funktionierendes egozentrisches Referenzsystem. Trotzdem benötigen die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse signifikant mehr Zeit, die Plattform zu erreichen, als die gleichaltrigen WT. Aus diesem Grund können visuelle Defizite der 12-monatigen Tg4-42-Mäuse nicht gänzlich ausgeschlossen werden. In Zukunft sollten aus diesem Grund zusätzlich visuell-unabhängige Tests durchgeführt werden, um kognitive Defizite von sensorischen differenzieren zu können (Stover und Brown 2012). Trotzdem zeigen die 12-monatigen Tg4-42-Mäuse am dritten Tag die gleiche Leistung wie die WT, sodass die Beeinflussung der Ergebnisse durch reduzierte motorische und visuelle Fähigkeiten auch im höheren Alter gering ist.

Das *acquisition training* und der *probe trial* sind spezifische Phasen zur Testung des räumlichen Bezugsgedächtnisses (Morris 1984). Während dieser Phasen wird die Orientierung der Mäuse anhand von Hinweisen in der Umgebung, also das allozentrische Bezugssystem getestet. Zu den beteiligten Hirnregionen gehört insbesondere der Hippokampus, aber auch der entorhinale, perirhinale und parietale Kortex (McDonald und White 1994; Save

und Poucet 2009; van Strien et al. 2009; Ramos 2017). Bisher wurden die Beobachtungen dieser beiden Testphasen ebenfalls anhand von Fluchtzeiten, zurückgelegten Distanzen, Quadrantenpräferenz oder Abständen zur Plattform analysiert (Jawhar et al. 2012; Villarreal-Silva et al. 2022). Bei der Auswertung des Tg4-42-Mausmodells mit diesen Analyse-Parameter konnten in vorherigen Arbeiten erste Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis ab einem Alter von fünf Monaten festgestellt werden, während mit drei Monaten noch keine Veränderungen auftraten (Bouter et al. 2013; Antonios et al. 2015).

In Bezug auf die Fluchtzeiten und Quadrantenpräferenzen im *acquisition training* und *probe trial* passen auch die Ergebnisse dieser Arbeit zu den Beobachtungen vorheriger Studien (Bouter et al. 2013; Antonios et al. 2015). Während die dreimonatigen Tg4-42-Mäuse keine Auffälligkeiten zeigen, ergeben sich mit sieben Monaten deutliche Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis, wobei jedoch noch eine flache Abnahme der Fluchtzeiten über die Tage zu verzeichnen ist. Im *probe trial* zeigen die siebenmonatigen Tg4-42-Mäuse außerdem noch eine Präferenz für den Zielquadranten. Die homozygoten 12-monatigen Tg4-42-Mäuse wurden bisher noch nicht im Morris Water Maze getestet. In diesem Alter kommt es zu keiner Abnahme der Fluchtlatenzen über das *acquisition training* und es zeigt sich auch keine Zielquadrantenpräferenz im *probe trial*. Daraus lässt sich schließen, dass es zwischen sieben und 12 Monaten nochmals zu einer Zunahme der Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis kommt.

Die Ergebnisse der älteren Mäuse kann durch die Suchstrategie-Analyse untermauert werden. Im Gegensatz zu den WT können für die Tg4-42-Mäuse mit sieben und 12 Monaten überwiegend räumlich unspezifische Suchstrategien über das *acquisition training* ermittelt werden. Während der Anteil der räumlich unspezifischen Suchmuster im *probe trial* bei den siebenmonatigen Tg4-42-Mäusen mit 45% schon deutlich größer ist als bei den gleichaltrigen WT, zeigen die 12-monatigen transgenen Tiere sogar 78% solcher Hippokampus-unabhängigen Strategien. Auch in anderen Alzheimer-Mausmodellen wurden bereits die Suchstrategien im Morris Water Maze analysiert. Die PDAPP-Mauslinie zeigt zum Beispiel weniger räumlich spezifische Suchstrategien, was sich auch schon anhand der Fluchtzeiten zeigt (Brody und Holtzman 2006). Auch bei *APP*-mutierten TgCRND8-Mäusen und der 5XFAD-Linie kann dieses Phänomen beobachtet werden (Janus 2004; Sánchez et al. 2023).

Auch die *Thigmotaxis*, als eine Hippokampus-unabhängige Strategie, wurde bei den älteren Tg4-42-Mäusen erkannt. Dabei bewegen sich die Tiere kreisend am Beckenrand entlang (Simon et al. 1994; Cooke et al. 2020). Solche Schwimmuster werden teilweise als Zeichen von Angst interpretiert, woraus sich dann erhöhte Fluchtlatenzen ergeben, ohne dass dadurch eine Aussage über die tatsächliche kognitive Verfassung getätigt werden kann (Simon et al. 1994; Higaki et al. 2018). Andere Gründe für thigmotaktische Schwimmuster sind Schädigungen bestimmter Hirnstrukturen. Nagetiere mit Läsionen des dorsomedialen Striatums oder der Colliculi superiores zeigen zum Beispiel ebenfalls überdurchschnittlich

häufig thigmotaktische Strategien (Devan et al. 1999; Garthe und Kempermann 2013). Auch wenn die *Thigmotaxis* im Tg4-42-Mausmodell mit steigendem Alter immer häufiger vorkommt, bildet diese Strategie dennoch eher die Ausnahme. Dass Angst ein Auslöser sein könnte, ist die unwahrscheinlichere Annahme, da sich dieses Schwimmuster eher im Laufe des *acquisition trainings* manifestiert und nicht zu Beginn, wenn die Testsituation noch fremd ist. Dies steht auch im Einklang mit den Ergebnissen der Angsttests, in denen kein generell erhöhtes Angstempfinden festgestellt werden konnte. Somit könnten eher degenerative Veränderungen des Striatums oder der Colliculi superiores die wenigen Fälle erklären, in denen *Thigmotaxis* festgestellt wurde (Bouter et al. 2013).

Bei den dreimonatigen Tieren bietet die Suchstrategie-Analyse eine höhere Sensitivität für frühe Defizite als die herkömmliche Auswertungsmethode. Sowohl die Fluchtzeiten, als auch die Quadrantenpräferenz ergeben keine Unterschiede zu den WT. Bei der Analyse der Suchstrategien wechseln die dreimonatigen Tg4-42-Mäuse jedoch verzögert zu räumlich spezifischen Suchstrategien. Daraus ergeben sich auch eine signifikant niedrigere Punktzahl in der kognitiven Bewertung und ein größerer Anteil räumlich unspezifischer Suchstrategien über das gesamte *acquisition training*. Auch im *probe trial* macht das zufällige Schwimmen bei den Tg4-42-Mäusen noch 28% aus, während die WT ausschließlich räumlich spezifische Suchstrategien zeigen. Diese Defizite wären in der herkömmlichen Analyse nicht erfasst worden. Diese Feststellung steht im Einklang mit den Beobachtungen von Karunakaran et al. (2020), wobei sich erst durch eine Suchstrategie-Analyse frühe Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis von bei *APP_{Swe}/PS1_{ΔE9}*-doppelmutierten Mäusen ergaben. Ebenso ergibt sich ein deutlicher Vorteil der Suchstrategieanalyse bei geringgradigen kognitiven Veränderungen, bspw. bedingt durch Neurogenese (Garthe und Kempermann 2013).

Somit stellt sich die Frage, wieso es möglich ist, dass sich solche kognitiven Einbußen nicht anhand verlängerter Fluchtzeiten zeigen. Wie bei den WT zu erkennen, führt der Lernzuwachs im Hippokampus-abhängigen allozentrischen Bezugssystem zum schnelleren Auffinden der versteckten Plattform. Bei Defiziten im allozentrischen Bezugssystem, kann jedoch auch mit der egozentrischen Navigation das Ziel erreicht werden (Hort et al. 2007; Hashimoto et al. 2020). Somit ist es möglich, dass Tiere mit deutlichen Defiziten im räumlichen Bezugsgedächtnis trotzdem auf diese Weise eine Verbesserung der Fluchtlatenzen im *acquisition training* und *probe trial* erreichen. Dies könnte erklären, weshalb sich die Fluchtzeiten der dreimonatigen Tg4-42-Mäuse trotz der Ergebnisse der Strategie-Analyse nicht von denen der WT unterscheiden. So sind auch hippocampektomierte Ratten dazu in der Lage, die versteckte Plattform zu finden, indem sie diese zusammen mit einem der nahegelegenen Hinweise als einen Ort wahrnehmen (Pearce et al. 1998). Dabei dienen die Hinweistafeln nicht der Bildung eines allozentrischen kartenähnlichen Systems, sondern erfüllen eher einen ähnlichen Zweck wie die Fahne im *cued training*. Eichenbaum et al. (1990) beobachteten, dass reduzierte Fluchtzeiten ebenfalls aus dem Hippokampus-unabhängigen Erlernen der Entfernung der Plattform zur Beckenwand resultieren können,

indem die Ratten kreisend immer im gleichen Abstand vom Rand schwimmen. Die Analyse der Suchstrategien im Morris Water Maze stellt somit also nicht nur eine sensitive Methode zur Detektion früher kognitiver Defizite dar, sondern hilft auch zu eruieren, ob die Verbesserung der Fluchtlatenzen wirklich auf die allozentrische Navigation zurückzuführen ist.

Unklar ist auch, weshalb bereits dreimonatige Tg4-42-Mäuse solche Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis zeigen, obwohl die Zellzahl in CA1 in diesem Alter noch unverändert bleibt (Bouter et al. 2013; Antonios et al. 2015). Dass der Hippokampus und insbesondere CA1 wichtige Strukturen des räumlichen Bezugsgedächtnisses darstellen, ist bekannt (Broadbent et al. 2004; van Strien et al. 2009). Jedoch scheint die Ermittlung der Zellzahl in dieser einen Hirnregion nicht für die vollständige Klärung der Ergebnisse des Morris Water Maze auszureichen. Aus diesem Grund sollte der Fokus auch auf andere A β ₄₂-induzierte Pathologien erweitert werden. Es konnte gezeigt werden, dass es in den Hippokampi von zweimonatigen Tg4-42-Mäusen bereits zu inflammatorischen Prozessen kommt (Bouter et al. 2013). Darüber hinaus stellten Bouter *et al.* (2019) mittels ¹⁸F-FDG-PET-Untersuchungen einen Glukose-Hypometabolismus dieser Region bei dreimonatigen Tieren fest, was sich auf eine reduzierte Aktivität von Synapsen zurückführen lässt. Ebenso beobachteten Dietrich *et al.* (2018) in diesem Mausmodell bereits synaptische Dysfunktionen in CA1, bevor es dort überhaupt zu einem signifikanten Nervenzellverlust kommt. Somit scheinen synaptische Veränderungen bereits zu deutlichen Defiziten in Hippokampus-abhängigen allozentrischen Referenzsystem zu führen, noch bevor es zu einer feststellbaren Zellreduktion in CA1 kommt.

Dass auch andere Faktoren neben dem Nervenzellverlust in CA1 eine Rolle bei der Entstehung von Defiziten des räumlichen Bezugsgedächtnisses spielen, ergibt sich auch aus den Beobachtungen bei den 12-monatigen Tg4-42-Mäusen. Dabei lässt sich, trotz stagnierender Zellzahl in dieser Region, eine weitere Verschlechterung im Morris Water Maze im Vergleich zu den siebenmonatigen Tieren beobachten. Dazu können degenerative Prozesse anderer Hirnregionen beitragen, die die Bewegungsorganisation, die räumliche Navigation oder auch die motorische Leistung beeinflussen. Zu diesen Strukturen gehören die Amygdala, der präfrontale Kortex, das Striatum, das Kleinhirn, der Thalamus und der Locus coeruleus (D'Hooge und De Deyn 2001; Puzzo et al. 2014; Kaufman et al. 2020). Interessanterweise kommt es teilweise auch in diesen Hirnregionen mit zunehmendem Alter zu einer Abnahme des Glukose-Metabolismus in Tg4-42-Mäusen (Bouter et al. 2019).

Allerdings scheinen neben CA1 auch andere Subregionen des Hippokampus relevant für das räumliche Bezugsgedächtnis zu sein. Im Tiermodell und beim Menschen sind sowohl posteriore als auch anteriore Anteile des Hippokampus dabei involviert (Iaria et al. 2007; Avigan et al. 2020). Während CA2 vor allem zur Verarbeitung temporärer, emotionaler und sozialer Aspekte benötigt wird, ist CA3 eher an der Verarbeitung und Speicherung räumlicher Informationen beteiligt (Stupien et al. 2003; Mankin et al. 2015; Dong et al.

2021). Ebenso beeinflussen die Exzitationen von CA3 die Aktivität von CA1 (Middleton und McHugh 2016). Der Gyrus dentatus ist Teil der Langzeitpotenzierung und dient darüber hinaus der Verarbeitung sensorischer, darunter auch räumlicher Informationen (Bliss und Collingridge 1993; Kesner 2018). Damit einhergehend konnte eine gesteigerte Aktivität dieser Region beim Erkunden neuer, aber auch bekannter Umgebungen festgestellt werden (Bye und McDonald 2019). Durch das Hervorrufen von Läsionen verschiedener hippocampaler Areale wurde gezeigt, dass CA1 zwar wichtig für das räumliche Bezugsgedächtnis ist, aber auch Läsionen des Gyrus dentatus Defizite im Morris Water Maze hervorrufen können (Jeltsch et al. 2001; Okada et al. 2003). Dass auch im Tg4-42-Mausmodell diese hippocampalen Subregionen von degenerativen Prozessen betroffen sind, kann anhand des Nervenzellverlustes bestätigt werden. Mit sieben Monaten kommt es zu einer Zellreduktion um 28% in CA2/3 und 14% im Gyrus dentatus (Bouter et al. 2019). Auch wenn CA1 stärker von der A β ₄₋₄₂-Expression und der Degeneration betroffen ist, ist die Beeinflussung der Ergebnisse des Morris Water Maze durch den Nervenzelluntergang anderer Subregionen somit möglich.

Insgesamt lässt sich daraus schließen, dass die A β -Pathologie im Tg4-42-Mausmodell noch früher zu Defiziten im räumlichen Bezugsgedächtnis führt als bisher angenommen. Das heißt auch, dass es schon zu kognitiven Einbußen kommt, noch bevor sich die Zellzahl signifikant reduziert. Diese Erkenntnis ist nicht nur wichtig für das Verständnis der Toxizität von A β ₄₋₄₂, sondern auch relevant für den richtigen Zeitpunkt der Einleitung von potentiellen Therapien in präklinischen Versuchsreihen. Auch die Analyse der Suchstrategien erwies sich als sinnvoll. Programme wie Pathfinder von Cooke *et al.* (2020) können zukünftig zu neuen Erkenntnissen bezüglich kognitiver Einbußen in Tiermodellen beitragen. Dadurch würde nicht nur eine höhere Sensitivität bei der Detektion möglicher kognitiver Defizite erreicht werden, sondern auch eine genauere Einschätzung der Qualität der Suchvorgänge. Darüber hinaus bestärken diese Ergebnisse auch noch einmal die Wichtigkeit der Berücksichtigung allozentrischer Navigationsfähigkeiten für die frühzeitige Alzheimer-Diagnostik beim Menschen.

4.5 Tg4-42-Mäuse weisen keine Defizite im Hippokampus-abhängigen räumlichen Arbeitsgedächtnis auf

Es ist allseits bekannt, dass die Degeneration des Hippokampus eine zentrale Rolle bei der Pathogenese der Alzheimer-Erkrankung spielt. Damit einhergehend kommt es nicht nur zu Defiziten des räumlichen Bezugsgedächtnisses und des allozentrischen Referenzsystems, sondern auch zur Beeinträchtigung von Exekutivfunktionen (Albert et al. 2011; Guarino et al. 2018; Hashimoto et al. 2020). Dazu zählen maßgeblich das räumliche Arbeitsgedächtnis und die kognitive Flexibilität (Guarino et al. 2018).

Das räumliche Arbeitsgedächtnis ist die kognitive Fähigkeit neue visuell-räumliche Informationen kurzfristig zu speichern, mit vorhandenen abzugleichen und ins

Langzeitgedächtnis zu überführen. Es dient der Problemlösung und dem Erwerb neuen Wissens (Logie und Marchetti 1991; Chai et al. 2018). Dass dabei insbesondere der Hippokampus eine relevante Hirnstruktur darstellt, konnten Means *et al.* (1971) anhand hippokampektomierter Ratten zeigen, die deutliche Defizite im Y-Maze aufwiesen. Neben dem Hippokampus gehören zu den beteiligten Hirnstrukturen aber auch der präfrontale Kortex, das dorsale Striatum, der Thalamus und vestibuläre Regionen (Lalonde 2002; Guarino et al. 2018).

Das Cross Maze ist ein etabliertes Verhaltensexperiment zur Testung des räumlichen Arbeitsgedächtnisses bei Nagetieren (Wietrzych et al. 2005; Cleal et al. 2021). Dafür werden die Tiere einzeln nacheinander in ein kreuzförmiges Labyrinth überführt, woraufhin sie ihre Umgebung frei explorieren dürfen. Anhand des Explorationsverhaltens und der ermittelten Armwechsel können Rückschlüsse auf die kognitive Verfassung gezogen werden (Wietrzych et al. 2005; Jawhar et al. 2012). In diesem Zusammenhang wird das natürliche Verhalten von WT, jeden Arm nacheinander zu erkunden, bevor einer wiederholt betreten wird, als Maßstab für ein intaktes räumliches Arbeitsgedächtnis angenommen (Lalonde 2002). Darüber hinaus kann die zurückgelegte Distanz in diesem Experiment Hinweise auf lokomotorische Defizite geben.

Auch beim Tg4-42-Mausmodell konnte anhand der zurückgelegten Distanzen während des Experiments eine signifikante Aktivitätsabnahme mit zunehmendem Alter detektiert werden. Dazu passen auch die Ergebnisse des Balance Beams, wobei sich im Alter von 12 Monaten deutliche motorische Defizite zeigen. Ebenso unterscheiden sich die im Open Field und Elevated Plus Maze zurückgelegten Distanzen deutlich von denen der Wildtypen. Dies kann auf lokomotorische Defizite oder ein verändertes Explorationsverhalten hinweisen, die sich testübergreifend manifestieren (Seibenhener und Wooten 2015; Wagner et al. 2019).

Um mögliche Auswirkungen solcher lokomotorischer Defizite auf die Ergebnisse des Cross Maze-Tests zu reduzieren, wird eine Armwechselrate anhand der individuellen Anzahl der Arm-Eintritte berechnet (Arendash et al. 2001). Das bedeutet, dass sich der Anteil der erfolgreichen Armwechsel-Abläufe immer auf die Gesamtzahl der individuell durchgeführten Arm-Eintritte bezieht.

Da der Hippokampus auch früh von der Alzheimer-Pathologie betroffen ist, ist es nicht verwunderlich, dass auch einige Mausmodelle mit FAD-Mutationen, wie zum Beispiel 5XFAD-Mäuse, eine auffällige Armwechselrate im Y- oder T-Maze zeigen (Oakley et al. 2006; Jawhar et al. 2012). Ähnliche Defizite lassen sich auch beim Tg2576-Mausmodell feststellen (Miedel et al. 2017). Dabei fallen diese Alzheimer-Mausmodelle vor allem durch eine Reduktion der Armwechselrate auf.

Interessanterweise zeigen sich im Tg4-42-Mausmodell jedoch keine Auffälligkeiten. Das ist einerseits verwunderlich, da es nachweislich zu A β ₄₋₄₂-induziertem Nervenzellverlust in der Hippokampus-Region kommt. Andererseits konnten in früheren Arbeiten ebenfalls keine

pathologischen Veränderungen dieser Mauslinie im Cross Maze festgestellt werden (Bouter 2015; Lopez-Noguerola 2018). Interessant ist auch, dass TBA42-Mäuse, welche mit $A\beta_{4-42}$ und $A\beta_{pE3-42}$ gleich zwei toxische Varianten exprimieren, ebenfalls keine Defizite im Cross Maze zeigen (Lopez-Noguerola 2018). Neben diesen SAD-Modellen verhalten sich auch manche FAD-Mauslinien, wie $PS1_{M146L}$ oder $PS1_{M146L}/APP_{670,671}$ -mutierte Mäuse unauffällig in diesem Experiment (Holcomb et al. 1999; Arendash et al. 2001).

Somit ergibt sich die Frage, weshalb manche Mäuse trotz bekannter hippokampaler Degeneration ein intaktes Arbeitsgedächtnis in diesen Verhaltensexperimenten zeigen. Einerseits sind neben dem Hippokampus auch noch das dorsale Striatum, der Thalamus, der präfrontale Kortex und vestibuläre Regionen am räumlichen Arbeitsgedächtnis beteiligt, wodurch es zu einer gewissen Kompensation kommen könnte, zum Beispiel durch die Nutzung des egozentrischen Referenzsystems (Lalonde 2002; Rinaldi et al. 2020). Dafür spricht auch, dass es trotz der bekannten $A\beta_{4-42}$ -Expression im Striatum der Tg4-42-Mäuse bis zu einem Alter von mindestens sechs Monaten, im Gegensatz zum Hippokampus, noch zu keiner Reduktion der Nervenzellzahl kommt (Bouter et al. 2013; Gießen 2019). Im Einklang mit dieser Annahme steht außerdem, dass 5XFAD-Mäuse auch ohne signifikanten Nervenzellverlust im Hippokampus deutliche Defizite im Cross Maze zeigen (Jawhar et al. 2012). Somit scheinen andere Hirnregionen ebenfalls von großer Relevanz für die Leistungen im Cross Maze zu sein.

Ein anderer Grund für die Ergebnisse im Cross Maze könnte die Beobachtung von Deacon und Rawlins (2006) sein. Sie zeigten, dass Mäuse mit Hippokampus-Läsionen dazu neigen, eine Seitenpräferenz zu entwickeln, was dann eine höhere Armwechselrate zur Folge haben kann. Dabei sei angemerkt, dass bei sieben- und 12-monatigen Tg4-42-Mäusen nur noch etwa die Hälfte der Nervenzellen in CA1 vorhanden ist. Es ist also möglich, dass eine so starke Degeneration ein ähnliches Phänomen hervorgerufen haben könnte.

Insgesamt ist es verwunderlich, dass das Tg4-42-Mausmodell in jedem getesteten Alter über ein intaktes räumliches Arbeitsgedächtnis verfügt, obwohl es im Hippokampus zu einer ausgeprägten Degeneration kommt. Möglicherweise könnte auch im Cross Maze eine Analyse der Strategien Aufschluss darüber bringen, aus welchen Gründen keine altersabhängigen Defizite anhand der Armwechselrate ermittelt werden konnten. Des Weiteren könnten auch in diesem Fall weiterführende Analysen verschiedener Hirnregionen zum Verständnis beitragen. Auf Grund ihrer Relevanz für das räumliche Arbeitsgedächtnis sollten in Zukunft auch der präfrontale Kortex, das Striatum, der Thalamus und vestibuläre Regionen dieses Mausmodells genauer untersucht werden.

4.6 Ausblick

Diese Arbeit untermauert nochmals, welche bedeutende Rolle insbesondere $A\beta_{4-42}$ bei der Alzheimer-Demenz spielt. Somit stellt diese $A\beta$ -Spezies schlussendlich ein vielversprechendes Ziel für potentielle Therapieansätze dar.

Es wurde bereits gezeigt, dass sich kognitive Beeinträchtigungen und auch der Zelluntergang durch den Einsatz eines Antikörpers gegen $A\beta_{4-42}$ und pyroglutamat- $A\beta_{3-42}$ *in vivo* reduzieren lassen (Antonios et al. 2015). Besonders zu betonen sind jedoch die von der FDA bereits zugelassenen Medikamente Aducanumab und Lecanemab (European Medicine Agency 2022; Reardon 2023). Aducanumab, oder auch Aduhelm, bindet an die Aminosäuren 3-7 vom $A\beta$ und bewirkt somit eine Verlangsamung des Krankheitsverlaufes (Sevigny et al. 2016; Salloway et al. 2022). In Deutschland und der EU wird derzeit eine erneute Prüfung und Bewertung des Nebenwirkungsprofils von Aducanumab durchgeführt (Biogen Inc. und Eisai Co. 2021; European Medicine Agency 2022; Söderberg et al. 2022). Auch Lecanemab mit dem Handelsnamen Leqembi wirkt nach dem Prinzip der passiven Immunisierung und bindet gezielt an lösliche $A\beta$ -Oligomere und -Fibrillen. Lequembi ist dabei vor allem für frühe Stadien der Alzheimer-Demenz vorgesehen (Swanson et al. 2021; Biogen Inc. und Eisai Co. 2022).

Wie vielversprechend lösliches und N-trunkiertes $A\beta$ als Angriffspunkt für potentielle Therapien ist, zeigt sich auch in den klinischen Studien von Donanemab. Die Zulassung dieses Antikörpers gegen $A\beta_{p3-42}$ wird derzeit von der FDA geprüft (DeMattos et al. 2012; Eli Lilly and Company's 2021; Shcherbinin et al. 2022). Neben diesen Therapieansätzen nach dem Prinzip der passiven Immunisierung gab es kürzlich auch einen Erfolg bei der aktiven Immunisierung mit einer zyklisierten $A\beta_{1-14}$ -Form in zwei Alzheimer-Mausmodellen, nämlich der 5XFAD- und Tg4-42-Linie, zu verzeichnen (Bakrania et al. 2022). Die mögliche Impfung gegen Alzheimer rückt somit also in greifbare Nähe.

Zur Entwicklung solcher vielversprechenden Therapien gehören jedoch immer Versuche im Tiermodell. Insbesondere bei der Alzheimer-Demenz ist das Morris Water Maze dabei eines der populärsten Verhaltensexperimente. Für solche Studien könnte die Suchstrategie-Analyse mit Pathfinder in Zukunft von Vorteil sein. So wie die Analyse der Suchstrategien im Tg4-42-Mausmodell frühere Defizite ergab, könnten auch kleinere Therapieerfolge erkannt und weiterverfolgt werden. Insbesondere im Hinblick auf die Wirksamkeit bestimmter Medikamente in sehr frühen Stadien der Alzheimer-Erkrankung könnte eine Suchstrategieanalyse somit sinnvoll sein. Darüber hinaus erlaubt eine Unterscheidung zwischen allo- und egozentrischen Navigationsstrategien eine qualitative Bewertung der Orientierungsfähigkeit und einen Rückschluss auf die geschädigten Strukturen und die Wirksamkeit von Medikamenten.

Dass also Defizite im räumlichen Bezugsgedächtnis zu den frühen MCI- und Alzheimer-Symptomen gehören, kann ebenso von Nutzen für die Diagnostik sein. Während bei der

Erfassung des Orientierungsvermögens bisher bspw. im MMST eher zweidimensionale (2D) visokonstruktive Aufgaben eine Rolle spielten (Folstein et al. 1975), gibt es derzeit immer mehr Forschungsgruppen, die sich mehr auf allozentrische Defizite konzentrieren. Peter *et al.* (2018) stellten fest, dass dreidimensionale (3D)-Versuche viele herkömmliche 2D-Aufgaben in ihrer Aussagekraft im Stadium der MCI übersteigen. Analog zu realen 3D-Tests, die meist sehr aufwendig sind, wird auch immer häufiger die virtuelle Technologie genutzt. Allison *et al.* (2019) führten bspw. eine Labyrinth-Simulation per Computer durch, mit der milde kognitive Symptome mit einer hohen Sensitivität erfasst werden konnten. Die Leistung in solchen virtuellen Simulationen und Aufgaben korreliert dabei negativ mit dem Volumen des entorhinalen Kortex und somit mit einer frühzeitig von der Pathologie betroffenen Hirnstruktur (Braak und Braak 1991; Li et al. 2011; Howett et al. 2019).

Somit gibt es also nicht nur Forschungsdurchbrüche bei der Entwicklung von Therapien, sondern auch in der Diagnostik. Bei der Früherkennung spielt weiterhin die klinische Manifestation eine entscheidende Rolle, sodass die Testung allozentrischer Bezugssysteme ein großes Potential für klinische Studien und auch zur Detektion der Alzheimer-Demenz im MCI-Stadium birgt. Die Suchstrategie-Analyse im Morris Water Maze ist außerdem eine sinnvolle Ergänzung für zukünftige Versuche im Tiermodell und kann in Zukunft zur Entwicklung neuer Therapien beitragen.

5 Zusammenfassung

Die Alzheimer-Demenz ist eine neurodegenerative Erkrankung, bei der es typischerweise zur Bildung von hyperphosphorylierten Tau-Fibrillenbündeln, neuritischen Plaques, löslichem A β und Nervenzellverlust kommt. Daraus resultieren kognitive Defizite, wobei insbesondere Orientierungsschwierigkeiten schon in der präklinischen Phase manifest werden. Besonders von Bedeutung bei der Nervenzellschädigung sind lösliche intrazelluläre A β -Oligomere, die aufgrund eines erhöhten Aggregationsbestrebens ein hohes Maß an Toxizität aufweisen. Eine wichtige Isoform ist das N-trunkierte A β_{442} , welches nicht nur sehr toxische Eigenschaften *in vitro* und *in vivo* birgt, sondern auch eine der häufigsten Varianten in humanen Alzheimer-Gehirnen darstellt. Im Tg4-42-Mausmodell wird Thy1-Promotor-gesteuert ausschließlich A β_{442} exprimiert. Dies ermöglicht die Analyse der kognitiven Defizite und zellulären Veränderungen, die allein auf diese Isoform zurückzuführen sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde an vorherige Studien zum Tg4-42-Mausmodell angeknüpft und eine weiterführende Charakterisierung der Verhaltensdefizite und des Nervenzellverlustes in homozygoten Tieren vorgenommen. Mit Hilfe der Design-basierten Stereologie konnte gezeigt werden, dass die A β_{442} -Expression in CA1 des Hippokampus mit einer Reduktion der Neuronenanzahl einhergeht. Während sich ein signifikanter Nervenzellverlust von ca. 45% zwischen den drei- und siebenmonatigen Mäusen zeigt, kommt es zu keiner weiteren Reduktion mit steigendem Alter.

Im Angstverhalten ergeben sich keine testübergreifenden Veränderungen. Während das Tg4-42-Mausmodell im Open Field keine Auffälligkeiten zeigt, konnte im Elevated Plus Maze ein reduziertes Angstempfinden im Alter von 12 Monaten beobachtet werden. In diesem Alter kommt es auch zu einer Reduktion des Explorationsbestrebens und zu motorischen Defiziten, wovon die Leistung im Morris Water Maze jedoch weitestgehend unbeeinflusst bleibt.

Interessanterweise zeigen homozygote Tg4-42-Mäuse ein unauffälliges Verhalten im Cross Maze, obwohl es nachweislich zum Nervenzelluntergang im Hippokampus kommt. Dennoch weist das Mausmodell deutliche Defizite im Morris Water Maze und somit im räumlichen Bezugsgedächtnis auf. Im Bezug auf die allozentrischen Bezugssysteme können sogar erste Auffälligkeiten in jungen dreimonatigen Mäusen erfasst werden. Diese wechseln dabei deutlich später zu räumlich spezifischen Strategien als die gleichaltrigen WT. Das heißt, dass schon dreimonatige Tg4-42-Mäuse Defizite in der Nutzung allozentrischer Navigationsstrukturen aufweisen, was anhand der Fluchtzeiten nicht hätte erfasst werden können. Die Analyse mit Pathfinder ermöglichte außerdem eine Bestimmung der Qualität des Suchvorganges der Mäuse und somit eine genauere Differenzierung kognitiver Defizite

in allozentrischen und egozentrischen Referenzsystemen. Mit steigendem Alter zeigen die homozygoten Tg4-42-Mäuse dabei eine Abnahme räumlich spezifischer Suchstrategien.

Die Defizite in den Verhaltensexperimenten lassen sich nicht gänzlich durch den Nervenzellverlust in CA1 erklären. Eine wichtige Rolle könnte die Schädigung von Synapsen oder die Degeneration weiterer involvierter Hirnstrukturen spielen, was in Zukunft geklärt werden sollte. Umso wichtiger ist die Suchstrategie-Analyse in Zukunft für präklinische pharmakologische Studien, da sie eine sensitive Erfassung früher kognitiver Veränderungen ermöglicht. Auch die in dieser Arbeit ermittelten Auswirkungen von A β_{4-42} auf die Kognition und den Nervenzellverbleib untermauert darüber hinaus nochmals das Potential dieser Variante als Zielstruktur möglicher therapeutischer Ansätze.

6 Literaturverzeichnis

- Armstrong AR (2019): Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol* 57, 87–105
- Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, Holtzman DM, Jagust WJ, Petersen RC, et al. (2011): The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 7, 270–279
- Allison SL, Rodebaugh TL, Johnston C, Fagan AM, Morris JC, Head D (2019): Developing a Spatial Navigation Screening Tool Sensitive to the Preclinical Alzheimer Disease Continuum. *Arch Clin Neuropsychol Off J Natl Acad Neuropsychol* 34, 1138–1155
- Alonso A, Jacobs DR, Menotti A, Nissinen A, Dontas A, Kafatos A, Kromhout D (2009): Cardiovascular risk factors and dementia mortality: 40 years of follow-up in the Seven Countries Study. *J Neurol Sci* 280, 79–83
- Alonso AC, Grundke-Iqbal I, Iqbal K (1996): Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med* 2, 783–787
- Alves J, Petrosyan A, Magalhães R (2014): Olfactory dysfunction in dementia. *World J Clin Cases* 2, 661–667
- Alzheimer's Assoziation Report (2021): 2021 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 17, 327–406
- Alzheimer A (1907): Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Z Psychiatr* 64, 146–148
- Andel R, Crowe M, Pedersen NL, Fratiglioni L, Johansson B, Gatz M (2008): Physical exercise at midlife and risk of dementia three decades later: a population-based study of Swedish twins. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63, 62–66
- Antonios G, Borgers H, Richard BC, Brauß A, Meißner J, Weggen S, Pena V, Pillot T, Davies SL, Bakrania P, Matthews D, Brownlees J, Bouter Y, Bayer TA (2015): Alzheimer therapy with an antibody against N-terminal Abeta 4-X and pyroglutamate Abeta 3-X. *Sci Rep* 5, 17338
- Arendash GW, King DL, Gordon MN, Morgan D, Hatcher JM, Hope CE, Diamond DM (2001): Progressive, age-related behavioral impairments in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin-1 transgenes. *Brain Res* 891, 42–53
- Arevalo-Rodriguez I, Smailagic N, Roqué-Figuls M, Ciapponi A, Sanchez-Perez E, Giannakou A, Pedraza OL, Bonfill Cosp X, Cullum S (2021): Mini-Mental State Examination (MMSE) for the early detection of dementia in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst Rev* 7, CD010783
- Arnsten AFT, Datta D, Del Tredici K, Braak H (2021): Hypothesis: Tau pathology is an initiating factor in sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 17, 115–124
- Arriagada PV, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Hyman BT (1992): Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 42, 631–639

- Ashton D, Van Reempts J, Haseldonckx M, Willems R (1989): Dorsal-ventral gradient in vulnerability of CA1 hippocampus to ischemia: a combined histological and electrophysiological study. *Brain Res* 487, 368–372
- Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, Leuzy A, van der Ende EL, Karikari TK, Benedet AL, Pascoal TA, Lleó A, Parnetti L, et al. (2021): A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nat Commun* 12, 3400
- Asken BM, Elahi FM, La Joie R, Strom A, Staffaroni AM, Lindbergh CA, Apple AC, You M, Weiner-Light S, Brathaban N, et al. (2021): Plasma Glial Fibrillary Acidic Protein Levels Differ Along the Spectra of Amyloid Burden and Clinical Disease Stage. *J Alzheimers Dis JAD* 80, 471–474
- Atri A (2019): The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. *Med Clin North Am* 103, 263–293
- Avigan PD, Cammack K, Shapiro ML (2020): Flexible spatial learning requires both the dorsal and ventral hippocampus and their functional interactions with the prefrontal cortex. *Hippocampus* 30, 733–744
- Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F (2004): Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* 84, 361–384
- Azocar I, Livingston G, Huntley J (2021): The Association Between Impaired Awareness and Depression, Anxiety, and Apathy in Mild to Moderate Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Front Psychiatry* 12, 633081
- Baitsch D, Bock HH, Engel T, Telgmann R, Müller-Tidow C, Varga G, Bot M, Herz J, Robenek H, von Eckardstein A, Nofer J-R (2011): Apolipoprotein E (ApoE) induces anti-inflammatory Phenotype in Macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31, 1160–1168
- Bakrania P, Hall G, Bouter Y, Bouter C, Beindorff N, Cowan R, Davies S, Price J, Mpamhanga C, Love E, et al. (2022): Discovery of a novel pseudo β -hairpin structure of N-truncated amyloid- β for use as a vaccine against Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 27, 840-848
- Balleine BW, O'Doherty JP (2010): Human and Rodent Homologies in Action Control: Corticostriatal Determinants of Goal-Directed and Habitual Action. *Neuropsychopharmacology* 35, 48–69
- Balson R, Gibson PR, Ames D, Bhathal PS (1995): Tacrine-Induced Hepatotoxicity. *CNS Drugs* 4, 168–181
- Bang J, Spina S, Miller BL (2015): Non-Alzheimer's dementia 1. *Lancet Lond Engl* 386, 1672–1682
- Bannerman DM, Grubb M, Deacon RMJ, Yee BK, Feldon J, Rawlins JNP (2003): Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behav Brain Res* 139, 197–213
- Bayer TA, Wirths O (2011): Intraneuronal A β as a trigger for neuron loss: can this be translated into human pathology? *Biochem Soc Trans* 39, 857–861
- Bayer TA, Wirths O (2014): Focusing the amyloid cascade hypothesis on N-truncated Abeta peptides as drug targets against Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 127, 787–801
- Benedet AL, Leuzy A, Pascoal TA, Ashton NJ, Mathotaarachchi S, Savard M, Therriault J, Kang MS, Chamoun M, Schöll M, et al. (2020): Stage-specific links between plasma neurofilament light and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Brain J Neurol* 143, 3793–3804

- Bentham P, Gray R, Sellwood E, Raftery J (1999): Effectiveness of rivastigmine in Alzheimer's disease. *BMJ* 319, 640
- Bialosterski BT, Prickaerts J, Rahnama'i MS, de Wachter S, van Koeveeringe GA, Meriaux C (2015): Changes in voiding behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 7, 160
- Bien J, Jefferson T, Causević M, Jumpertz T, Munter L, Multhaup G, Weggen S, Becker-Pauly C, Pietrzik CU (2012): The metalloprotease meprin β generates amino terminal-truncated amyloid β peptide species. *J Biol Chem* 287, 33304–33313
- Biogen Inc. und Eisai Co. (2021): Update on the phase 4 confirmatory study of aduhelm. <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/update-phase-4-confirmatory-study-aduhelm>; abgerufen am 31.10.2022
- Biogen Inc. und Eisai Co. (2022): Eisai presents full results of lecanemab phase 3 confirmatory clarity ad study for early alzheimer's disease at clinical trials on alzheimer's disease (ctad) conference. <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/eisai-presents-full-results-lecanemab-phase-3-confirmatory>; abgerufen am 22.01.2023
- Bjerke M, Engelborghs S (2018): Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Early and Differential Alzheimer's Disease Diagnosis. *J Alzheimers Dis JAD* 62, 1199–1209
- Bliss TV, Collingridge GL (1993): A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31–39
- Boccia M, Nemmi F, Guariglia C (2014): Neuropsychology of Environmental Navigation in Humans: Review and Meta-Analysis of fMRI Studies in Healthy Participants. *Neuropsychol Rev* 24, 236–251
- Bouter C, Henniges P, Franke TN, Irwin C, Sahlmann CO, Sichler ME, Beindorff N, Bayer TA, Bouter Y (2019): 18F-FDG-PET Detects Drastic Changes in Brain Metabolism in the Tg4–42 Model of Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci* 10, 425
- Bouter Y: The role of amyloid beta 4-42 in the etiology of Alzheimer's disease. *Rev. Nat. Diss. Göttingen* 2015
- Bouter Y, Dietrich K, Wittnam JL, Rezaei-Ghaleh N, Pillot T, Papot-Couturier S, Lefebvre T, Sprenger F, Wirths O, Zweckstetter M, Bayer TA (2013): N-truncated amyloid β ($A\beta$) 4-42 forms stable aggregates and induces acute and long-lasting behavioral deficits. *Acta Neuropathol* 126, 189–205
- Bouter Y, Kacprowski T, Weissmann R, Dietrich K, Borgers H, Brau-Ä A, Sperling C, Wirths O, Albrecht M, Jensen LR, Kuss AW, Bayer TA (2014): Deciphering the Molecular Profile of Plaques, Memory Decline and Neuron Loss in Two Mouse Models for Alzheimer's Disease by Deep Sequencing. *Front Aging Neurosci* 6, 75
- Braak H, Braak E (1991): Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 82, 239–259
- Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE (2004): Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 14515–14520
- Brody DL, Holtzman DM (2006): Morris water maze search strategy analysis in PDAPP mice before and after experimental traumatic brain injury. *Exp Neurol* 197, 330–340

- Busch C, Bohl J, Ohm TG (1997): Spatial, temporal and numeric analysis of Alzheimer changes in the nucleus coeruleus. *Neurobiol Aging* 18, 401–406
- Butterfield DA, Reed T, Newman SF, Sultana R (2007): Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Radic Biol Med* 43, 658–677
- Bye CM, McDonald RJ (2019): A Specific Role of Hippocampal NMDA Receptors and Arc Protein in Rapid Encoding of Novel Environmental Representations and a More General Long-Term Consolidation Function. *Front Behav Neurosci* 13, 8
- Cacace R, Slegers K, Van Broeckhoven C (2016): Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimers Dement* 12, 733–748
- Cai H, Wang Y, McCarthy D, Wen H, Borchelt DR, Price DL, Wong PC (2001): BACE1 is the major beta-secretase for generation of Abeta peptides by neurons. *Nat Neurosci* 4, 233–234
- Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martin C, Charbonnier F, et al. (1999): Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet* 65, 664–670
- Cao X, Südhof TC (2001): A transcriptionally [correction of transcriptively] active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science* 293, 115–120
- Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P (2002): Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav Brain Res* 134, 49–57
- Carrillo-Mora P, Luna R, Colín-Barenque L (2014): Amyloid beta: multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? *Oxid Med Cell Longev* 2014, 795375
- Casas C, Sergeant N, Itier J-M, Blanchard V, Wirths O, van der Kolk N, Vingtdoux V, van de Steeg E, Ret G, Canton T, et al. (2004): Massive CA1/2 neuronal loss with intraneuronal and N-terminal truncated Abeta42 accumulation in a novel Alzheimer transgenic model. *Am J Pathol* 165, 1289–1300
- Castellano JM, Kim J, Stewart FR, Jiang H, DeMattos RB, Patterson BW, Fagan AM, Morris JC, Mawuenyega KG, Cruchaga C, et al. (2011): Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Sci Transl Med* 3, 89ra57
- Cawood EE, Karamanos TK, Wilson AJ, Radford SE (2021): Visualizing and trapping transient oligomers in amyloid assembly pathways. *Biophys Chem* 268, 106505
- Chai WJ, Abd Hamid AI, Abdullah JM (2018): Working Memory From the Psychological and Neurosciences Perspectives: A Review. *Front Psychol* 9, 401
- Cheignon C, Tomas M, Bonnefont-Rousselot D, Faller P, Hureau C, Collin F (2018): Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biol* 14, 450–464
- Chen C, Hu Z, Jiang Z, Zhou F (2018): Prevalence of anxiety in patients with mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord* 236, 211–221
- Chen JY, Stern Y, Sano M, Mayeux R (1991): Cumulative risks of developing extrapyramidal signs, psychosis, or myoclonus in the course of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 48, 1141–1143

- Chen Z, Zhong C (2014): Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurosci Bull* 30, 271–281
- Christensen DZ, Huettenrauch M, Mitkovski M, Pradier L, Wirths O (2014): Axonal degeneration in an Alzheimer mouse model is PS1 gene dose dependent and linked to intraneuronal A β accumulation. *Front Aging Neurosci* 6, 139
- Chu T-H, Cummins K, Sparling JS, Tsutsui S, Brideau C, Nilsson KPR, Joseph JT, Stys PK (2017): Axonal and myelinic pathology in 5xFAD Alzheimer's mouse spinal cord. *PLOS ONE* 12, e0188218
- Ciesielska N, Sokolowski R, Mazur E, Podhorecka M, Polak-Szabela A, Kędziora-Kornatowska K (2016): Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) test better suited than the Mini-Mental State Examination (MMSE) in mild cognitive impairment (MCI) detection among people aged over 60? Meta-analysis. *Psychiatr Pol* 50, 1039–1052
- Cimdins K, Waugh HS, Chrysostomou V, Lopez Sanchez MIG, Johannsen VA, Cook MJ, Crowston JG, Hill AF, Duce JA, Bush AI, Trounce IA (2019): Amyloid Precursor Protein Mediates Neuronal Protection from Rotenone Toxicity. *Mol Neurobiol* 56, 5471–5482
- Claassen JAHR, Jansen RWMM (2006): Cholinergically mediated augmentation of cerebral perfusion in Alzheimer's disease and related cognitive disorders: the cholinergic-vascular hypothesis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61, 267–271
- Clark CM, Pontecorvo MJ, Beach TG, Bedell BJ, Coleman RE, Doraiswamy PM, Fleisher AS, Reiman EM, Sabbagh MN, Sadowsky CH, et al. (2012): Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid- β plaques: a prospective cohort study. *Lancet Neurol* 11, 669–678
- Cleal M, Fontana BD, Ranson DC, McBride SD, Swinny JD, Redhead ES, Parker MO (2021): The Free-movement pattern Y-maze: A cross-species measure of working memory and executive function. *Behav Res Methods* 53, 536–557
- Collin NG, Cowey A, Latto R, Marzi C (1982): The role of frontal eye-fields and superior colliculi in visual search and non-visual search in rhesus monkeys. *Behav Brain Res* 4, 177–193
- Cooke MB, O'Leary TP, Harris P, Ma R, Brown RE, Snyder JS (2020): Pathfinder: open source software for analyzing spatial navigation search strategies. *F1000Research* 8, 1521
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA (1993): Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261, 921–923
- Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Rimmler JB, Locke PA, Conneally PM, Schmechel KE (1994): Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* 7, 180–184
- Coughlan G, Laczó J, Hort J, Minihane A-M, Hornberger M (2018): Spatial navigation deficits — overlooked cognitive marker for preclinical Alzheimer disease? *Nat Rev Neurol* 14, 496–506
- Cryan JF, Holmes A (2005): The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov* 4, 775–790
- Cudaback E, Li X, Montine KS, Montine TJ, Keene CD (2011): Apolipoprotein E isoform-dependent microglia migration. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 25, 2082–2091

- Cummings JL, Lee G, Nahed P, Kambar MEZN, Zhong K, Fonseca J, Taghva K (2022): Alzheimer's disease drug development pipeline: 2022. *Alzheimers Dement N Y N* **8**, e12295
- Curdt N, Schmitt FW, Bouter C, Iseni T, Weile HC, Altunok B, Beindorff N, Bayer TA, Cooke MB, Bouter Y (2022): Search strategy analysis of Tg4-42 Alzheimer Mice in the Morris Water Maze reveals early spatial navigation deficits. *Sci Rep* **12**, 5451
- Cynis H, Schilling S, Bodnár M, Hoffmann T, Heiser U, Saido TC, Demuth H-U (2006): Inhibition of glutaminyl cyclase alters pyroglutamate formation in mammalian cells. *Biochim Biophys Acta* **1764**, 1618–1625
- D'Andrea MR, Reiser PA, Gumula NA, Hertzog BM, Andrade-Gordon P (2001): Application of triple immunohistochemistry to characterize amyloid plaque-associated inflammation in brains with Alzheimer's disease. *Biotech Histochem* **76**, 97–106
- Danysz W, Parsons CG, Möbius H-Jö, Stöffler A, Quack Gü (2000): Neuroprotective and symptomatological action of memantine relevant for alzheimer's disease - a unified glutamatergic hypothesis on the mechanism of action. *Neurotox Res* **2**, 85–97
- de Belleruche J, Gardiner IM (1988): Inhibitory effect of 1,2,3,4-tetrahydro-9-aminoacridine on the depolarization-induced release of GABA from cerebral cortex. *Br J Pharmacol* **94**, 1017–1019
- Deacon RMJ, Rawlins JNP (2006): T-maze alternation in the rodent. *Nat Protoc* **1**, 7–12
- DeKosky ST, Scheff SW (1990): Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity. *Ann Neurol* **27**, 457–464
- DeMattos RB, Lu J, Tang Y, Racke MM, Delong CA, Tzaferis JA, Hole JT, Forster BM, McDonnell PC, Liu F, et al. (2012): A plaque-specific antibody clears existing β -amyloid plaques in Alzheimer's disease mice. *Neuron* **76**, 908–920
- Devan BD, McDonald RJ, White NM (1999): Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place- and cue-guided behaviors in the water maze: relation to thigmotaxis. *Behav Brain Res* **100**, 5–14
- DGN, DGPPN (2016): Demenzen (Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie). S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie. <https://dgn.org/leitlinie/127>. abgerufen am 14.05.2021
- D'Hooge R, De Deyn PP (2001): Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev* **36**, 60–90
- Dietrich K, Bouter Y, Müller M, Bayer TA (2018): Synaptic Alterations in Mouse Models for Alzheimer Disease-A Special Focus on N-Truncated Abeta 4-42. *Mol Basel Switz* **23**, E718
- Dong C, Madar AD, Sheffield MEJ (2021): Distinct place cell dynamics in CA1 and CA3 encode experience in new environments. *Nat Commun* **12**, 2977
- Double KL, Halliday GM, Kril JJ, Harasty JA, Cullen K, Brooks WS, Creasey H, Broe GA (1996): Topography of brain atrophy during normal aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **17**, 513–521
- Dries DR, Yu G (2008): Assembly, maturation, and trafficking of the gamma-secretase complex in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* **5**, 132–146

- Dubé P (2017): The importance of genetic background in mouse models. <http://www.biocompare.com/Bench-Tips/341470-The-Importance-of-Genetic-Background-in-Mouse-Models/>; abgerufen am 29.11.2022
- Durazzo TC, Mattsson N, Weiner MW, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2014): Smoking and increased Alzheimer's disease risk: a review of potential mechanisms. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 10, S122-145
- Duthey B (2004): Background Paper 6.11 Alzheimer Disease and other Dementias. Backgr Pap 74
- Dyrks T, Weidemann A, Multhaup G, Salbaum JM, Lemaire HG, Kang J, Müller-Hill B, Masters CL, Beyreuther K (1988): Identification, transmembrane orientation and biogenesis of the amyloid A4 precursor of Alzheimer's disease. *EMBO J* 7, 949–957
- Eckman CB, Mehta ND, Crook R, Perez-tur J, Prihar G, Pfeiffer E, Graff-Radford N, Hinder P, Yager D, Zenk B, et al. (1997): A new pathogenic mutation in the APP gene (I716V) increases the relative proportion of A beta 42(43). *Hum Mol Genet* 6, 2087–2089
- Eichenbaum H, Stewart C, Morris RG (1990): Hippocampal representation in place learning. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 10, 3531–3542
- Eli Lilly and Company's (2021): Lilly's donanemab receives U.S. FDA's breakthrough therapy designation for treatment of Alzheimer's disease. <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lilys-donanemab-receives-us-fdas-breakthrough-therapy>; abgerufen am 31.10.2022
- Esch FS, Keim PS, Beattie EC, Blacher RW, Culwell AR, Oltersdorf T, McClure D, Ward PJ (1990): Cleavage of amyloid beta peptide during constitutive processing of its precursor. *Science* 248, 1122–1124
- European Medicine Agency (2022): Aduhelm: Withdrawal of the marketing authorisation application. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/withdrawn-applications/aduhelm>; abgerufen am 31.10.2022
- Evans DA, Hebert LE, Beckett LA, Scherr PA, Albert MS, Chown MJ, Pilgrim DM, Taylor JO (1997): Education and other measures of socioeconomic status and risk of incident Alzheimer disease in a defined population of older persons. *Arch Neurol* 54, 1399–1405
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM (1997): Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *JAMA* 278, 1349–1356
- Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM (2016): Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr Neuropharmacol* 14, 101–115
- Filali M, Lalonde R, Theriault P, Julien C, Calon F, Planel E (2012): Cognitive and non-cognitive behaviors in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease expressing mutated APP, PS1, and Mapt (3xTg-AD). *Behav Brain Res* 234, 334–342
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975): „Mini-mental state“. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12, 189–198
- Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B (2004): An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet Neurol* 3, 343–353

- Friedland RP, Budinger TF, Ganz E, Yano Y, Mathis CA, Koss B, Ober BA, Huesman RH, Derenzo SE (1983): Regional cerebral metabolic alterations in dementia of the Alzheimer type: positron emission tomography with [18F]fluorodeoxyglucose. *J Comput Assist Tomogr* 7, 590–598
- Furukawa K, Sopher BL, Rydel RE, Begley JG, Pham DG, Martin GM, Fox M, Mattson MP (1996): Increased activity-regulating and neuroprotective efficacy of alpha-secretase-derived secreted amyloid precursor protein conferred by a C-terminal heparin-binding domain. *J Neurochem* 67, 1882–1896
- Garthe A, Kempermann G (2013): An old test for new neurons: refining the Morris water maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis. *Front Neurosci* 7, 63
- Gauthier S, Webster C, Servaes S, Morais JA, Rosa-Neto P (2022): World Alzheimer Report 2022: Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support. Alzheimer's Disease International
- Genzel L (2021): How to Control Behavioral Studies for Rodents - Don't Project Human Thoughts onto Them. *eNeuro* 8
- Gießen NM-E: Studie zur Rolle N-trunkierter Amyloid- β -Peptide bei der Alzheimer-Krankheit. Med. Diss. Göttingen 2019
- Giménez-Llort L, Blázquez G, Cañete T, Johansson B, Oddo S, Tobeña A, LaFerla FM, Fernández-Teruel A (2007): Modeling behavioral and neuronal symptoms of Alzheimer's disease in mice: a role for intraneuronal amyloid. *Neurosci Biobehav Rev* 31, 125–147
- Goate AM, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L (1991): Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349, 704–706
- Gomez W, Morales R, Maracaja-Coutinho V, Parra V, Nassif M (2020): Down syndrome and Alzheimer's disease: common molecular traits beyond the amyloid precursor protein. *Aging* 12, 1011–1033
- Gómez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT (1996a): Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 16, 4491–4500
- Gómez-Isla T, West HL, Rebeck GW, Harr SD, Growdon JH, Locascio JJ, Perls TT, Lipsitz LA, Hyman BT (1996b): Clinical and pathological correlates of apolipoprotein E ϵ 4 in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 39, 62–70
- Gómez-Isla T, Hollister R, West H, Mui S, Growdon JH, Petersen RC, Parisi JE, Hyman BT (1997): Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 41, 17–24
- Goodale MA, Murison RCC (1975): The effects of lesions of the superior colliculus on locomotor orientation and the orienting reflex in the rat. *Brain Res* 88, 243–261
- Gouras GK, Olsson TT, Hansson O (2015): β -amyloid Peptides and Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics* 12, 3–11
- Graham NL, Emery T, Hodges JR (2004): Distinctive Cognitive Profiles in Alzheimer's Disease and Subcortical Vascular Dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75, 61–71

- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI (1986): Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 4913–4917
- Grundman M, Petersen RC, Ferris SH, Thomas RG, Aisen PS, Bennett DA, Foster NL, Jack CR, Galasko DR, Doody R, et al. (2004): Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. *Arch Neurol* 61, 59–66
- Guarino A, Favieri F, Boncompagni I, Agostini F, Cantone M, Casagrande M (2018): Executive Functions in Alzheimer Disease: A Systematic Review. *Front Aging Neurosci* 10, 437
- Haass C, De Strooper B (1999): The presenilins in Alzheimer's disease--proteolysis holds the key. *Science* 286, 916–919
- Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia SS (2012): Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2, a006270
- Hall C, Ballachey EL (1932): A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. *Univ Calif Publ Psychol* 6, 1–12
- Hamer M, Chida Y (2009): Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychol Med* 39, 3–11
- Hardy J, Allsop D (1991): Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 12, 383–388
- Hardy J, Selkoe DJ (2002): The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science* 297, 353–356
- Harris JA, Devidze N, Halabisky B, Lo I, Thwin MT, Yu G-Q, Bredesen DE, Masliah E, Mucke L (2010): Many neuronal and behavioral impairments in transgenic mouse models of Alzheimer's disease are independent of caspase cleavage of the amyloid precursor protein. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 30, 372–381
- Hashimoto R, Uechi M, Komori N (2020): Egocentric and Allocentric Spatial Cognition in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Early Alzheimer's Disease. *Eur Neurol* 83, 395–403
- Hebert LE, Scherr PA, Beckett LA, Albert MS, Pilgrim DM, Chown MJ, Funkenstein HH, Evans DA (1995): Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population. *JAMA* 273, 1354–1359
- Henriksen K, O'Bryant SE, Hampel H, Trojanowski JQ, Montine TJ, Jeromin A, Blennow K, Lönneborg A, Wyss-Coray T, Soares H, et al. (2014): The future of blood-based biomarkers for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 10, 115–131
- Herholz K, Carter SF, Jones M (2007): Positron emission tomography imaging in dementia. *Br J Radiol* 80 Spec No 2, S160-167
- Herl L, Thomas AV, Lill CM, Banks M, Deng A, Jones PB, Spoelgen R, Hyman BT, Berezovska O (2009): Mutations in amyloid precursor protein affect its interactions with presenilin/gamma-secretase. *Mol Cell Neurosci* 41, 166–174
- Higaki A, Mogi M, Iwanami J, Min L-J, Bai H-Y, Shan B-S, Kan-No H, Ikeda S, Higaki J, Horiuchi M (2018): Recognition of early stage thigmotaxis in Morris water maze test with convolutional neural network. *PloS One* 13, e0197003

- Holcomb LA, Gordon MN, Jantzen P, Hsiao K, Duff K, Morgan D (1999): Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: lack of association with amyloid deposits. *Behav Genet* 29, 177–185
- Holman BL, Johnson KA, Gerada B, Carvalho PA, Satlin A (1992): The Scintigraphic Appearance of Alzheimer's Disease: A Prospective Study Using Technetium-99m-HMPAO SPECT. *J Nucl Med* 33, 181–185
- Holmes A, Kinney JW, Wrenn CC, Li Q, Yang RJ, Ma L, Vishwanath J, Saavedra MC, Innerfield CE, Jacoby AS, et al. (2003): Galanin GAL-R1 receptor null mutant mice display increased anxiety-like behavior specific to the elevated plus-maze. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 28, 1031–1044
- Holtzman DM, Bales KR, Tenkova T, Fagan AM, Parsadanian M, Sartorius LJ, Mackey B, Olney J, McKeel D, Wozniak D, Paul SM (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, 2892–2897
- Holtzman DM, Morris JC, Goate AM (2011): Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Sci Transl Med* 3, 77sr1
- Hort J, Laczó J, Vyhnálek M, Bojar M, Bureš J, Vlček K (2007): Spatial navigation deficit in amnesic mild cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 4042–4047
- Howett D, Castegnaro A, Krzywicka K, Hagman J, Marchment D, Henson R, Rio M, King JA, Burgess N, Chan D (2019): Differentiation of mild cognitive impairment using an entorhinal cortex-based test of virtual reality navigation. *Brain J Neurol* 142, 1751–1766
- Hsia AY, Masliah E, McConlogue L, Yu GQ, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Malenka RC, Nicoll RA, Mucke L (1999): Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 3228–3233
- Hu J, Igarashi A, Kamata M, Nakagawa H (2001): Angiotensin-converting enzyme degrades Alzheimer amyloid beta-peptide (A beta); retards A beta aggregation, deposition, fibril formation; and inhibits cytotoxicity. *J Biol Chem* 276, 47863–47868
- Huang Y, Mahley RW (2014): Apolipoprotein E: structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis* 72 Pt A, 3–12
- Iaria G, Chen J-K, Guariglia C, Ptito A, Petrides M (2007): Retrosplenial and hippocampal brain regions in human navigation: complementary functional contributions to the formation and use of cognitive maps. *Eur J Neurosci* 25, 890–899
- Illouz T, Madar R, Louzon Y, Griffioen KJ, Okun E (2016): Unraveling cognitive traits using the Morris water maze unbiased strategy classification (MUST-C) algorithm. *Brain Behav Immun* 52, 132–144
- Iqbal K, Liu F, Gong C-X, Alonso AC, Grundke-Iqbal I (2009): Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathol (Berl)* 118, 53–69
- Itagaki S, McGeer PL, Akiyama H, Zhu S, Selkoe D (1989): Relationship of microglia and astrocytes to amyloid deposits of Alzheimer disease. *J Neuroimmunol* 24, 173–182
- Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Shirotani K, Lu B, Gerard NP, Gerard C, Hama E, Lee HJ, Saido TC (2001): Metabolic regulation of brain Aβ by neprilysin. *Science* 292, 1550–1552

- Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y (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, 45–53
- Janus C (2004): Search strategies used by APP transgenic mice during navigation in the Morris water maze. *Learn Mem Cold Spring Harb N* 11, 337–346
- Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT (1993): The C-terminus of the beta protein is critical in amyloidogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 695, 144–148
- Jawhar S, Trawicka A, Jenneckens C, Bayer TA, Wirths O (2012): Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal A β aggregation in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 33, 196.e29–40
- Jeltsch H, Bertrand F, Lazarus C, Cassel J-C (2001): Cognitive Performances and Locomotor Activity Following Dentate Granule Cell Damage in Rats: Role of Lesion Extent and Type of Memory Tested. *Neurobiol Learn Mem* 76, 81–105
- Jimenez JC, Su K, Goldberg AR, Luna VM, Biane JS, Ordek G, Zhou P, Ong SK, Wright MA, Zweifel L, et al. (2018): Anxiety Cells in a Hippocampal-Hypothalamic Circuit. *Neuron* 97, 670-683.e6
- Johnston JA, Cowburn RF, Norgren S, Wiehager B, Venizelos N, Winblad B, Vigo-Pelfrey C, Schenk D, Lannfelt L, O'Neill C (1994): Increased beta-amyloid release and levels of amyloid precursor protein (APP) in fibroblast cell lines from family members with the Swedish Alzheimer's disease APP670/671 mutation. *FEBS Lett* 354, 274–278
- Jorissen E, Prox J, Bernreuther C, Weber S, Schwanbeck R, Serneels L, Snellinx A, Craessaerts K, Thathiah A, Tesseur I, et al. (2010): The Disintegrin/Metalloproteinase ADAM10 Is Essential for the Establishment of the Brain Cortex. *J Neurosci* 30, 4833–4844
- Kalbe E, Kessler J, Calabrese P, Smith R, Passmore AP, Brand M, Bullock R (2004): DemTect: a new, sensitive cognitive screening test to support the diagnosis of mild cognitive impairment and early dementia. *Int J Geriatr Psychiatry* 19, 136–143
- Karikari TK, Benedet AL, Ashton NJ, Lantero Rodriguez J, Snellman A, Suárez-Calvet M, Saha-Chaudhuri P, Lussier F, Kvarnberg H, Rial AM, et al. (2021): Diagnostic performance and prediction of clinical progression of plasma phospho-tau181 in the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Mol Psychiatry* 26, 429–442
- Karunakaran S (2020): Unraveling Early Signs of Navigational Impairment in APP^{swe}/PS1^{dE9} Mice Using Morris Water Maze. *Front Neurosci* 14, 568200
- Katzmarski N, Ziegler-Waldkirch S, Scheffler N, Witt C, Abou-Ajram C, Nuscher B, Prinz M, Haass C, Meyer-Luehmann M (2020): A β oligomers trigger and accelerate A β seeding. *Brain Pathol Zurich Switz* 30, 36–45
- Kaufman AM, Geiller T, Losonczy A (2020): A Role for the Locus Coeruleus in Hippocampal CA1 Place Cell Reorganization during Spatial Reward Learning. *Neuron* 105, 1018-1026.e4
- Kayed R, Head E, Thompson JL, McIntire TM, Milton SC, Cotman CW, Glabe CG (2003): Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science* 300, 486–489
- Kelmenson P (2018): How to refresh your mutant or transgenic mouse strains. <https://www.jax.org/news-and-insights/jax-blog/2018/april/how-to-refresh-your-mutant-or-transgenic-mouse-strains>; abgerufen am 29.11.2022

- Kesner RP (2018): An analysis of dentate gyrus function (an update). *Behav Brain Res* 354, 84–91
- Kidd M (1963): Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* 197, 192–193
- Kim DY, Carey BW, Wang H, Ingano LAM, Binshtok AM, Wertz MH, Pettingell WH, He P, Lee VM-Y, Woolf CJ, Kovacs DM (2007): BACE1 regulates voltage-gated sodium channels and neuronal activity. *Nat Cell Biol* 9, 755–764
- King DL, Arendash GW (2002): Behavioral characterization of the Tg2576 transgenic model of Alzheimer's disease through 19 months. *Physiol Behav* 75, 627–642
- King DL, Arendash GW, Crawford F, Sterk T, Menendez J, Mullan MJ (1999): Progressive and gender-dependent cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 103, 145–162
- Kinlein SA, Phillips DJ, Keller CR, Karatsoreos IN (2019): Role of corticosterone in altered neurobehavioral responses to acute stress in a model of compromised hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Psychoneuroendocrinology* 102, 248–255
- Kirmess KM, Meyer MR, Holubasch MS, Knapik SS, Hu Y, Jackson EN, Harpstrite SE, Vergheze PB, West T, Fogelman I, et al. (2021): The PrecivityAD™ test: Accurate and reliable LC-MS/MS assays for quantifying plasma amyloid beta 40 and 42 and apolipoprotein E proteotype for the assessment of brain amyloidosis. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem* 519, 267–275
- Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hänninen T, Hallikainen M, Alhainen K, Soininen H, Tuomilehto J, Nissinen A (2001): Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ* 322, 1447–1451
- Kluger A, Gianutsos JG, Golomb J, Ferris SH, George AE, Franssen E, Reisberg B (1997): Patterns of motor impairment in normal aging, mild cognitive decline, and early Alzheimer's disease. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 52B, P28-39
- Kong Q, Wu M, Huan Y, Zhang L, Liu H, Bou G, Luo Y, Mu Y, Liu Z (2009): Transgene Expression Is Associated with Copy Number and Cytomegalovirus Promoter Methylation in Transgenic Pigs. *PLoS ONE* 4, e6679
- Kuhn P-H, Wang H, Dislich B, Colombo A, Zeitschel U, Ellwart JW, Kremmer E, Rossner S, Lichtenthaler SF (2010): ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive alpha-secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J* 29, 3020–3032
- Kumar-Singh S, Theuns J, Van Broeck B, Pirici D, Vennekens K, Corsmit E, Cruts M, Dermaut B, Wang R, Van Broeckhoven C (2006): Mean age-of-onset of familial Alzheimer disease caused by presenilin mutations correlates with both increased Abeta42 and decreased Abeta40. *Hum Mutat* 27, 686–695
- Kummer MP, Heneka MT (2014): Truncated and modified amyloid-beta species. *Alzheimers Res Ther* 6, 28
- Lalonde R (2002): The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neurosci Biobehav Rev* 26, 91–104
- Lalonde R, Dumont M, Staufenbiel M, Sturchler-Pierrat C, Strazielle C (2002): Spatial learning, exploration, anxiety, and motor coordination in female APP23 transgenic mice with the Swedish mutation. *Brain Res* 956, 36–44

- Lalonde R, Lewis TL, Strazielle C, Kim H, Fukuchi K (2003): Transgenic mice expressing the betaAPP695SWE mutation: effects on exploratory activity, anxiety, and motor coordination. *Brain Res* 977, 38–45
- Langer F, Eisele YS, Fritschi SK, Staufenbiel M, Walker LC, Jucker M (2011): Soluble A β seeds are potent inducers of cerebral β -amyloid deposition. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 31, 14488–14495
- Lechan RM, Segerson TP (1989): Pro-TRH Gene Expression and Precursor Peptides in Rat Brain: *Ann N Y Acad Sci* 553, 29–59
- Lee SE, Rabinovici GD, Mayo MC, Wilson SM, Seeley WW, DeArmond SJ, Huang EJ, Trojanowski JQ, Growdon ME, Jang JY, et al. (2011): Clinicopathological correlations in corticobasal degeneration. *Ann Neurol* 70, 327–340
- Leissring MA, Lu A, Condron MM, Teplow DB, Stein RL, Farris W, Selkoe DJ (2003): Kinetics of amyloid beta-protein degradation determined by novel fluorescence- and fluorescence polarization-based assays. *J Biol Chem* 278, 37314–37320
- Levy-Lahad E, Wijsman EM, Nemens E, Anderson L, Goddard KA, Weber JL, Bird TD, Schellenberg GD (1995): A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1. *Science* 269, 970–973
- Li N-M, Liu K-F, Qiu Y-J, Zhang H-H, Nakanishi H, Qing H (2019): Mutations of beta-amyloid precursor protein alter the consequence of Alzheimer's disease pathogenesis. *Neural Regen Res* 14, 658
- Li X, Coyle D, Maguire L, Watson DR, McGinnity TM (2011): Gray matter concentration and effective connectivity changes in Alzheimer's disease: a longitudinal structural MRI study. *Neuroradiology* 53, 733–748
- Li Yanjun, Li Yongming, Li X, Zhang S, Zhao J, Zhu X, Tian G (2017): Head Injury as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of 32 Observational Studies. *PloS One* 12, e0169650
- Liao M-C, Ahmed M, Smith SO, Van Nostrand WE (2009): Degradation of amyloid beta protein by purified myelin basic protein. *J Biol Chem* 284, 28917–28925
- Lichtenthaler SF (2011): α -secretase in Alzheimer's disease: molecular identity, regulation and therapeutic potential. *J Neurochem* 116, 10–21
- Logie RH, Marchetti C: Chapter 7 Visuo-spatial working memory: Visual, spatial or central executive? In: Logie RH, Denis M (Hrsg.): *Advances in Psychology (Mental Images in Human Cognition)*. Band 80; North-Holland 1991, 105–115
- Lopez-Noguerola JS: The role of N-truncated A β peptides in Alzheimer's Disease. *Rev. Nat. Diss. Göttingen* 2018
- Lopez-Noguerola JS, Giessen NME, Ueberück M, Meißner JN, Pelgrim CE, Adams J, Wirths O, Bouter Y, Bayer TA (2018): Synergistic Effect on Neurodegeneration by N-Truncated A β 4–42 and Pyroglutamate A β 3–42 in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci* 10, 64
- Luchsinger JA, Tang M-X, Shea S, Mayeux R (2004): Hyperinsulinemia and risk of Alzheimer disease. *Neurology* 63, 1187–1192

- Luo Y, Bolon B, Damore MA, Fitzpatrick D, Liu H, Zhang J, Yan Q, Vassar R, Citron M (2003): BACE1 (beta-secretase) knockout mice do not acquire compensatory gene expression changes or develop neural lesions over time. *Neurobiol Dis* 14, 81–88
- Lyketsos CG, Carrillo MC, Ryan JM, Khachaturian AS, Trzepacz P, Amatniek J, Cedarbaum J, Brashear R, Miller DS (2011): Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 7, 532–539
- Ma L (2020): Depression, Anxiety, and Apathy in Mild Cognitive Impairment: Current Perspectives. *Front Aging Neurosci* 12, 9
- Mahley RW (1988): Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 240, 622–630
- Mankin EA, Diehl GW, Sparks FT, Leutgeb S, Leutgeb JK (2015): Hippocampal CA2 activity patterns change over time to a larger extent than between spatial contexts. *Neuron* 85, 190–201
- Marino S, Bonanno L, Lo Buono V, Ciurleo R, Corallo F, Morabito R, Chirico G, Marra A, Bramanti P (2019): Longitudinal analysis of brain atrophy in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *J Int Med Res* 47, 5019–5027
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K (1985): Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82, 4245–4249
- Matsui T, Ingelsson M, Fukumoto H, Ramasamy K, Kowa H, Frosch MP, Irizarry MC, Hyman BT (2007): Expression of APP pathway mRNAs and proteins in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1161, 116–123
- McDonald RJ, White NM (1994): Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav Neural Biol* 61, 260–270
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, et al. (2011): The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 7, 263–269
- McShane R, Areosa Sastre A, Minakaran N (2006): Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev* CD003154
- Means LW, David Leander J, Isaacson RL (1971): The effects of hippocampectomy on alternation behavior and response to novelty. *Physiol Behav* 6, 17-IN1
- Mehder RH, Bennett BM, Andrew RD (2020): Morphometric Analysis of Hippocampal and Neocortical Pyramidal Neurons in a Mouse Model of Late Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD* 74, 1069–1083
- Meléndez DM, Nordquist RE, Vanderschuren LJM, van der Staay F-J (2020): Spatial memory deficits after vincristine-induced lesions to the dorsal hippocampus. *PLoS One* 15, e0231941
- Middleton SJ, McHugh TJ (2016): Silencing CA3 disrupts temporal coding in the CA1 ensemble. *Nat Neurosci* 19, 945–951

- Miedel CJ, Patton JM, Miedel AN, Miedel ES, Levenson JM (2017): Assessment of Spontaneous Alternation, Novel Object Recognition and Limb Claspings in Transgenic Mouse Models of Amyloid- β and Tau Neuropathology. *J Vis Exp JoVE* 55523
- Miniaci MC, De Leonibus E (2018): Missing the egocentric spatial reference: a blank on the map. *F1000Research* 7, 168
- Mitchell AJ, Shiri-Feshki M (2009): Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia – meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatr Scand* 119, 252–265
- Mori C, Spooner ET, Wisniewsk KE, Wisniewski TM, Yamaguch H, Saido TC, Tolan DR, Selkoe DJ, Lemere CA (2002): Intraneuronal Abeta42 accumulation in Down syndrome brain. *Amyloid Int J Exp Clin Investig Off J Int Soc Amyloidosis* 9, 88–102
- Morris R (1984): Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11, 47–60
- Moser MB, Moser EI, Forrest E, Andersen P, Morris RG (1995): Spatial learning with a minilab in the dorsal hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 9697–9701
- Mucke L, Masliah E, Yu GQ, Mallory M, Rockenstein EM, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Johnson-Wood K, McConlogue L (2000): High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 20, 4050–4058
- Mulder C, Verwey NA, van der Flier WM, Bouwman FH, Kok A, van Elk EJ, Scheltens P, Blankenstein MA (2010): Amyloid- β (1–42), Total Tau, and Phosphorylated Tau as Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Diagnosis of Alzheimer Disease. *Clin Chem* 56, 248–253
- Mullan M, Crawford F, Axelman K, Houlden H, Lilius L, Winblad B, Lannfelt L (1992): A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of beta-amyloid. *Nat Genet* 1, 345–347
- Müller T, Meyer HE, Egensperger R, Marcus K (2008): The amyloid precursor protein intracellular domain (AICD) as modulator of gene expression, apoptosis, and cytoskeletal dynamics—relevance for Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 85, 393–406
- Muramatsu I, Uwada J, Yoshiki H, Sada K, Lee K-S, Yazawa T, Taniguchi T, Nishio M, Ishibashi T, Masuoka T (2019): Novel regulatory systems for acetylcholine release in rat striatum and anti-Alzheimer's disease drugs. *J Neurochem* 149, 605–623
- Najm R, Jones EA, Huang Y (2019): Apolipoprotein E4, inhibitory network dysfunction, and Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 14, 24
- Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H (2005): The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 53, 695–699
- Nikbakht N, Diamond ME (2021): Conserved visual capacity of rats under red light. *eLife* 10, e66429
- Oakley H, Cole SL, Logan S, Maus E, Shao P, Craft J, Guillozet-Bongaarts A, Ohno M, Disterhoft J, Van Eldik L, et al. (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 Off J Soc Neurosci* 26, 10129–10140

- Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, Metherate R, Mattson MP, Akbari Y, LaFerla FM (2003): Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 39, 409–421
- Okada T, Yamada N, Tsuzuki K, Horikawa HPM, Tanaka K, Ozawa S (2003): Long-term potentiation in the hippocampal CA1 area and dentate gyrus plays different roles in spatial learning. *Eur J Neurosci* 17, 341–349
- Olszewska DA, Lonergan R, Fallon EM, Lynch T (2016): Genetics of Frontotemporal Dementia. *Curr Neurol Neurosci Rep* 16, 107
- Palmqvist S, Janelidze S, Stomrud E, Zetterberg H, Karl J, Zink K, Bittner T, Mattsson N, Eichenlaub U, Blennow K, Hansson O (2019): Performance of Fully Automated Plasma Assays as Screening Tests for Alzheimer Disease-Related β -Amyloid Status. *JAMA Neurol* 76, 1060–1069
- Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, Zetterberg H, Lopera F, Stomrud E, Su Y, Chen Y, Serrano GE, Leuzy A, et al. (2020): Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders. *JAMA* 324, 772–781
- Pearce JM, Roberts ADL, Good M (1998): Hippocampal lesions disrupt navigation based on cognitive maps but not heading vectors. *Nature* 396, 75–77
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M (1985): Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 14, 149–167
- Peter J, Sandkamp R, Minkova L, Schumacher LV, Kaller CP, Abdulkadir A, Klöppel S (2018): Real-world navigation in amnesic mild cognitive impairment: The relation to visuospatial memory and volume of hippocampal subregions. *Neuropsychologia* 109, 86–94
- Pike CJ, Overman MJ, Cotman CW (1995): Amino-terminal deletions enhance aggregation of beta-amyloid peptides in vitro. *J Biol Chem* 270, 23895–23898
- Pilotto A, Padovani A, Borroni B (2013): Clinical, Biological, and Imaging Features of Monogenic Alzheimer's Disease. *BioMed Res Int* 2013, 689591
- Pimenova AA, Goate AM (2020): Novel presenilin 1 and 2 double knock-out cell line for in vitro validation of PSEN1 and PSEN2 mutations. *Neurobiol Dis* 138, 104785
- Portelius E, Bogdanovic N, Gustavsson MK, Volkman I, Brinkmalm G, Zetterberg H, Winblad B, Blennow K (2010): Mass spectrometric characterization of brain amyloid beta isoform signatures in familial and sporadic Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 120, 185–193
- Poucet B, Save E, Lenck-Santini PP (2000): Sensory and memory properties of hippocampal place cells. *Rev Neurosci* 11, 95–111
- Prager EM, Plotkin JL (2019): Compartmental function and modulation of the striatum. *J Neurosci Res* 97, 1503–1514
- Price JL, Ko AI, Wade MJ, Tsou SK, McKeel DW, Morris JC (2001): Neuron Number in the Entorhinal Cortex and CA1 in Preclinical Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 58, 1395–1402
- Puzzo D, Lee L, Palmeri A, Calabrese G, Arancio O (2014): Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines. *Biochem Pharmacol* 88, 450–467

- Quon D, Wang Y, Catalano R, Scardina JM, Murakami K, Cordell B (1991): Formation of beta-amyloid protein deposits in brains of transgenic mice. *Nature* 352, 239–241
- Rahman MU, Song K, Da L-T, Chen H-F (2022): Early aggregation mechanism of A β 16-22 revealed by Markov state models. *Int J Biol Macromol* 204, 606–616
- Rajabli F, Feliciano BE, Celis K, Hamilton-Nelson KL, Whitehead PL, Adams LD, Bussies PL, Manrique CP, Rodriguez A, Rodriguez V, et al. (2018): Ancestral origin of ApoE ϵ 4 Alzheimer disease risk in Puerto Rican and African American populations. *PLoS Genet* 14, e1007791
- Ramos A, Pereira E, Martins GC, Wehrmeister TD, Izidio GS (2008): Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial. *Behav Brain Res* 193, 277–288
- Ramos MJ (2017): Perirhinal cortex involvement in allocentric spatial learning in the rat: Evidence from doubly marked tasks. *Hippocampus* 27, 507–517
- Reardon S (2023): FDA approves Alzheimer’s drug lecanemab amid safety concerns. *Nature* 613, 227–228
- Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT (1993): Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer’s disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 11, 575–580
- Reiman EM, Arboleda-Velasquez JF, Quiroz YT, Huentelman MJ, Beach TG, Caselli RJ, Chen Y, Su Y, Myers AJ, Hardy J, et al. (2020): Exceptionally low likelihood of Alzheimer’s dementia in APOE2 homozygotes from a 5,000-person neuropathological study. *Nat Commun* 11, 667
- Reisberg B, Doody R, Stöffler A, Schmitt F, Ferris S, Möbius HJ, Memantine Study Group (2003): Memantine in moderate-to-severe Alzheimer’s disease. *N Engl J Med* 348, 1333–1341
- Rinaldi A, De Leonibus E, Cifra A, Torromino G, Minicocci E, De Sanctis E, López-Pedrajas RM, Oliverio A, Mele A (2020): Flexible use of allocentric and egocentric spatial memories activates differential neural networks in mice. *Sci Rep* 10, 11338
- Rodgers RJ (1997): Animal models of „anxiety“: Where next? *Behav Pharmacol* 8, 477–496
- Rogers J, Cooper NR, Webster S, Schultz J, McGeer PL, Styren SD, Civin WH, Brachova L, Bradt B, Ward P (1992): Complement activation by beta-amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 10016–10020
- Rogers J, Churilov L, Hannan AJ, Renoir T (2017): Search strategy selection in the Morris water maze indicates allocentric map formation during learning that underpins spatial memory formation. *Neurobiol Learn Mem* 139, 37–49
- Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT (1998): A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer’s disease. Donepezil Study Group. *Neurology* 50, 136–145
- Rosales-Corral S, Tan D-X, Reiter RJ, Valdivia-Velázquez M, Acosta-Martínez JP, Ortiz GG (2004): Kinetics of the neuroinflammation-oxidative stress correlation in rat brain following the injection of fibrillar amyloid-beta onto the hippocampus in vivo. *J Neuroimmunol* 150, 20–28
- Ryan NS, Rossor MN (2010): Correlating familial Alzheimer’s disease gene mutations with clinical phenotype. *Biomark Med* 4, 99–112

- Salloway S, Chalkias S, Barkhof F, Burkett P, Barakos J, Purcell D, Suhy J, Forrester F, Tian Y, Umans K, et al. (2022): Amyloid-Related Imaging Abnormalities in 2 Phase 3 Studies Evaluating Aducanumab in Patients With Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 79, 13–21
- Sánchez CQ, Schmitt FW, Curdt N, Westhoff AC, Bänfer IWH, Bayer TA, Bouter Y (2023): Search Strategy Analysis of 5xFAD Alzheimer Mice in the Morris Water Maze Reveals Sex- and Age-Specific Spatial Navigation Deficits. *Biomedicines* 11, 599
- Sandbrink R, Masters CL, Beyreuther K (1996): APP gene family. Alternative splicing generates functionally related isoforms. *Ann N Y Acad Sci* 777, 281–287
- Saré RM, Lemons A, Smith CB (2021): Behavior Testing in Rodents: Highlighting Potential Confounds Affecting Variability and Reproducibility. *Brain Sci* 11, 522
- Save E, Poucet B (2009): Role of the parietal cortex in long-term representation of spatial information in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 91, 172–178
- Scarmeas N, Hadjigeorgiou GM, Papadimitriou A, Dubois B, Sarazin M, Brandt J, Albert M, Marder K, Bell K, Honig LS, et al. (2004): Motor signs during the course of Alzheimer disease. *Neurology* 63, 975–982
- Schindler SE, Karikari TK (2022): Comorbidities confound Alzheimer’s blood tests. *Nat Med* 28, 1349–1351
- Schmitz C, Hof PR (2005): Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience* 130, 813–831
- Schmitz C, Rutten BPF, Pielen A, Schäfer S, Wirths O, Tremp G, Czech C, Blanchard V, Multhaup G, Rezaie P, et al. (2004): Hippocampal neuron loss exceeds amyloid plaque load in a transgenic mouse model of Alzheimer’s disease. *Am J Pathol* 164, 1495–1502
- Schneider JA, Bennett DA (2010): Where vascular meets neurodegenerative disease. *Stroke* 41, S144–146
- Schöberl F, Pradhan C, Irving S, Buerger K, Xiong G, Kugler G, Kohlbecher S, Engmann J, Werner P, Brendel M, et al. (2020): Real-space navigation testing differentiates between amyloid-positive and -negative aMCI. *Neurology* 94, e861–e873
- Seibenhener ML, Wooten MC (2015): Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp JoVE* e52434
- Seino Y, Nakamura T, Harada T, Nakahata N, Kawarabayashi T, Ueda T, Takatama M, Shoji M (2021): Quantitative Measurement of Cerebrospinal Fluid Amyloid- β Species by Mass Spectrometry. *J Alzheimers Dis JAD* 79, 573–584
- Selkoe DJ, Hardy J (2016): The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease at 25 years. *EMBO Mol Med* 8, 595–608
- Selkoe DJ, Podlisny MB, Joachim CL, Vickers EA, Lee G, Fritz LC, Oltersdorf T (1988): Beta-amyloid precursor protein of Alzheimer disease occurs as 110- to 135-kilodalton membrane-associated proteins in neural and nonneural tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 7341–7345
- Seo J-S, Leem Y-H, Lee K-W, Kim S-W, Lee J-K, Han P-L (2010): Severe Motor Neuron Degeneration in the Spinal Cord of the Tg2576 Mouse Model of Alzheimer Disease. *J Alzheimers Dis* 21, 263–276

- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT (2011a): Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 1, a006189
- Serrano-Pozo A, Mielke ML, Gómez-Isla T, Betensky RA, Growdon JH, Frosch MP, Hyman BT (2011b): Reactive glia not only associates with plaques but also parallels tangles in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 179, 1373–1384
- Serrano-Pozo A, Das S, Hyman BT (2021): APOE and Alzheimer's Disease: Advances in Genetics, Pathophysiology, and Therapeutic Approaches. *Lancet Neurol* 20, 68–80
- Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M, Bernatova I (2013): Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdiscip Toxicol* 6, 126–135
- Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, Dunstan R, Salloway S, Chen T, Ling Y, et al. (2016): The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature* 537, 50–56
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, et al. (2008): Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14, 837–842
- Shcherbinin S, Evans CD, Lu M, Andersen SW, Pontecorvo MJ, Willis BA, Gueorguieva I, Hauck PM, Brooks DA, Mintun MA, Sims JR (2022): Association of Amyloid Reduction After Donanemab Treatment With Tau Pathology and Clinical Outcomes: The TRAILBLAZER-ALZ Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol* 79, 1015–1024
- Shen Y, Lue L, Yang L, Roher A, Kuo Y, Strohmeier R, Goux WJ, Lee V, Johnson GV, Webster SD, et al. (2001): Complement activation by neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 305, 165–168
- Sherrington R, Rogaeve EI, Liang Y, Rogaeve EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, et al. (1995): Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375, 754–760
- Shoji H, Miyakawa T (2019): Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program. *Neuropsychopharmacol Rep* 39, 100–118
- Šimić G, Tkalčić M, Vukić V, Mulc D, Španić E, Šagud M, Olucha-Bordonau FE, Vukšić M, R Hof P (2021): Understanding Emotions: Origins and Roles of the Amygdala. *Biomolecules* 11, 823
- Simon P, Dupuis R, Costentin J (1994): Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res* 61, 59–64
- Sisodia SS (1992): Beta-amyloid precursor protein cleavage by a membrane-bound protease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 6075–6079
- Sisodia SS, St George-Hyslop PH (2002): γ -Secretase, notch, A β and alzheimer's disease: Where do the presenilins fit in? *Nat Rev Neurosci* 3, 281–290
- Sjögren M, Davidsson P, Tullberg M, Minthon L, Wallin A, Wikkelso C, Granérus AK, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K (2001): Both total and phosphorylated tau are increased in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70, 624–630

- Söderberg L, Johannesson M, Nygren P, Laudon H, Eriksson F, Osswald G, Möller C, Lannfelt L (2022): Lecanemab, Aducanumab, and Gantenerumab - Binding Profiles to Different Forms of Amyloid-Beta Might Explain Efficacy and Side Effects in Clinical Trials for Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics* 20(1), 195–206
- Soltész I, Losonczy A (2018): CA1 pyramidal cell diversity enabling parallel information processing in the hippocampus. *Nat Neurosci* 21, 484–493
- Soontornniyomkij V, Lynch MD, Mermash S, Pomakian J, Badkoobehi H, Clare R, Vinters HV (2009): Cerebral Microinfarcts Associated with Severe Cerebral β -Amyloid Angiopathy. *Brain Pathol* 20, 459–467
- Statistisches Bundesamt (2019): Bevölkerung im Wandel: Ergebnisse der 14. koordinierten Bevölkerungsvorausberechnung. <https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressekonferenzen/2019/Bevoelkerung/bevoelkerung-uebersicht.html>; abgerufen am 26.10.2022
- Stazi M, Wirths O (2021): Chronic Memantine Treatment Ameliorates Behavioral Deficits, Neuron Loss, and Impaired Neurogenesis in a Model of Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol* 58, 204–216
- Stevens JC, Banks GT, Festing MFW, Fisher EMC (2007): Quiet mutations in inbred strains of mice. *Trends Mol Med* 13, 512–519
- Stover KR, Brown RE (2012): Age-related changes in visual acuity, learning and memory in the APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 231, 75–85
- Stupien G, Florian C, Roulet P (2003): Involvement of the hippocampal CA3-region in acquisition and in memory consolidation of spatial but not in object information in mice. *Neurobiol Learn Mem* 80, 32–41
- Swanson CJ, Zhang Y, Dhadda S, Wang J, Kaplow J, Lai RYK, Lannfelt L, Bradley H, Rabe M, Koyama A, et al. (2021): A randomized, double-blind, phase 2b proof-of-concept clinical trial in early Alzheimer's disease with lecanemab, an anti- $A\beta$ protofibril antibody. *Alzheimers Res Ther* 13, 80
- Swerdlow RH, Khan SM (2009): The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: an update. *Exp Neurol* 218, 308–315
- Tang X, Wu D, Gu L-H, Nie B-B, Qi X-Y, Wang Y-J, Wu F-F, Li X-L, Bai F, Chen X-C, et al. (2016): Spatial learning and memory impairments are associated with increased neuronal activity in 5XFAD mouse as measured by manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *Oncotarget* 7, 57556–57570
- ter Laak HJ, Renkawek K, van Workum FP (1994): The olfactory bulb in Alzheimer disease: a morphologic study of neuron loss, tangles, and senile plaques in relation to olfaction. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 8, 38–48
- Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H (2002): Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58, 1791–1800
- Troyer AK (2004): DemTect effective in screening for mild cognitive impairment and mild dementia. *Evid Based Ment Health* 7, 70–70
- Tu S, Wong S, Hodges JR, Irish M, Piguet O, Hornberger M (2015): Lost in spatial translation - A novel tool to objectively assess spatial disorientation in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cortex J Devoted Study Nerv Syst Behav* 67, 83–94

- Tuppo EE, Arias HR (2005): The role of inflammation in Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol* 37, 289–305
- Valjent E, Gangarossa G (2021): The Tail of the Striatum: From Anatomy to Connectivity and Function. *Trends Neurosci* 44, 203–214
- van Strien NM, Cappaert NLM, Witter MP (2009): The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nat Rev Neurosci* 10, 272–282
- Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, et al. (1999): β -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286, 735–741
- Veerhuis R, Nielsen HM, Tenner AJ (2011): Complement in the Brain. *Mol Immunol* 48, 1592–1603
- Vehmas AK, Kawas CH, Stewart WF, Troncoso JC (2003): Immune reactive cells in senile plaques and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 24, 321–331
- Vereecken TH, Vogels OJ, Nieuwenhuys R (1994): Neuron loss and shrinkage in the amygdala in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 15, 45–54
- Villarreal-Silva EE, González-Navarro AR, Salazar-Ybarra RA, Quiroga-García O, Cruz-Elizondo MA de J, García-García A, Rodríguez-Rocha H, Morales-Gómez JA, Quiroga-Garza A, Elizondo-Omaña RE, et al. (2022): Aged rats learn Morris Water maze using non-spatial search strategies evidenced by a parameter-based algorithm. *Transl Neurosci* 13, 134–144
- Viola KL, Klein WL (2015): Amyloid β oligomers in Alzheimer's disease pathogenesis, treatment, and diagnosis. *Acta Neuropathol (Berl)* 129, 183–206
- Vogels OJ, Broere CA, ter Laak HJ, ten Donkelaar HJ, Nieuwenhuys R, Schulte BP (1990): Cell loss and shrinkage in the nucleus basalis Meynert complex in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 11, 3–13
- von Rotz RC, Kohli BM, Bosset J, Meier M, Suzuki T, Nitsch RM, Konietzko U (2004): The APP intracellular domain forms nuclear multiprotein complexes and regulates the transcription of its own precursor. *J Cell Sci* 117, 4435–4448
- Vorhees CV, Williams MT (2006): Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 1, 848–858
- Vorhees CV, Williams MT (2016): Cincinnati water maze: A review of the development, methods, and evidence as a test of egocentric learning and memory. *Neurotoxicol Teratol* 57, 1–19
- Wagner JM, Sichler ME, Schleicher EM, Franke TN, Irwin C, Löw MJ, Beindorff N, Bouter C, Bayer TA, Bouter Y (2019): Analysis of Motor Function in the Tg4-42 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Front Behav Neurosci* 13, 107
- Walker LC (2020): A β Plaques. *Free Neuropathol* 1, 31
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ (2002): Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416, 535–539
- Walter S, Jümpertz T, Hüttenrauch M, Ogorek I, Gerber H, Storck SE, Zampar S, Dimitrov M, Lehmann S, Lepka K, et al. (2019): The metalloprotease ADAMTS4 generates N-truncated

- A β 4-x species and marks oligodendrocytes as a source of amyloidogenic peptides in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 137, 239–257
- Webster SJ, Bachstetter AD, Van Eldik LJ (2013): Comprehensive behavioral characterization of an APP/PS-1 double knock-in mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 5, 28
- Webster SJ, Bachstetter AD, Nelson PT, Schmitt FA, Van Eldik LJ (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
- West MJ (2002): Design-based stereological methods for counting neurons. In: *Progress in Brain Research (Do seizures damage the brain)*. Band 135; Elsevier 2002, 43–51
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJG (1991): Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 231, 482–497
- Whalley LJ, Starr JM, Athawes R, Hunter D, Pattie A, Deary IJ (2000): Childhood mental ability and dementia. *Neurology* 55, 1455–1459
- Wietrzych M, Meziane H, Sutter A, Ghyselinck N, Chapman PF, Chambon P, Krężel W (2005): Working memory deficits in retinoid X receptor γ -deficient mice. *Learn Mem* 12, 318–326
- Wilcock GK, Lilienfeld S, Gaens E (2000): Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial. Galantamine International-1 Study Group. *BMJ* 321, 1445–1449
- Willem M, Garratt AN, Novak B, Citron M, Kaufmann S, Rittger A, DeStrooper B, Saftig P, Birchmeier C, Haass C (2006): Control of peripheral nerve myelination by the beta-secretase BACE1. *Science* 314, 664–666
- Wilson RS, Bennett DA, Gilley DW, Beckett LA, Schneider JA, Evans DA (2000): Progression of parkinsonian signs in Alzheimer's disease. *Neurology* 54, 1284–1289
- Wilson RS, Bennett DA, Bienias JL, Aggarwal NT, Mendes De Leon CF, Morris MC, Schneider JA, Evans DA (2002): Cognitive activity and incident AD in a population-based sample of older persons. *Neurology* 59, 1910–1914
- Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, Smirnov A, Otto M, Paul S, Schmidt B, Klafki H-W, Maler M, Dyrks T, et al. (2002): Highly conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally truncated A β peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer's disease and in patients with chronic neuroinflammation. *J Neurochem* 81, 481–496
- Wirhns O, Bayer TA (2010): Neuron Loss in Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Int J Alzheimer's Dis* 2010, e723782
- Wirhns O, Multhaup G, Bayer TA (2004): A modified beta-amyloid hypothesis: intraneuronal accumulation of the beta-amyloid peptide—the first step of a fatal cascade. *J Neurochem* 91, 513–520
- Wu C-C, Chawla F, Games D, Rydel RE, Freedman S, Schenk D, Young WG, Morrison JH, Bloom FE (2004): Selective vulnerability of dentate granule cells prior to amyloid deposition in PDAPP mice: digital morphometric analyses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 7141–7146

- Wu J-J, Yao M, Ni J (2021): Cerebral amyloid angiopathy-related inflammation: current status and future implications. *Chin Med J (Engl)* 134, 646–654
- Yamazaki T, Koo EH, Selkoe DJ (1997): Cell Surface Amyloid β -Protein Precursor Colocalizes with β 1 Integrins at Substrate Contact Sites in Neural Cells. *J Neurosci* 17, 1004–1010
- Yew B, Alladi S, Shailaja M, Hodges JR, Hornberger M (2013): Lost and forgotten? Orientation versus memory in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *J Alzheimers Dis JAD* 33, 473–481
- Zhao Q-F, Tan Lan, Wang H-F, Jiang T, Tan M-S, Tan Lin, Xu W, Li J-Q, Wang J, Lai T-J, Yu J-T (2016): The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord* 190, 264–271
- Zheng H, Koo EH (2006): The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Mol Neurodegener* 1, 5

Danksagung

Zu Beginn möchte ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Thomas A. Bayer meinen großen Dank aussprechen. Er ermöglichte mir die Aufnahme der experimentellen Arbeit zu diesem spannenden Thema, gab mir Einblicke in die Grundlagenforschung der Alzheimer-Demenz und war jederzeit mit Hilfestellungen und Anregungen zur Stelle.

Genau so gilt Frau PD. Dr. rer. nat. Yvonne Bouter mein aufrichtiger Dank. Sie trug ebenfalls maßgeblich zum Gelingen dieser Dissertation bei, indem sie mir stets zuverlässig mit Rat und Tat zur Seite stand und das mit höchster Herzlichkeit, Positivität und Expertise. Ihre Ideen und Anregungen waren mir immer eine großartige Hilfe.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. med. Christine von Arnim für die engagierte Übernahme der Ko-Betreuung.

Zuletzt möchte ich mich bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe für molekulare Psychiatrie für die freundliche Aufnahme, das kollegiale Miteinander und die grenzenlose Hilfsbereitschaft bedanken.